

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES

Département Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique appliquée

Par :

AKKI ALOUANI Kamel

ALOUANI Rabie

THEME

Dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante d'un sous-produit de la ruche : le pollen.

Soutenu publiquement le... Juin 2019 devant le jury composé de :

M ^r . FERHAT Mahmoud	M.C.A	Président
M ^r . DOULACHE Merzak	M.C.B	Examineur
M ^r . KORIBA Bakhti	M.A.A	Examineur
M ^r . BOUCHOUKA El Mouloud	M.C.B	Encadreur

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et donné de la patience et du courage durant ces longues années d'études. Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes. Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement monsieur **BOUCHOUKA El Mouloud** Maître de conférences à l'université de Laghouat de nous avoir permis de bénéficier de son expérience, de sa présence et surtout pour ses conseils précieux. Nous tenons aussi à remercier monsieur **FERHAT Mahmoud** Maître de conférences à l'université de Laghouat d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : monsieur **DOULACHE Merzak** Maître de conférences et monsieur **KORIBA Bakhti** Maître assistant pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire et d'avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements vont également à monsieur **HAFFACI Ahmed**, l'apiculteur de Laghouat qui nous a gracieusement fourni la matière première de notre travail : Le pollen. Qu'il trouve ici toutes les expressions de notre reconnaissance.

Nous remercions vivement monsieur **ZARROUK Salim** Maître de conférences au département de biologie de l'université de Laghouat pour l'identification pollinique.

Nous remercions aussi le personnel de laboratoire pour leur disponibilité. Nous aimerions en fin exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues pour leur soutien moral et matériel.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	4
II.1. Matériel	4
II.1.1. Appareillage et réactifs	4
II.1.2. Matériel végétal	4
II.2. Méthodes	5
II.2.1. Identification de pollen	5
II.2.2. Extraction de la matière végétale	7
II.2.3. Quantification des composés phénoliques	8
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	9
II.2.4.1. Test DPPH	10
II.2.4.2. Test ABTS	11
III. RESULTATS ET DISCUSSION	12
III.1. Quantification des composés phénoliques	12
III.2. Évaluation de l'activité antioxydante	13
IV. CONCLUSION GENERALE	18
V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	19
VI. RESUME	

Liste des Abréviations

ABTS	Acide 2, 2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).
DPPH	2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl.
EAG	Équivalent acide gallique
EC50	La concentration en extrait phénolique nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres.
MS	matière sèche
PI %	Pourcentage d'inhibition
UV	Rayons ultraviolet
VC	vitamine C

Liste des Figures

Figure 1 : Schéma d'une fleur montrant les grains du pollen	02
Figure 2 : Patte d'abeille chargée de pollen	03
Figure 3 : Trappe de pollen	03
Figure 4 : Composition du pollen	03
Figure 5 : Les grains de pollen	04
Figure 6 : Couleurs de pollen (350 px)	05
Figure 7 : Pollen jaune de la plante <i>Eruca vesicaceau</i>	06
Figure 8 : Pollen orange de la plante <i>matricaria sp</i>	06
Figure 9 : pollen grenat de la plante <i>retama retame</i>	07
Figure 10 : pollen marron de la plante <i>trifolium sp</i>	07
Figure 11 : schéma d'extraction	08
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	09
Figure 13 : Structure chimique du radical DPPH [·] et de sa forme réduite.	10
Figure 14 : Structure chimique du radical ABTS [·] et de sa forme réduite	11
Figure 15 : Rendements des extraits de pollen	12
Figure16 : Variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits dans le test DPPH.	15
Figure17 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des antioxydants standards dans le test DPPH.	16

Figure18 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des Concentrations des extraits dans le test ABTS. 16

Figure 19 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des antioxydants standards dans le test ABTS. 17

Liste des Tableaux

Tableau 1 : appareillage et réactifs.	04
Tableau2 : Rendements d'extraction et concentrations des extraits.	12
Tableau 3 : Teneurs en phénols totaux des différents extraits.	13
Tableau 4 : Valeurs de l'EC50 et du TAC des différents extraits.	13

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

La médecine traditionnelle est pratiquée dans la plupart des pays ; 40 à 60 % de la population a recours à la médecine traditionnelle (Rokia, S. 2006). Celle-ci a par ailleurs un rôle économique important dans de nombreux pays. Depuis ces dix dernières années, les milieux universitaires et industriels s'intéressent de plus en plus à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales. Le manque de médicaments essentiels, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturelles des populations expliquent le recours aux pratiques de la médecine traditionnelle à base de plantes médicinales.

Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, comme les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques. Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés phytochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils se subdivisent en sous classe principales ; les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignines, les tanins...comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle important à la vie de la plante notamment à la défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et à la protection contre les rayonnements UV ; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Ils sont des molécules biologiquement actives largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antimicrobiens, anti-radicalaires et antioxydants (Djemai, S. et *al.*, 2008).

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, "poumons" de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP. Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène et de l'azote en équilibre avec les systèmes antioxydants.

Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés oxydants et leur élimination.

Les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (**les antioxydants primaires**) ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (**les antioxydants secondaires**). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Gardes- Albert, 2003).

Le pollen, en tant que produit naturel très abondant, est un constituant de certaines plantes. Il constitue l'élément fécondant mâle des fleurs (Figure 1). Ce sont des grains aux formes parfois très complexes de couleurs très variées (beige pour le framboisier, orange pour le pissenlit, noir pour le coquelicot...). Il se trouve dans les anthères des étamines. Lorsqu'il atteint le stigmate (partie femelle de la fleur) il « germe » et lance un tube pollinique vers l'ovule de la fleur).

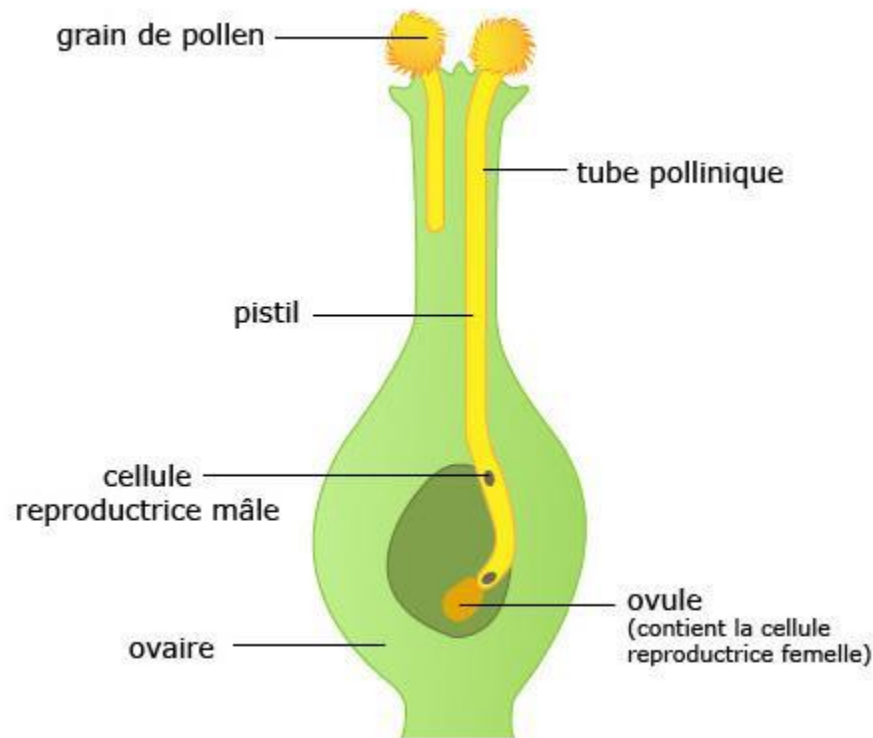


Figure 1 : Schéma d'une fleur montrant les grains du pollen (www.maxicours.com).

La technique du ramassage du pollen s'est beaucoup améliorée depuis quelques années. Il peut

S'effectuer de deux manières :

On laisse les abeilles butiner le pollen et l'on recueille les « pelotes » qu'elles laissent tomber dans la trappe à pollen (Louveau, 1958) (Figures 2 et 3). On peut aussi récolter le pollen mécaniquement (ou à la main), directement, à partir des plantes.



Figure 2 : Patte d'abeille chargée de pollen



Figure 3 : Trappe de pollen

L'intérêt du pollen est grand en agriculture, en médecine ou au point de vue purement scientifique. Il est très riche en composants chimiques (protéines, lipides, glucides, vitamines hydrosolubles et liposolubles) (Campos et *al.*2008) et considéré comme une source d'antioxydants. La composition du pollen peut varier fortement en fonction des fleurs que les abeilles butinent.

La figure 4 donne quelques valeurs relatives à la composition générale de pollen.

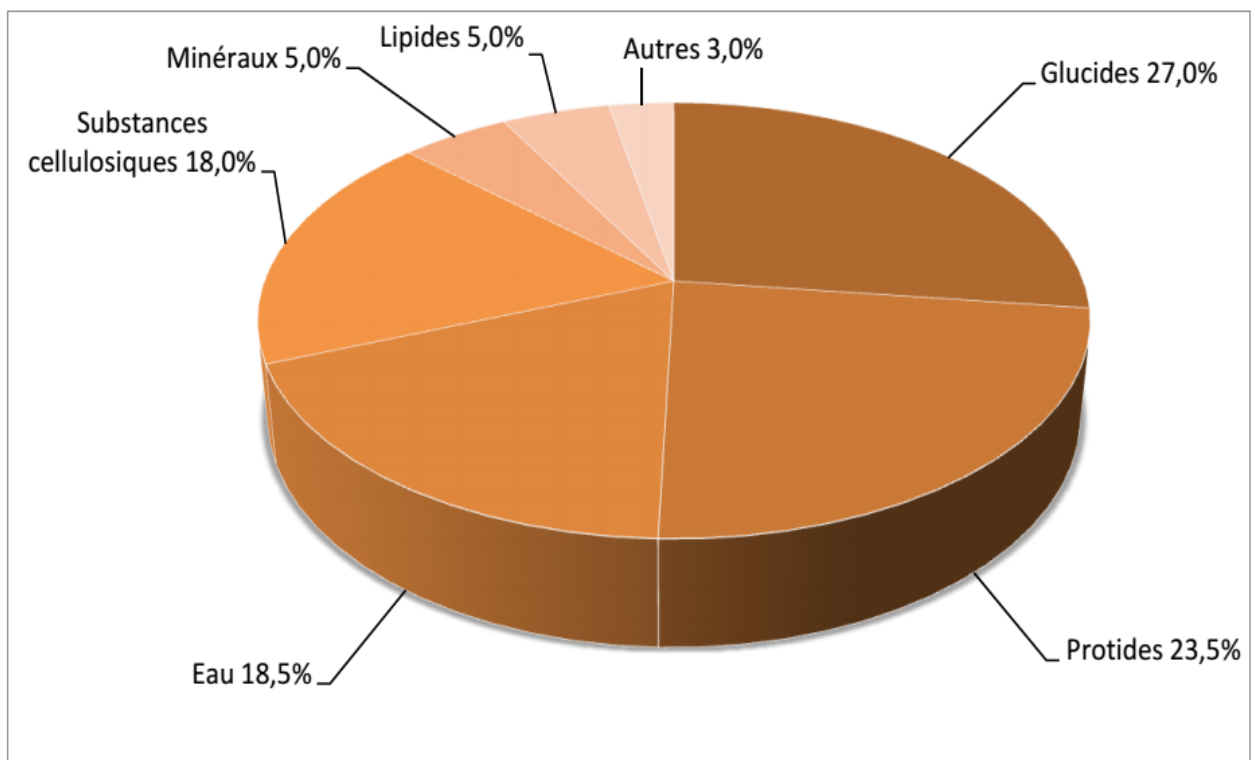


Figure 4 : Composition du pollen (www.abeillesduberry.com)

En effet, la famille des polyphénols devient le point de départ de toutes les recherches scientifiques en particulier pour la découverte des molécules naturelles à très forte activité antioxydante.

Dans le contexte de recherche des antioxydants naturels, nous nous sommes intéressés, à évaluer les propriétés antioxydantes de quatre échantillons de pollen de couleurs différentes.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Appareillage et réactifs

Dans notre travail nous avons utilisé les réactifs et le matériel suivants :

Tableau 1 : appareillage et réactifs

Appareillage	réactifs	
Agitateur	Acétone	ABTS
Balance	Eau distillé	A. Gallique
Etuve	Méthanol	DPPH
Micropipettes	Na ₂ CO ₃	Folin-Ciocaltu
Rota vapeur	K ₂ S ₂ O ₈	Vitamine C
Spectrophotomètre		TROLOX

II.1.2. Matériel végétal

Le pollen a été récolté par un apiculteur entre 10 et 19 mars 2019, dans la région de Laghouat. Le tri du pollen frais a permis d'obtenir quatre échantillons de quatre couleurs différentes : marron, orange, grenat et jaune. Les échantillons sont séchés dans l'étuve à 35°C pendant 24 h puis finement broyés et sont directement utilisés.

Nom commun : pollen d'abeilles, pollen de fleurs, bifteck des abeilles (Figure 5).



Figure 5 : Les grains de pollen (urbanbeehoney.ca)

Description de pollen: Le pollen est l'élément reproducteur mâle des plantes à graines. Il présente une multitude de corpuscules microscopiques contenus dans les sacs polliniques de l'anthere des fleurs, constituant les éléments fécondants mâles de celles-ci (Figure 6)

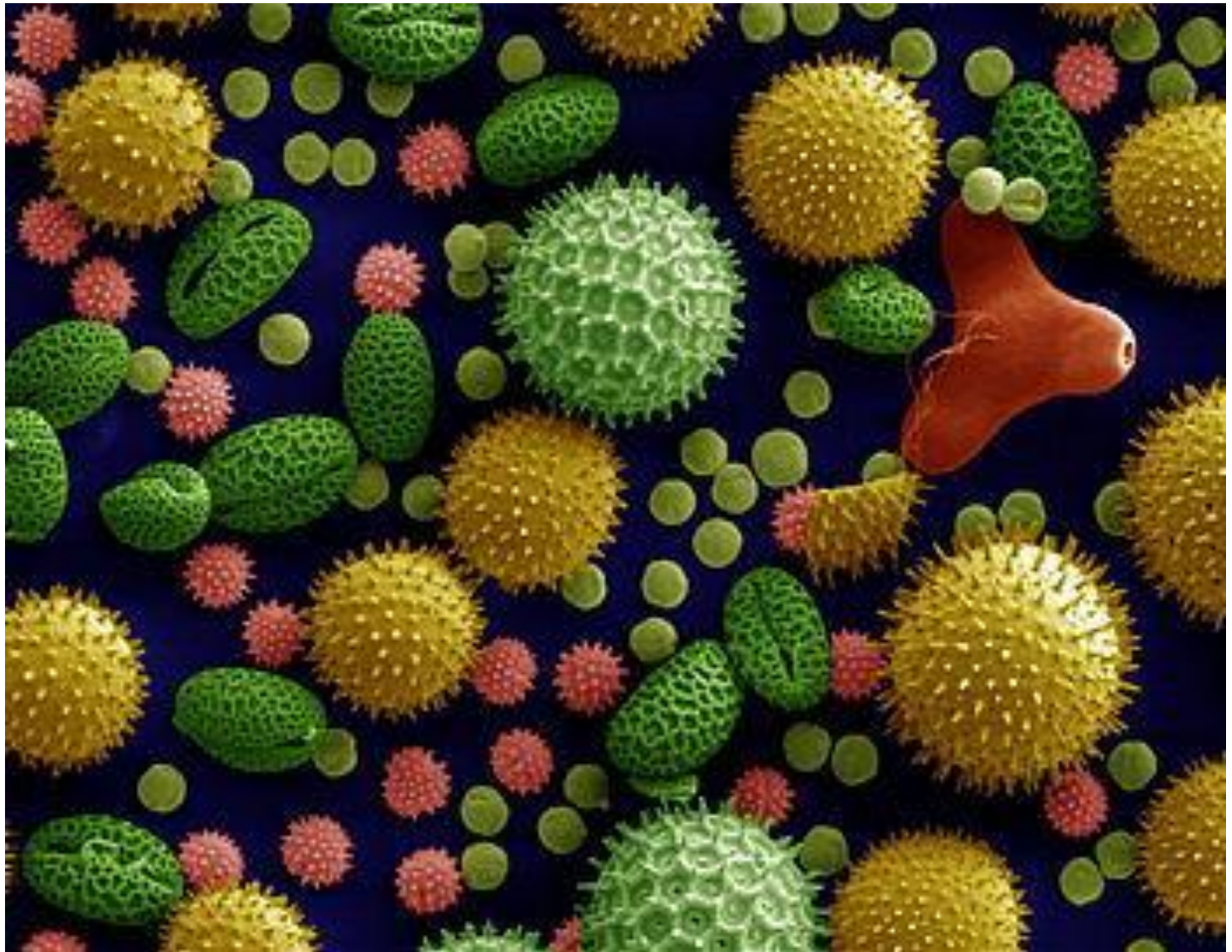


Figure 6 : Couleurs de pollen (350 px) (commons.wikimedia.org)

Utilisations thérapeutiques de pollen : Le pollen permet de lutter efficacement contre la fatigue, physique ou intellectuelle et aide à améliorer la mémoire, surtout chez les personnes matures. Il est utilisé comme : stimulant de l'organisme, euphorisant, fortifiant, reconstituant, rééquilibrant fonctionnel, anti-allergène et stimulant du transit (Sarni-Manchado, 2006).

II.2. Méthodes

II.2.1. Identification de pollen

L'identification de pollen a été faite au labo de biologie à l'aide d'un microscope optique ZEISS à l'objectif 40 (Grossissement 400 fois).

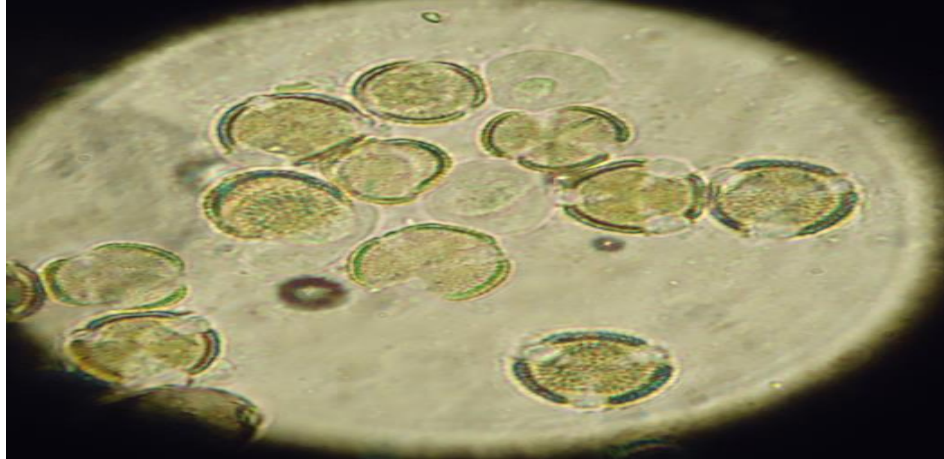


Figure 7 : Pollen jaune de la plante *Eruca Vesicaceau* (grossissement 400 fois)

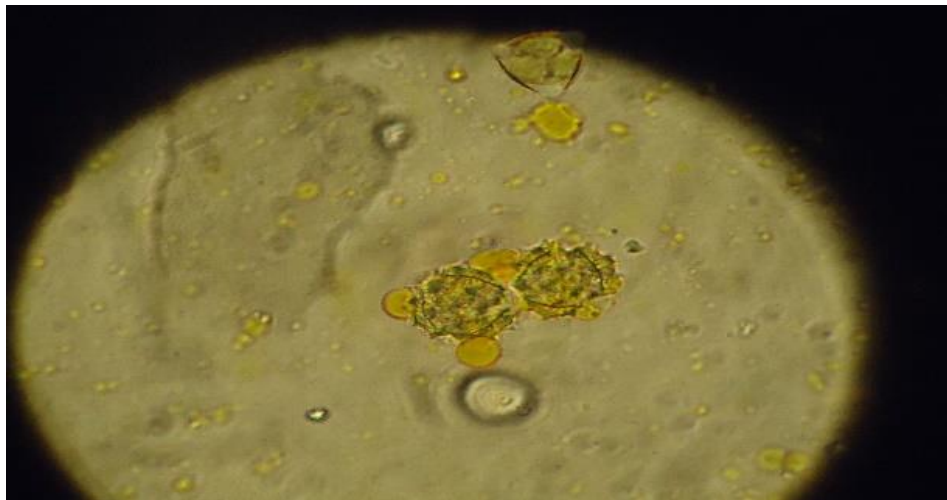


Figure 8 : Pollen orange de la plante *matricaria sp* (grossissement 400 fois)

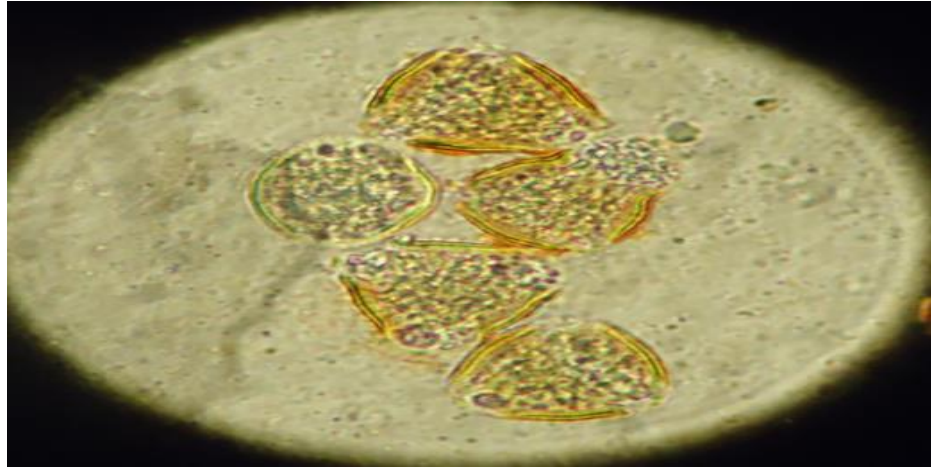


Figure 9 : pollen grenat de la plante *retama retame* (grossissement 400 fois)

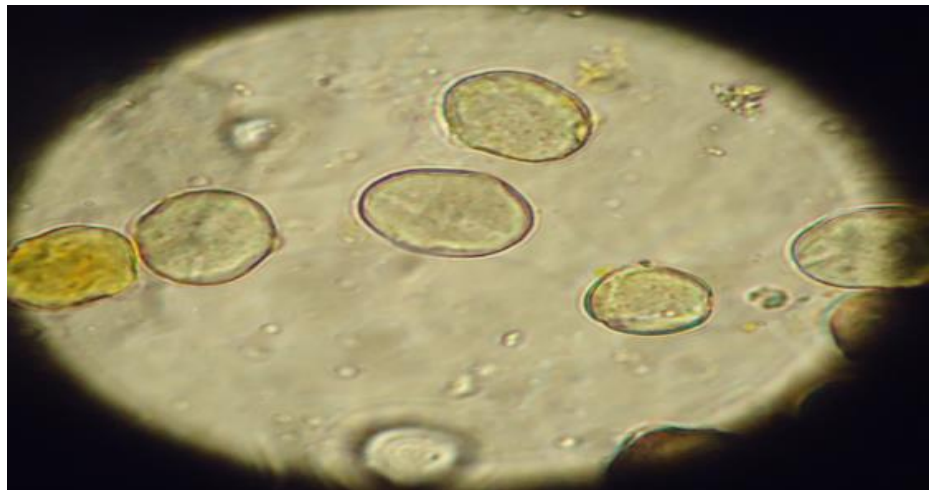


Figure 10 : pollen marron de la plante *trifolium sp* (grossissement 400 fois)

II.2.2. Extraction de la matière végétale

Dans notre étude, la méthode d'extraction utilisée est une macération à froid dans l'acétone. Après séchage et broyage, une quantité de 5 g de chaque échantillon de pollen (marron, grenat, jaune et orange) est macérée trois fois dans 80ml du solvant choisi (Acétone) pendant 48h sous agitation. Les macérations ainsi obtenues sont filtrées sur papier filtre, puis évaporées à sec sous vide à l'aide d'un rota vapeur à 35°C. Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma suivant (Figure7) :

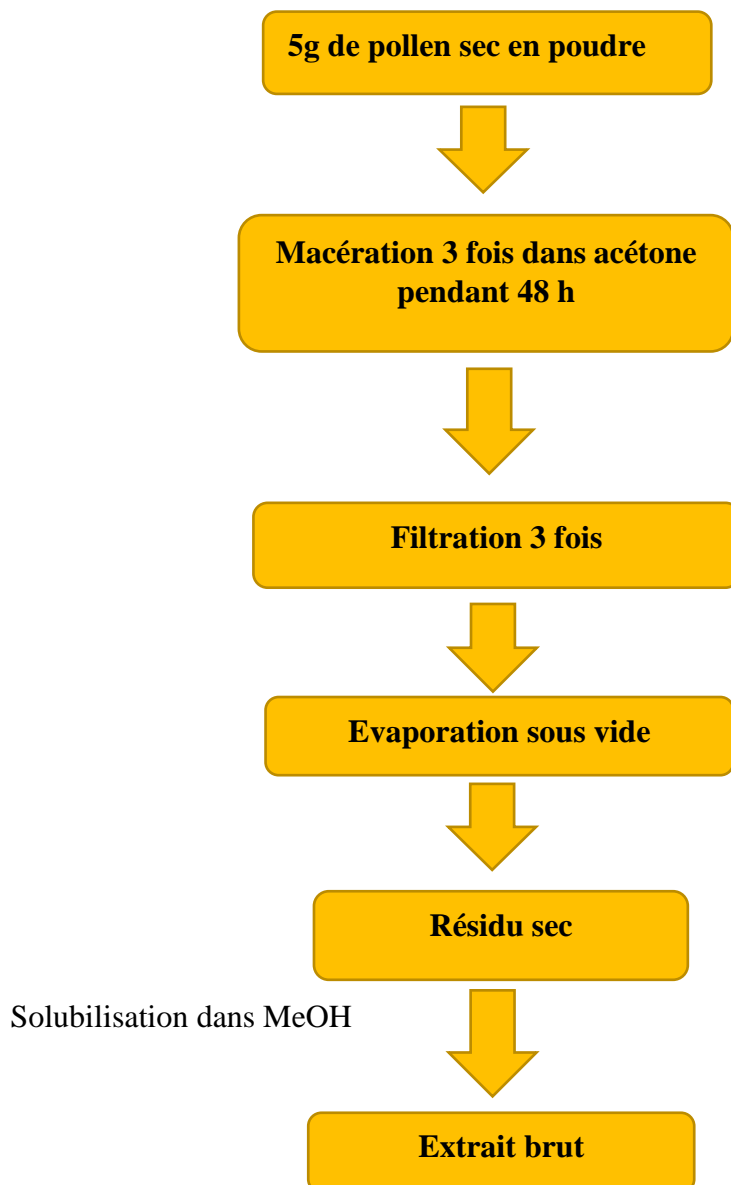


Figure 11 : schéma d'extraction

II.2.3. Quantification des composés phénoliques

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999) ; Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et *al.*, 2006).

Dans un tube à essai, on introduit 100µl de l'extrait convenablement dilué, 100µl de réactif de Folin-Ciocalteu, 1 ml de carbonates de sodium(Na_2CO_3)7,5 % et 400µl de H_2O . Le tube est ensuite incubé à l'ombre, à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 750 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (Figure 12).

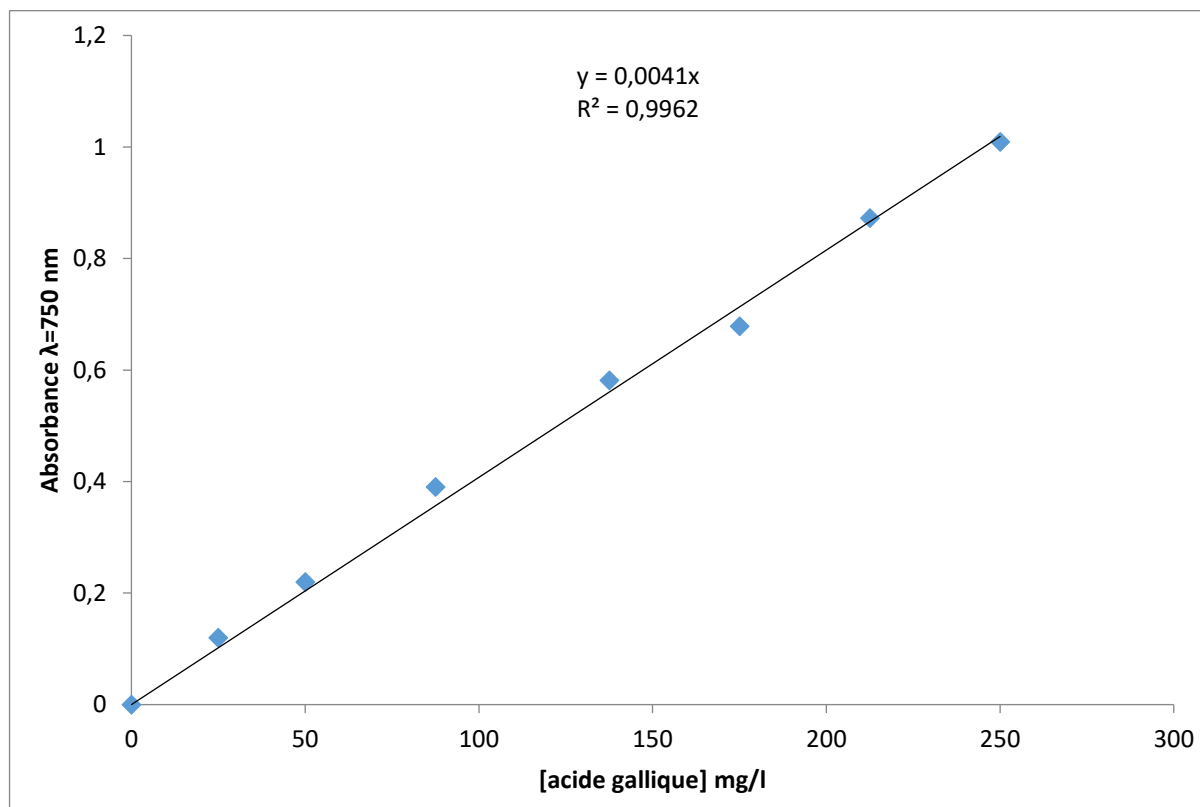


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Deux tests ont été utilisés pour évaluer la capacité antioxydante *in vitro* des extraits bruts acétoniques des quatre types de pollens étudiés dans ce travail. Il s'agit du pouvoir piègeur du radical cationique $\text{ABTS}^{\cdot+}$ et du pouvoir piègeur du radical DPPH^{\cdot} .

II.2.4.1. Test DPPH

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite (Figure 13). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (Brand-Williams, 1995).

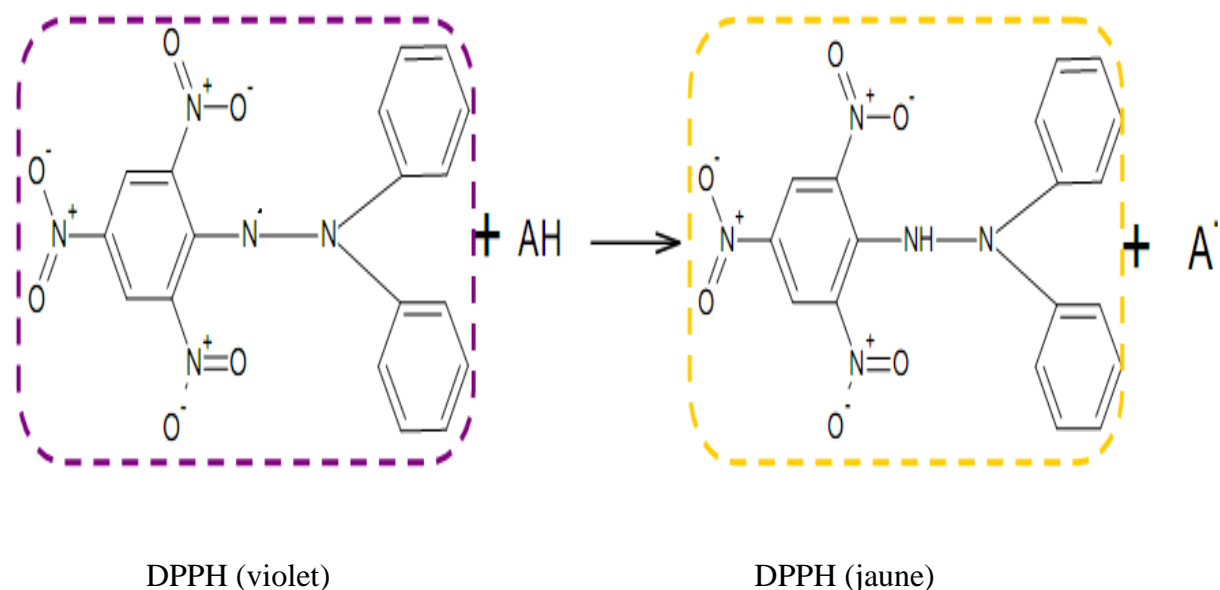


Figure 13 : Structure chimique du radical DPPH[•] et de sa forme réduite.

Protocole

L'effet piègeur ou le pouvoir anti radicalaire des extraits acétone des quatre types de pollens étudiés vis-à-vis du radical DPPH[•] est évalué selon la méthode décrite par Hansraj et ses collaborateurs (2006) en y apportant quelques modifications. Un volume de 1 ml de la solution de DPPH[•] (0.2 mM) préparée dans méthanol 80% est mélangé avec 1 ml des solutions d'extraits ou des antioxydants de référence (Trolox et Vitamine C) à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance (**Abs**) est lue à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition (PI%) est calculé par la relation suivante :

$$PI\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

La concentration efficace (EC50) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH[•] présents dans le milieu réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH[•] en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence.

II.2.4.2. Test ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS^{•+} est généré en présence des ions persulfates (Figure 14).



En présence d'un antioxydant, le passage du radical ABTS^{•+} à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration vert bleu intense qui peut être suivie par la mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm (Chen *et al.*, 1997). Ce test est simple, opérationnel, reproductible, et peut être utilisé dans différents milieux.

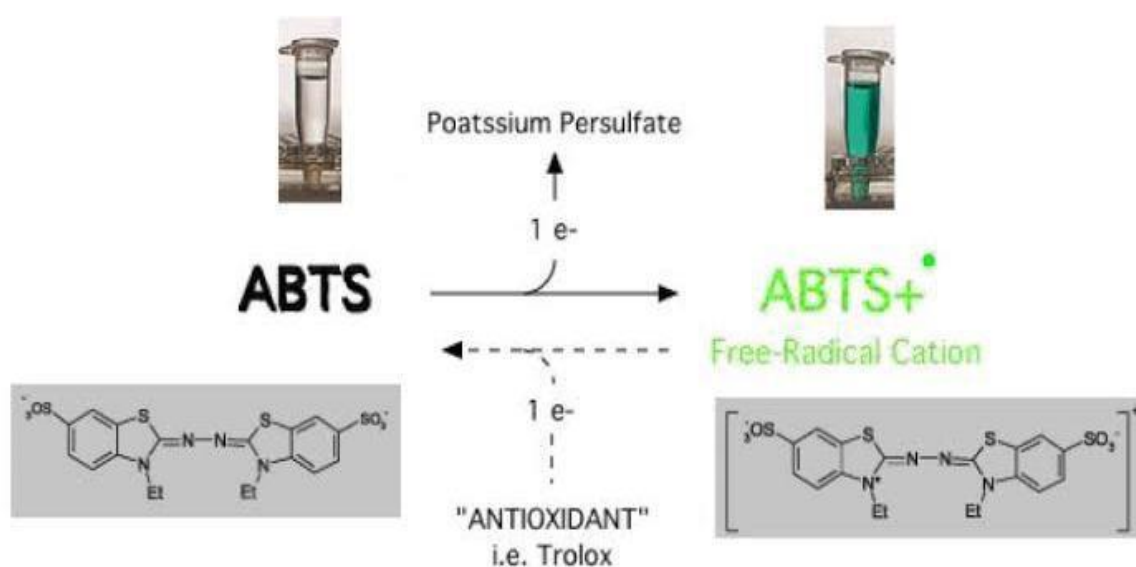


Figure 14 : Structure chimique du radical ABTS^{•+} et de sa forme réduite

Protocole

Le test ABTS est effectué selon la méthode décrite par Re et ses collaborateurs (1999). Deux solutions ont été préparées : une solution d'ABTS (7mM) et une solution de persulfate de potassium (2.4 mM). Le radical cationique ABTS^{•+} est généré en mélangeant les deux solutions en quantités équivalentes. Le mélange est laissé réagir pendant 12 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. La solution ainsi obtenue est diluée avec de l'eau distillée pour avoir une absorbance de 0.7 ± 0.02 mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734 nm.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Quantification des composés phénoliques

Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux de couleur orange, jaune, marron, et grenat avec un rendement qui varie entre 3,55% et 12,97%. (Tableau2).

Il a été constaté que la plus importante quantité du résidu sec a été trouvée dans le pollen de l'échantillon Jaune comparativement aux autres échantillons et la plus faible quantité de résidu sec a été trouvée dans le pollen de l'échantillon Marron

Tableau2 : Rendements d'extraction et concentrations des extraits.

Pollen	Rendement	Concentration g/l (résidu sec)
Jaune	12.97 %	15
Orange	12.32 %	15
Marron	3.55 %	15
Grenat	12.47 %	15

La figure suivante représente les rendements des différents extraits (**Figure15**) :

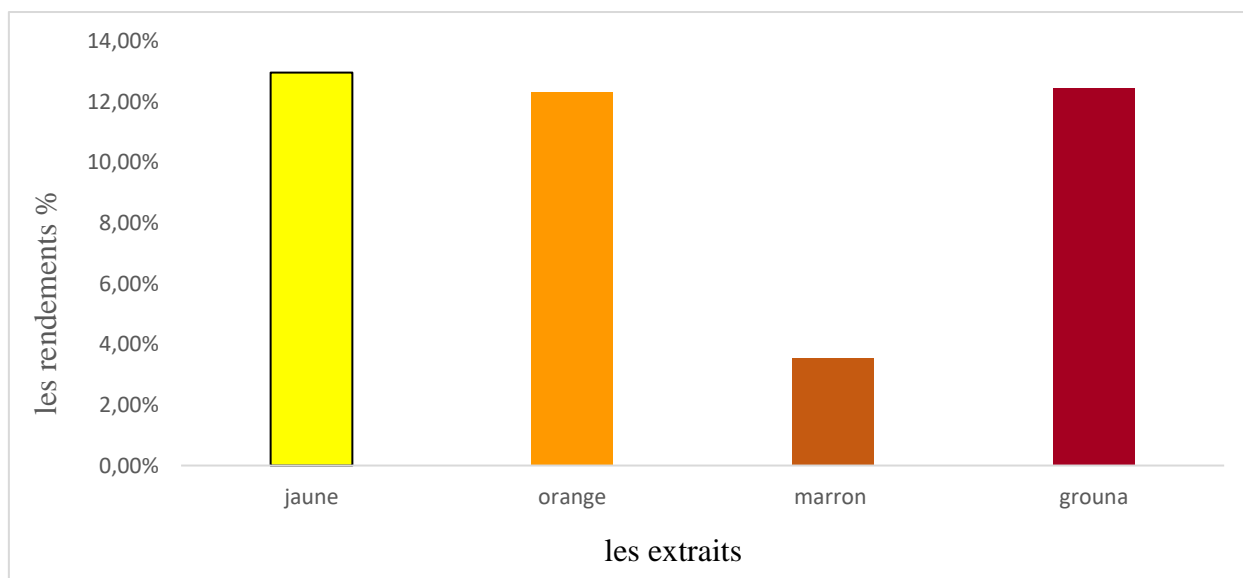


Figure 15 : Rendements des extraits de pollen

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de pollen a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique (GAE) par gramme de matière sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.

D'après la synthèse de l'ensemble des résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux, on peut constater que les teneurs de ces composés varient entre 0.89 et 1,93 mg EAG /g

Le taux des composés phénoliques le plus élevé est détecté dans l'échantillon orange tandis que la teneur la plus basse est remarquée dans l'échantillon marron.

Tableau 3 : Teneurs en phénols totaux des différents extraits

Extrait	Teneur en phénol totaux (mg EAG /g MS)
Jaune	1.20±0.0059
Orange	1.93±0.0213
Marron	0.89±0.0172
grenat	1.42±0.0018

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± Ecart type

III.2. Évaluation de l'activité antioxydante

Les capacités antioxydantes obtenues par les deux tests ABTS et DPPH sont exprimées en EC50. Le paramètre EC50 représente la concentration d'antioxydant nécessaire pour faire baisser de 50% la quantité des radicaux libres initialement présente. On peut aussi représenter le pouvoir antiradicalaire de nos extraits en utilisant un autre paramètre qui est le TAC.

Le TAC (Total Antioxidant Capacity) représente l'inverse de l'EC50 : 1/EC50.

Le tableau suivant (Tableau 4) résume les différents résultats obtenus.

Tableau 4 : Valeurs de l'EC50 et du TAC des différents extraits.

Extrait pollen	DPPH		ABTS	
	EC50 (mg/l)	TAC (1/g)	EC50 (mg/l)	TAC (1/g)
Jaune	125.65±7,936	7.95±1.254	260.80±25.214	3.83±1.255
Orange	340.25±1.365	2.93±0.984	540.50±3.254	1.85±0.0215
Marron	120.56±11.325	8.29±1.254	209.52±1.254	4.77±0.6580
Grenat	166.58±0.654	6.00±0.254	294.56±6.215	3.39±0.215
TROLOXE (standard)	11.43±0.0058	87.489±0.587	1.95±0.00025	512.82±12.265
Vitamine C (standard)	10.09±0.045	99.108±5.658	1.93±0.00015	518.13±0.251

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± Ecart type

Paramètre EC50 a été présenté récemment pour l'interprétation des résultats de l'activité antioxydante (autrement appelé la valeur IC50). Ceci est défini comme la concentration de substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical libre. Ce paramètre a été présenté par Brand-Williams et ses collaborateurs (1995). Il a été employé plus tard par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats : (Matsuo, T. et *al.*, 2007 ; Ren, H. et *al.*, 2007 ; Tesmol, G. et *al.*, 2007; Jian, T. et *al.*, 2007). L'inconvénient de ce paramètre est plus l'activité antioxydante est élevée, plus la valeur d'EC50 est petite. De ce fait, et pour des raisons de simplicité, nous avons introduit le paramètre TAC qui représente la capacité antioxydante totale de l'extrait calculé à partir des valeurs d'EC50. C'est-à-dire, plus les valeurs du TAC est grandes plus le pouvoir anti radicalaire des extraits est important. A partir des résultats obtenus, on peut remarquer que le pouvoir anti radicalaire des différents échantillons varie considérablement avec des valeurs de TAC allant de 2.93 à 7.95 l.g⁻¹ et de 1.85 à 4.77 l.g⁻¹ pour les tests DPPH et ABTS respectivement. Il est à noter aussi que ces deux tests sont en bonne corrélation. En effet, l'extrait marron qui a donné dans le test DPPH la meilleure activité d'antioxydante, a présenté également la meilleure activité antioxydante dans le test ABTS dont les valeurs d'EC50 sont respectivement : 120.56 et 209.52 mg.l⁻¹. La valeur de l'activité antioxydante la plus faible a été observée pour l'extrait orange avec une valeur de TAC 2.93 et de 1.85 l.g⁻¹ pour les tests DPPH et ABTS respectivement. L'approche la plus simple dans l'interprétation des données, est de tracer une courbe présentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'antioxydant (standard et échantillon). Cette approche nous a permis de conclure que l'activité antioxydante de nos échantillons est concentration dépendante (Figure 16, 17, 18, et 19).

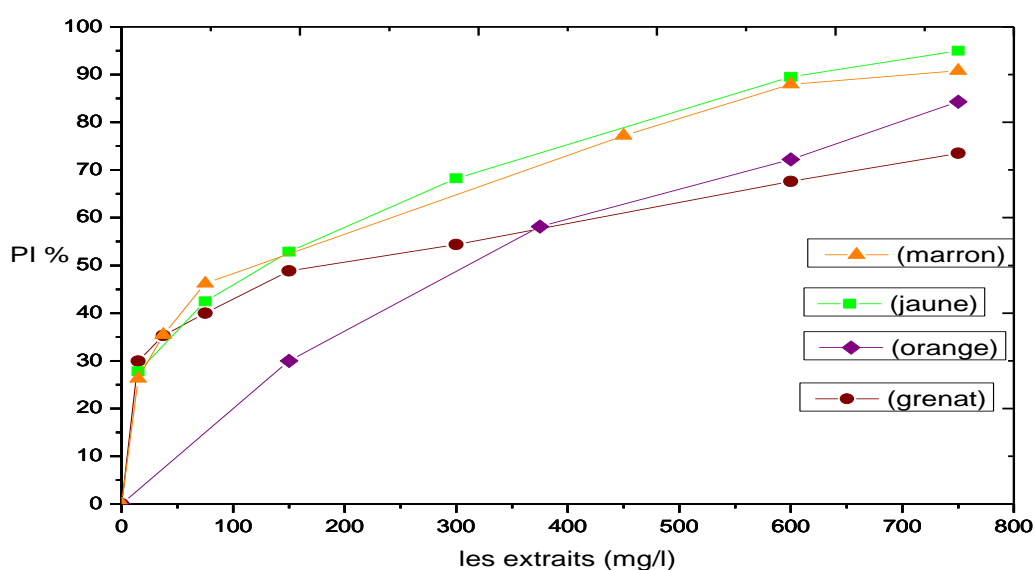


Figure16 : Variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits dans le test DPPH.

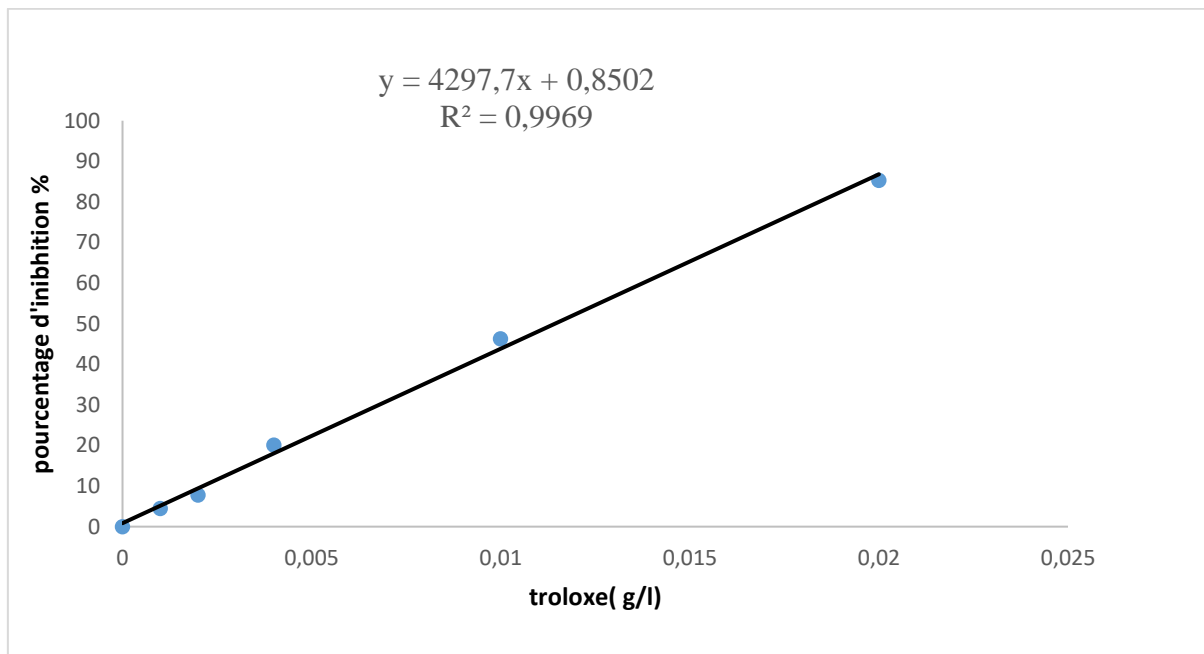
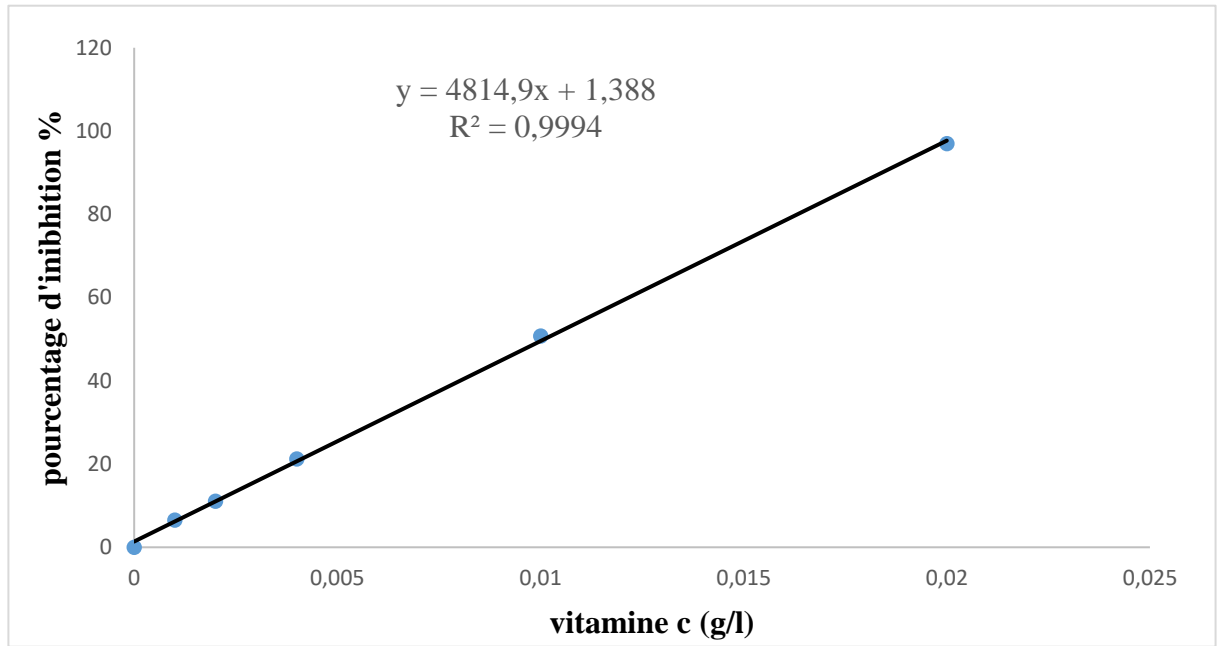


Figure17 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des antioxydants standards dans le test DPPH.

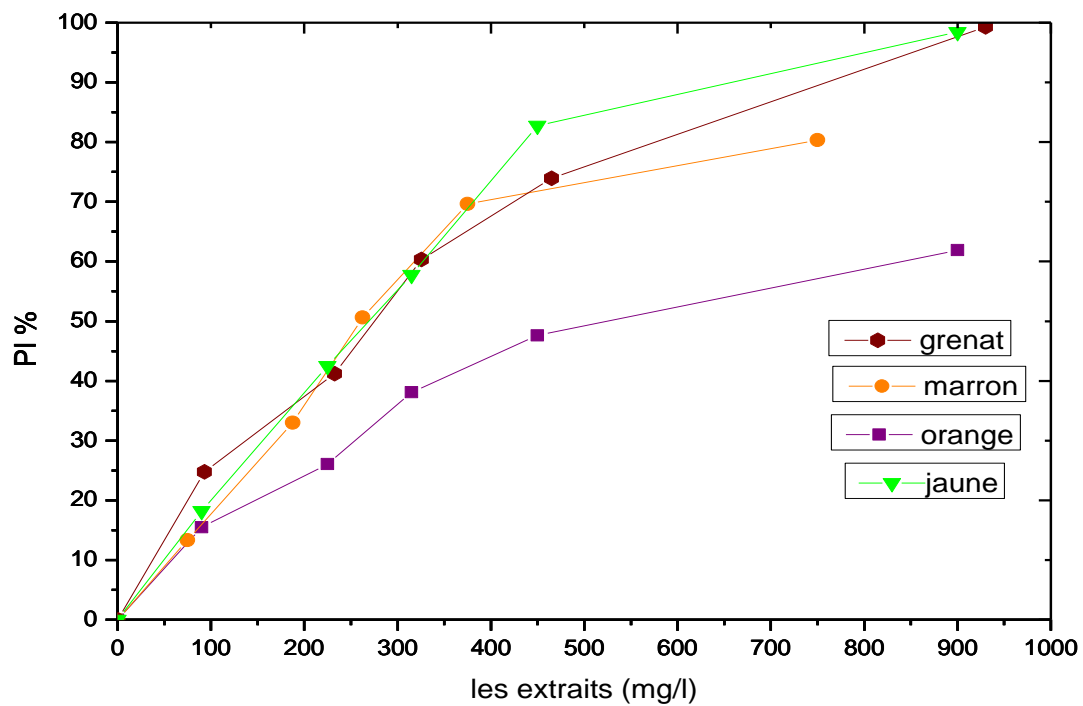


Figure18 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des Concentrations des extraits dans le test ABTS.

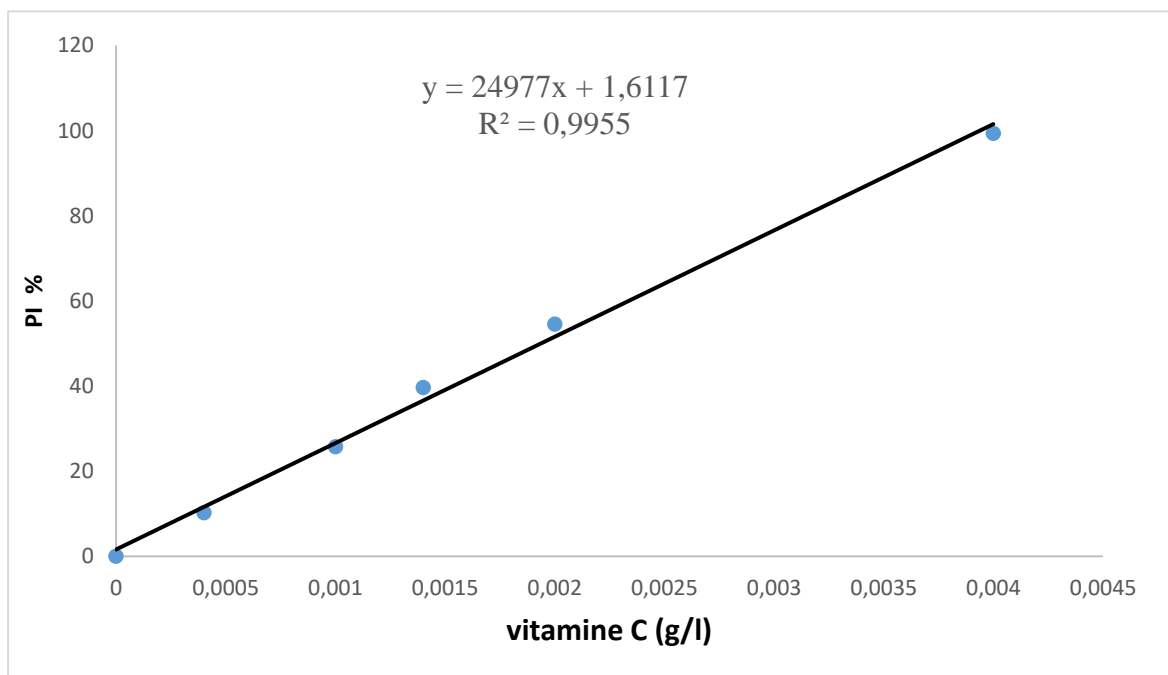
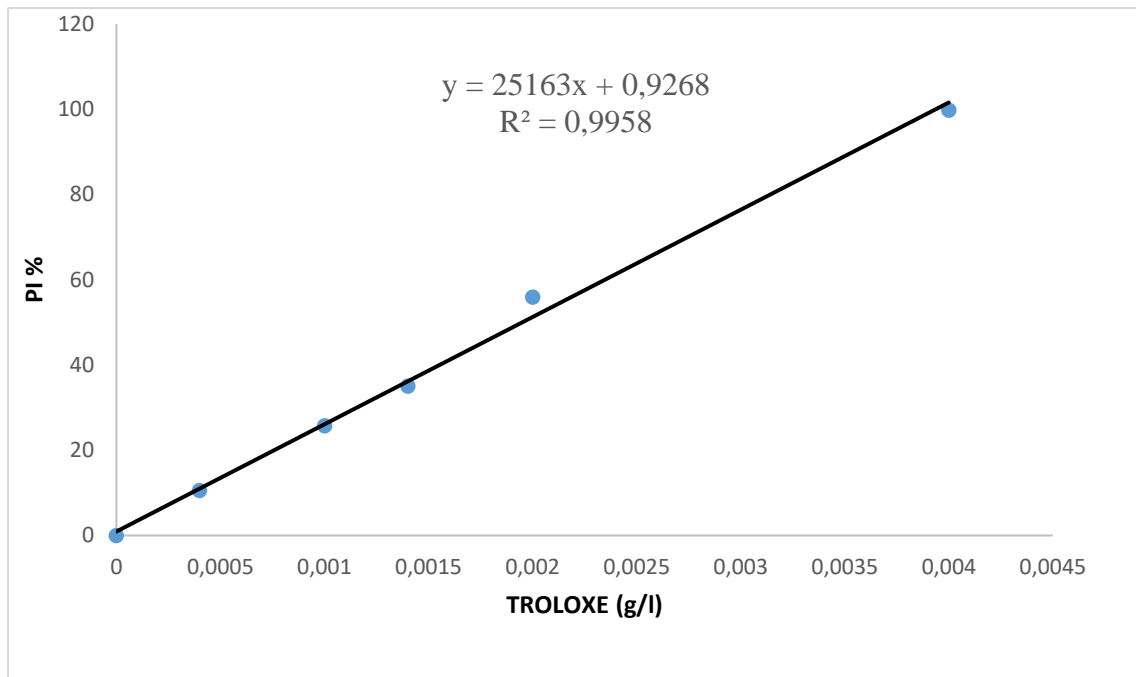


Figure 19 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des antioxydants standards dans le test ABTS.

IV. CONCLUSION GENERALE

Quatre échantillons de pollen de couleurs différentes (jaune, marron, grenat et orange) récoltés dans la région de Laghouat ont fait l'objet de notre travail. Nous procédons en premier lieu à une détermination grossière de la teneur en composés phénoliques de quatre extraits obtenus par macération dans un solvant organique moyennement polaire : l'acétone.

Les résultats de cette partie ont révélé que l'extrait du pollen orange est le plus riche en composés phénoliques.

Nous nous sommes intéressés par la suite à l'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits. Pour cela, deux tests complémentaires ont été utilisés à savoir le test DPPH et le test ABTS. Par ailleurs, et dans un but de comparaison, nous avons de même évalué l'activité antioxydante de deux antioxydants standards : Vitamine C et Trolox. Pour les deux tests, l'extrait marron donne une activité antioxydante plus élevée que celle des autres extraits. Les résultats de notre étude nous a permis de conclure qu'une meilleur capacité antioxydante d'un extrait n'est pas forcément tributaire d'une teneur en composés phénoliques élevée comme c'est le cas avec l'extrait du pollen marron. Dans ce cas, c'est la qualité des composés phénoliques que contient l'extrait, qui détermine l'activité antioxydante de ce dernier. Ainsi, des études complémentaires restent nécessaires pour approfondir les résultats obtenus et déterminer les molécules actives responsables de cette activité.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alhamidi, N. A. (2017). Etude du pollen de quelques espèces allergisantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat université de Tlemcen.
- Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. et Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity.
- Campos et al. (2008), Pollen composition and standardisation of analytical methods <https://www.tandfonline.com/toc/tjar20/current>.
- Chen, J. H., et Ho, C. T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acids and its related hydrocinnamic acid compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2374–2378.
- Djemai, S. Z. (2008). Étude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhdar –Batna).p12.
- Gardes- Albert (2003).Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?Par Monique Gardès-Albert , Dominique Bonnefont-Rousselot , Zohreh Abedinzadeh , Daniel Jore .
- Hansraj, D., Ou, B. et Prior, R.L. (2006). The chemistry behind antioxydant capacity assay. Jornal of Agricultural and Food chemistry 1841-1856, p 53. Re, R., pellegrini, N., proteggrente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. Free radical bio Med c 26:1231-1237.
- Jean Louveaux (1958). Les relations abeilles-pollens, Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques
- Lebensm.-Wiss. (1997). Antioxidant activities of caffeic acids and its related hydrocinnamic acidcompounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2374–2378.
- Re, R., pellegrini, N., proteggrente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical bio Med c 26:1231-1237.
- Rokia, S.(2006). Le Rôle Des Plantes Médicinales En Médecine Traditionnelle, Développement, Environnement et Santé 10ème école d'été de l'IEPF et du SIFEE

- Sarni-Manchado,P.et.Cheyrier, V.(2006). Les polyphénols en agroalimentaire, sciences et techniques agroalimentaires.
- Singleton et al. (1999). TOTAL PHENOLIC CONTENT, FLAVONOID CONCENTRATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Marrubium peregrinum* L. EXTRACTS Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia
- Zhishen J, Mengcheng T and Jianming W . 1999 The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry.

ملخص :

ان الأبحاث العلمية الحديثة لعلم النباتات الطبية تهتم أساسا بدراسة النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات النباتات.

في دراسة تجريبية، حاولنا تحديد كمية المركبات الفينولية وتقدير النشاطية المضادة للأكسدة لأربعة ألوان مختلفة من حبوب اللقاح مستخلص بالأسيتون. أظهرت النتائج أنها تحتوي ما بين 0.89 و 1.93 ميليغرام مكافئ حمض الغاليك / غرام من المادة الجافة. حبوب اللقاح البرتقالية تحتوي على أكبر كمية من المركبات الفينولية. حبوب اللقاح البني لديها أدنى محتوى من المركبات الفينولية. ومع ذلك، فإن هذا الأخير لديه أعلى قدرة مضادة للأكسدة مع EC50 تساوي 209.52 ملغم / لتر لاختبار ABTS و 120.56 ملغم / لتر لاختبار DPPH.

الكلمات المفتاحية: حبوب الطلع، القدرة المضادة للأكسدة، المركبات الفينولية، ABTS، DPPH.

Résumé :

Les recherches scientifiques récentes en plantes médicinales portent principalement sur l'étude de l'activité antioxydante des extraits des plantes.

Dans le cadre d'une étude expérimentale, nous avons essayé de quantifier les composés phénoliques et d'estimer l'activité antioxydante de quatre couleurs différentes de pollen extraites par l'acétone. Les résultats ont montré qu'elles contiennent entre 0.89 et 1.93 milligrammes équivalents d'acide gallique / gramme de matière sèche. Le pollen orange contient la quantité des composés phénoliques la plus importante. Le pollen marron a la teneur en composés phénoliques la plus faible. Cependant, ce dernier possède le pouvoir antioxydant le plus élevé avec un EC50 de 209.52 mg / l pour le test ABTS et 120.56 mg / l pour le test DPPH.

Mots-clés : pollen, capacité antioxydante, composé phénolique, ABTS, DPPH.

Abstract:

Recent scientific research of medicinal plants is mainly concerned with the study of antioxidant activity of plant extracts.

Through an experimental study, we tried to quantify the phenolic compounds and to estimate the antioxidant activity of four different colors of pollen extracted by acetone. The results showed that they contain between 0.89 and 1.93 milligrams equivalent of Gallic acid / gram of dry matter. Orange pollen contains the largest amount of phenolic compounds. Brown pollen has the lowest phenolic content. However, the latter has the highest antioxidant power with an EC50 of 209.52 mg / l for the ABTS test and 120.56 mg / l for the DPPH test.

Keywords: pollen, antioxidant capacity, phenolic compounds, ABTS, DPPH.