

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière Sciences Biologiques
Spécialité Biochimie Fondamentale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Capacité d'inhibition du miel sur l'oxydation
lipidique du plasma sanguin induite par un
agent oxydant**

Présenté par :

BENSIDHOUM Lynda & HAMMADOU Nouara

Soutenu le : 12 Septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mme Bahloul- Cheraft N.

MCB

Président

Mr Zaidi H.

MCB

Encadreur

Mme Mehenni- Cherhabil C.

MCB

Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant et le
miséricordieux, qui m'a donné santé, patience et courage afin
d'achever ce travail,*

Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre encadreur

*M^r Zaidi Hicham, pour ses précieux conseils et
encouragements sans lesquels cette étude n'aurait pas vu le
jour, Merci pour votre confiance, votre disponibilité et vos
encouragements,*

*Nous remercions tous particulièrement les membres de jury,
en l'occurrence M^{me} Bahloul- Cheraft N, M^{me} Mhenni C, d'avoir
accepté d'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'ils y
portent,*

*Nos vifs remerciements vont directement à monsieur Otmani
Amar, pour sa simplicité, sa collaboration, sa disponibilité,
ainsi à ses précieux conseils et son assistance nécessaire à la
réalisation de notre travail,*

*Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce
que nous sommes et qui nous entourés avec tant d'amour et
d'affection,*

*Enfin, à toute personne ayant contribué directement et
indirectement à la réalisation de ce modeste travail, ainsi que
tous ceux qui nous ont accompagné durant tout notre cursus
universitaire, vous avez toute notre gratitude.*

Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant j'ai pu achever ce
modeste travail que je dédie :*

*A la mémoire de mon grand-père qui n'a pas pu partager avec
moi cet instant de bonheur,*

*A mes très chers parents, auxquels je dois toute ma vie, mon
respect et que je remerciais jamais assez,*

*A mes très chers frère et sœur Rayan et Rania qui m'ont
encouragé, aidé, rassuré dans les moments difficiles, je vous
souhaite une vie pleine de réussite,*

A toi Nouara, pour ta patience et simplicité,

*A mes collègues de la promotion de Biochimie Fondamentale,
Enfin, à tous ceux dont le nom m'échappe à cet instant.*

LYNDA.

Dédicaces

*Nous remercions Dieu pour nous avoir donné l'aide, la
patience et le courage tout au long de notre vie*

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents, ceux qui m'ont guidé dans ma vie, dans
mes études, ceux qui m'ont donné le courage, l'espoir, l'amour,
la force, Des parents dont je suis fière de les avoir à mes côtés.
Puisse Dieu, vous préserver et vous accorder santé, longue vie
et bonheur,*

*A celui qui partage ma vie au jour le jour, qui m'épaulé, sait
trouver les mots pour me motiver et qui rend ma vie plus belle
tous les jours, Un grand Merci à mon cher Mari FARES et à
sa famille,*

*A mes chères frères et sœurs : El-djida, Rima, Rayan et Rida à
qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de
réussites dans leurs études.*

*Merci Pour votre amour et encouragements sans oublié ma
binôme Lynda pour son soutien moral, sa patience et sa
compréhension tout au long de ce projet,*

NOUARA.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
--------------------	---

Partie I : Synthèse bibliographique

Historique de l'emploi du miel en thérapeutique.....	2
I.1. Miel.....	2
I.1.1. Définition.....	2
I.1.2. Abeilles et leurs organisations	2
I.1.3. Origine de miel	4
I.1.4. Production du miel.....	4
I.1.5. Composition chimique du miel.....	5
I.1.6. Classification de miel.....	6
I.1.7. Détecteurs de fraudes.....	6
I.1.8. Propriétés physico-chimiques.....	7
I.1.9. Propriétés biologiques	9
I.2. Stress oxydant	11
I.2.1. Définition.....	11
I.2.2. Espèces réactives de l'oxygène	11
I.2.3. Radicaux libres	12
I.2.4. Peroxydation sur les lipides du plasma.....	15
I.2.5. Antioxydants.....	17
I.2.5.1. Définition.....	17
I.2.5.2. Types des antioxydants.....	17
I.2.6. Différentes lipoprotéines présentes dans le sang	18

Partie II : Partie expérimentale

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Echantillons de miel	20
II.1.2. Analyse pollinique.....	21
II.1.3. Analyses physico- chimiques	22
II.1.4. Antioxydants et activités antioxydantes	26
II.1.4.2. Peroxydation lipidique	27
II.1.5. Activités antiradicalaires	28
II.1. 6. Analyses statistiques	29

II.2. Résultats et discussion

II.2.1. Analyses Polliniques	30
II.2.2. Résultats des analyses physico-chimiques	33
II.2.3. Antioxydants et activités antioxydantes	42
II.2.3.1. Teneurs en antioxydants	43
II.2.3.2. Activités antioxydantes	45
II.2.3.2.1. Activité inhibitrice de peroxydation lipidique	45
II.2.4. Corrélations et analyses multivariées.....	51
II.2.4.1. Corrélations.....	51
II.2.4.2. Analyse en composantes principales (ACP)(analyse récapitulative).....	54
II.2.4.3. Classification hiérarchique ascendante (CHA)	55
Conclusion et perspectives.....	58
Références bibliographiques	60

Annexes

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photo de l'espèce <i>Apis mellifera</i> .	3
2	Composition chimique de miel.	5
3	Balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO.	11
4	Sources des espèces réactives.	13
5	Production des ERO mitochondriale.	14
6	Différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.	14
7	Représentation schématique du mécanisme réactionnel de la peroxydation des lipides.	16
8	Schéma d'une lipoprotéine.	19
9	Structure des lipoprotéines.	19
10	Echantillons de miel récoltés.	21
11	Teneurs en eau des échantillons de miels analysés.	34
12	Pourcentage de brix des échantillons de miels analysés.	36
13	pH des échantillons de miels analysés.	37
14	Conductivité électrique des échantillons de miel.	38
15	Teneurs en HMF des miels analysés.	39
16	Absorbance Couleur des miels analysés.	40
17	Teneurs de proline des échantillons analysés.	41
18	Teneurs de protéine des échantillons analysés.	42
19	Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés.	43
20	Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.	44
21	Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N°1.	46

22	Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N° 2.	47
23	Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N°3.	48
24	Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N °4.	49
25	Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés.	50
26	Pouvoir scavenger du radical ABTS des miels analysés.	51
27	Graphique d'analyse en composantes principales (ACP) des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.	56
28	Dendrogramme vertical obtenu à l'aide de la méthode de Ward et des distances euclidiennes pour les paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.	57

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Echantillons de miel analysés.	20
II	Protocole de dosage de la proline.	24
III	Echelle Pfund.	25
IV	Protocole de la mesure de l'activité inhibitrice de peroxydation lipidique.	28
V	Spectres polliniques et pourcentages de pollens des miels analysés.	31
VI	Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés.	33
VII	Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.	42
VIII	Résultats de la peroxydation lipidique.	45
IX	Corrélations entre les paramètres physicochimiques, les activités antioxydantes et la peroxydation lipidique.	53

Liste des abréviations

ABTS: Acide 2,2-azino-bis(3-éthyl benzothiazoline-6-sulfonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATP : Adénosine tri phosphate

BSA : Bis (triméthylsilyl) acetamide

CE : Conductivité électrique

CPT : Composés phénoliques totaux

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl hydrozyl

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives d'oxygène

HCl: Acide chlorhydrique

HDL : Lipoprotéine haute densité

HMF : Hydroxéthylfurfural

IDL: Lipoprotéine de densité intermédiaire

LDL : Lipoprotéine à faible densité

LP(a) : Lipoprotéine a

MDA : Malon dialdéhyde

pH : Potentiel hydrogène

PL : Peroxydation lipidique

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS : Substances réactives de l'acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloracétique

UV : Ultraviolet

VLDL : Lipoprotéine à très faible densité

Introduction

Introduction

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'Homme depuis la plus haute antiquité, Il était le seul édulcorant avant l'apparition de la canne à sucre et de la betterave, C'est un produit de la ruche le mieux connu du grand public et il est utilisé comme ingrédient dans plusieurs produits alimentaires (**Azeredoet al., 2003**).

L'apparition de pathologies liées au stress oxydant implique bien souvent un déséquilibre entre production des espèces réactives d'oxygène (EROs) et système d'élimination de ces derniers. Les premiers cibles des EROs sont les lipides ce qui engendre une peroxydation lipidique : un mécanisme physiopathologique de nombreuses pathologies tels que certains cancers, maladies cardio-vasculaires et maladies inflammatoire. C'est pourquoi il paraît judicieux de développer des traitements et méthodes pour inhiber cette peroxydation lipidique.

L'usage du miel en médecine refait surface à travers le monde d'où la création de l'apithérapie, pratiquée depuis des décennies sous une forme simple et naturelle, utilisant du miel pour son effet antioxydant qui est montré par plusieurs agents (polyphénols, vitamines, enzymes), et ceci grâce à ses propriétés physico-chimiques et biologiques (**Meda et al., 2005**).

Ce travail vise justement à renforcer ces études par l'usage du miel concernant ses activités antioxydantes on utilisant quelques échantillons de miels Algériens. Les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du miel, ses différents types, sa composition biochimique et ses propriétés physico-chimiques et biologiques dans la première partie. Alors que dans la deuxième partie, le matériel d'étude et les méthodes analytiques utilisées pour l'analyse pollinique, physico-chimiques et activités antioxydantes (inhibition de la peroxydation lipidique) ont été cités. La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus.

Chapitre I

Généralités sur le miel

Partie I : Synthèse bibliographique

Historique de l'emploi du miel en thérapeutique

La plus ancienne représentation de la relation Homme-Abeille date de la période néolithique. Elle apparaît sur une peinture rupestre retrouvée sur les parois d'une grotte espagnole de la région de Valence (grotte de l'Araignée), datant de 5 à 10000 ans av, J-C. Elle montre une silhouette humaine pratiquant la récolte du miel à l'aide d'un panier, La première trace écrite faisant référence au miel est une tablette sumérienne, datant de 2100-2000 av, J-C, mentionnant le miel comme médicament ou onguent (baume) **(Bansal et al., 2005)**.

En Egypte, l'abeille était exploitée dès 2400 ans av, J-C. Le livre de préparation de médicaments pour toutes les parties du corps humain, papyrus égyptien du XVIème siècle av, J-C, ou papyrus d'Ebers, a permis de découvrir de nombreuses préparations à base de miel pour Commenté : traiter les blessures, et certaines maladies du tube digestif, rénales, ou oculaires, Ces préparations se présentaient sous forme de pilules, de décoctions, de pansements, d'emplâtres, de collyres, plus de 500 de ces préparations contiennent du miel **(Bansal et al., 2005)**.

I.1. Miel

I.1.1. Définition

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par l'abeille *Apis mellifera* à partir du nectar de fleurs ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche **(Codex-alimentaires, 2001)**. Le miel utilisé comme un aliment conservé et considéré comme le seul concentré de sucre universellement disponible **(Meda, 2005)**. Le miel peut-être fluide, épais ou cristallisé **(Blanc, 2010)**.

I.1.2. Abeilles et leurs organisations

L'abeille est un insecte social appartenant à l'ordre des hyménoptères **(Ponce et al., 2003)**. Les mieux connus et les plus utilisées en apiculture sont dans le genre *Apis* et font partie de l'espèce *Apis mellifera* comportant plusieurs races géographiques qui peuplent actuellement l'Europe, l'Afrique, l'Asie occidentale, l'Amérique du nord, l'Amérique du sud, l'Australie et la nouvelle Zélande **(Cotte et al., 2004)**.

Les abeilles vivent pratiquement dans tous les biotopes fermés (forêts, oasis) ou ouverts (plaines, savane) et sous tous les climats à l'exception des régions polaires (Lobreau-callen et Clément, 2000). L'Abeille se nourrit de miel, de pollen et de nectar. L'ensemble des abeilles compose une colonie, cette dernière se compose d'une reine unique, de nombreuses ouvrières (femelles), de faux bourdons (mâles) et de couvain (œufs + larves + nymphes) (Lobreau-callen et Clément, 2000).

I.1.2.1. Répartition géographique

L'élevage des abeilles est répandu dans l'ensemble des zones agro écologiques et s'insère harmonieusement dans les systèmes de productions arboricoles des zones de montagnes, des oasis et des plaines (Cotte *et al.*, 2004).

Le cheptel apicole algérien est constitué de deux races, *Apis mellifera intermissa*, dite « Abeille tellienne » ou « abeille noire du tell » dont l'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien (Cotte *et al.*, 2004). *Apis mellifera intermissa* (figure1) est une race d'abeilles mellifères assez grosse, Son exosquelette est d'un noir brillant, Les colonies essaient beaucoup, parfois 7 fois en une saison (Cotte *et al.*, 2004).

I.1.2.2. Classification systématique d'*Apis mellifera* (Wardenier, 2012)

Ordre : Hyménoptères

Sous-ordre : Apocrites

Famille : Apidae supérieur

Sous famille : Apinae

Genre : Apis

Espèce : *Apis mellifera*



Figure 1 : Photo de l'espèce *Apis mellifera* (Martié, Muséum national d'histoire naturelle)

I.1.3. Origine de miel

L'appétence naturelle des abeilles pour tout ce qui est sucré les amènent à butiner différentes sources. En effet, le miel est fabriqué à partir des récoltes végétales de l'abeille provenant principalement à partir du nectar mais aussi à partir du miellat, qu'elle butine sur les fleurs et les plantes (Sanz *et al.*, 2005).

I.1.3.1. Nectar

Le nectar est constitué de sucre (saccharose, glucose et fructose), d'acides organiques, de protéines dont des enzymes, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques. Tous ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (Hoyet, 2005).

Ce nectar est produit par des glandes nectarifères et sa quantité dépend de très nombreux facteurs tels que la structure des inflorescences, l'humidité de l'air et le moment de la journée (Bonté *et al.*, 2013).

I.1.3.2. Miellat

Le miellat est une sécrétion issue de la plante forestière (comme le sapin) ou une sécrétion se trouvant sur celle-ci et provenant des excréments de certains insectes suceurs de sève comme les pucerons. Le miellat est un liquide épais et visqueux, il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et en sucres complexes. Le miellat produit un miel plutôt sombre et moins humide que le miel de nectar (Aupy *et al.*, 1994).

I.1.4. Production du miel

Le premier stade de la formation du miel consiste dans l'aspiration du nectar ou de miellat des fleurs par la trompe de l'abeille qui le convoie dans son jabot (Chauvin, 1987). Cette dernière effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes (Bruneau, 2002). Le changement de la solution sucrée (nectar ou miellat) commence déjà lors du voyage, au cours duquel elle est accumulée dans le jabot des abeilles (Huchet *et al.*, 1996).

Le mélange sucré est régurgité et étalé en une goutte puis réabsorbé et transféré à plusieurs reprises d'une abeille à une autre par trophallaxie en subissant à chaque fois l'addition de salive qui transforme les sucres (principalement l'invertase, qui hydrolyse le saccharose en fructose et en glucose) (Gonnet, 1982 ; Jean-Prost *et al.*, 2005).

Dans les rayons de la ruche, pendant plusieurs jours, l'eau s'évapore du liquide dont la concentration en sucres augmente jusqu'à atteindre 70 à 80 % et celle de l'eau diminue jusqu'à 14 à 25 %, Lorsque le miel est suffisamment concentré, les abeilles recouvrent les alvéoles d'un opercule de cire (Jean-Prost *et al.*, 2005).

Le miel est mature et qu'il a atteint un faible degré d'humidité (en dessous de 20%), la glucose-oxydase devient inactive et le produit se stabilise. C'est là que les abeilles cirières recouvrent les alvéoles à l'aide d'une fine couche de cire, imperméable à l'air, ce qui permet une longue conservation du miel (Huchet *et al.*, 1996 ;Marchenay et Bernard, 2007).

La quantité emmagasinée dans la ruche est largement supérieure aux besoins immédiats de la colonie, l'abeille possède un fort instinct de stockage (Emmanuelle, 1996).

I.1.4.1. Récolte du miel

Il s'agit de différentes techniques qu'utilise l'apiculteur pour enlever les cadres du miel de la ruche, La récolte s'opère à la fin de la floraison de la plante qui caractérisera le miel. Dans le cadre d'un miel de toutes fleurs, la récolte est réalisée lors des floraisons les plus tardives. A la fin de la miellée, quand les cadres sont remplis de miel et operculés, l'apiculteur ramasse les hausses des ruches et les ramène dans sa miellerie afin d'extraire le miel (Adam, 2010).

I.1.5. Composition chimique du miel

Le miel est constitué de plus de 181 substances différentes (Al Mamary *et al.*, 2002). La composition du miel dépend principalement des fleurs butinées, du climat, des régions géographiques et des espèces d'abeilles impliquées dans sa production (Da Silva *et al.*, 2015).

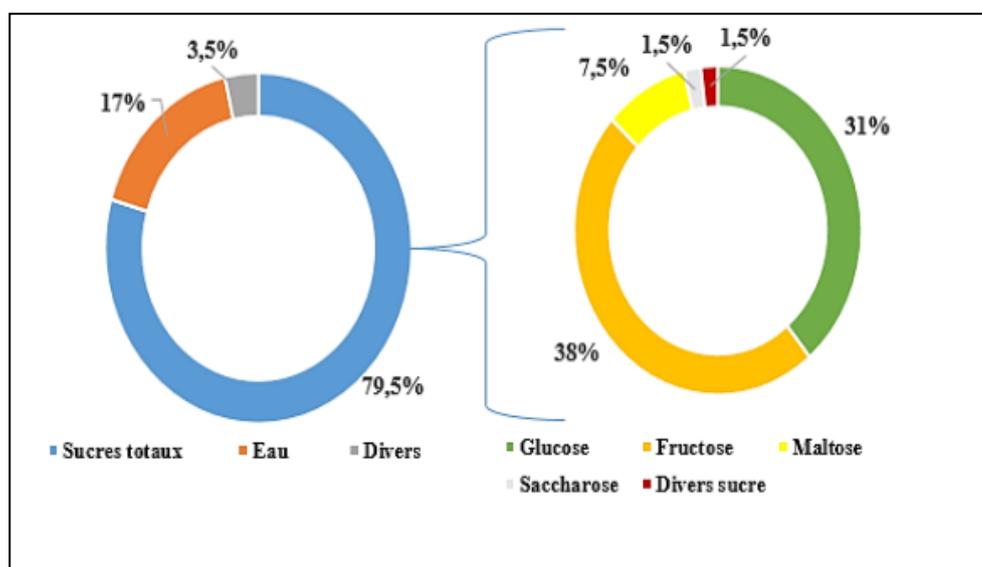


Figure 2 : Composition chimique de miel (Teyssier, 2005).

La teneur en eau du miel est en moyenne de 17%. Les glucides sont présents en quantité de 80% dont les principaux glucides du miel sont le fructose et le glucose ; plus autres éléments qui entrent dans sa composition tels que les sels minéraux, vitamines et composés phénoliques (**Da Silva et al., 2015**).

I.1.6. Classification de miel

❖ En fonction de l'origine sécrétoire

-Miel de fleurs ou de nectars, obtenus à partir du nectar des plantes.

-Miel de miellat, obtenu à partir des sécrétions des insectes suceurs, ou à partir des sécrétions provenant des plantes (**Bonté et al., 2013**).

❖ En fonction de l'origine botanique

-Miel monofloral (les miel monofloraux sont élaborés à partir du nectar, ou des abeilles d'une espèce végétale unique ou prépondérante relativement régulière, Il n'existe pas de miel monofloral à 100 %, car le miel contient du pollen mineur mais négligeable par rapport au pollen dominant.

-Miel multifloral les miels polyfloraux de saveurs et de couleurs très variables sont issus du nectar ou du miellat de différentes plantes (**Bonté et al., 2013**).

❖ En fonction de la couleur

La grande variété de couleurs des miels dépend de la diversité de nos terroirs et des paysages qui les composent. Produit naturel par excellence, le miel possède des couleurs qui dépendent directement de la flore, source de vie pour la ruche (**Bonté et al., 2013**).

I.1.7. Détecteurs de fraudes

I.1.7.1. Moyens de détection des fraudes

Parmi la multitude de paramètres pouvant décrire le miel, un certain nombre est exigé dans les analyses afin de détecter d'éventuels non conformités pour le miel considéré, Ces critères réglementaires sont les suivants :

-Humidité : Analyse très importante qui permet d'évaluer les conditions de stockages, le risque de fermentation et le comportement de cristallisation ;

-HMF (résulte de la dégradation des sucres) : Elle permet de juger du traitement thermique du miel et éventuellement de son vieillissement ;

-Sucres (glucose, fructose et saccharose) : Permet de détecter l'ajout du sirop (Bartholomeus, 2010) ;

-Acidité libre : Elle permet de juger du vieillissement du miel ;

-Dosage de l'amylase : Détection d'une chauffe trop importante du miel ;

-Teneur en cendres et matière insoluble : Méthode ancienne pour détecter un ajout dans le miel (farine, sucre...) pour ajouter du poids dans ce dernier, Aujourd'hui cette analyse n'est plus nécessaire car on détecte facilement de tels ajouts avec les autres analyses.

I.1.8. Propriétés physico-chimiques

a. Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau, Il est d'autant plus élevé que la teneur du miel en eau est faible, Il oscille entre 1,47 et 1,50 à une température de 20 °C. La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais elle peut être aussi influencée par de nombreux d'autres facteurs parmi lesquels : les conditions climatiques lors de la récolte et les conditions de stockage (Lazarević *etal.*, 2012 ; Belay *et al.*, 2013).

b. Densité

Le miel a une densité relativement élevée qui est déterminée par densimètre. Pour une teneur moyenne en eau de 17,2 % à 20°C, la densité moyenne est de 1,42 et varie généralement de 1,39 à 1,44 selon la nature des miels analysés. Un miel récolté prématurément, moins mûr, aura une densité plus faible (Bagdonov, 2011).

c. pH

Tous les miels sont acides. En effet, leur pH varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux du miellat. Cette acidité est due principalement à la teneur du miel en acide gluconique (Cavia *et al.*, 2007).

d. Conductivité électrique

La conductivité électrique du miel est liée à la teneur en cendres (teneur en minéraux) et l'acidité, révélant la présence d'ions, acides organiques et protéines (Yücel *et Sultanoglu*, 2013). Ainsi, plus leur contenu est élevé, plus la conductivité résultante est élevée.

C'est un indicateur souvent utilisé dans le contrôle de la qualité du miel qui peut être utilisé pour distinguer les miels floraux des miels miellés (**Karabagias et al., 2014**).

e. Pouvoir rotatoire

Le miel présente la propriété de dévier le plan de la lumière polarisée. Le pouvoir rotatoire global dépend de la nature et des proportions relatives des sucres présents dans le miel. Cette propriété est très utilisée pour la détermination de l'origine botanique du miel (**Nanda et al., 2003**).

f. Couleur

La couleur est l'un des paramètres qui varie le plus, il est principalement déterminé par son origine botanique. Cela dépend aussi de sa teneur en cendres, la température à laquelle le miel reste dans la ruche et le temps de stockage (**Gámbaro et al., 2007**). Le **Codex Alimentarius Comité (2001)** stipule que la couleur du miel devrait être presque incolore à brun foncé.

g. Hydroxyméthylfurfural (5-HMF)

L'HMF est un paramètre de fraîcheur d'échantillons de miel, il est absent ou se forme de traces dans les miels frais et tend à augmenter au cours des traitements et/ou de vieillissement du produit. Les facteurs qui influencent le niveau de l'HMF sont : la température, le temps de chauffage, les conditions de stockage, le pH et la source florale (**Gomes, 2010**).

Une teneur élevée en 5-HMF dans les miels peut également être une indication de falsification en ajoutant du sirop inversé, car le 5-HMF peut être produit en chauffant les sucres en présence d'un acide à l'inversion de saccharose (**Capuano et Fogliano, 2011; Yücel et Sultanoglu, 2013**).

La limite maximale du Codex Alimentarius (2001) est de 40 mg / kg, alors que la limite est de 80 mg / kg pour les régions très chaudes (**Bogdanov et al., 2004**).

h. Viscosité

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé.

Par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, composition chimique) entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (**Petit, 2012**).

I.1.9. Propriétés biologiques

I.1.9.1. Activité antioxydante

Les antioxydants jouent un rôle important dans la préservation des aliments et la santé humaine, par désactivation et stabilisation des agents d'oxydation (**Gorjanovic et al., 2013**). Le terme de stress oxydatif est défini comme le déséquilibre entre la production de radicaux libres et l'activité antioxydante dans un organisme (**Ames et al., 1993**).

Le miel est utilisé comme source naturelle d'antioxydants qui sont efficaces pour la réduction des risques de maladies (**Meda et al., 2005**). Les composés responsables de l'activité antioxydante du miel sont : les flavonoïdes (chryisine, pinocembrine, pinobanksine, quercétine, kaempférol...), les acides phénoliques (cafféique, coumatric, éllagique et chlorogénique) (**Sarmentosilva et al., 2015**), l'acide ascorbique, la catalase et les caroténoïdes (**Alvary-Surez et al., 2010 ; Ouchmoukh, 2012**). Cependant, cette activité est variable d'un miel à l'autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants (**Beretta et al., 2005 ; Anjos et al., 2015**).

I.1.9.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne est principalement due aux flavonoïdes et aux acides phénoliques (**Donadieu, 2008**). Le miel peut également contenir des substances antimicrobiennes telles que la défensine-1 et le méthylglyoxal (**Desmoulière, 2013**).

La variation de cette activité antibactérienne dépend de :

- la concentration en miel
- son origine florale
- son acidité
- la quantité de peroxyde d'hydrogène produite
- l'action de la catalase
- la chaleur qui détruit l'activité du miel (même s'il paraît stable pour des températures inférieures à 40°)
- de la durée de conservation (qui peut aller jusqu'à 2 ans)

- de la lumière, et surtout la lumière directe du soleil (**Fanny, 2015**).

I.1.9.3. Activité anti-inflammatoire

Ce sont les flavonoïdes qui jouent le rôle principal dans l'inflammation. En effet, on pourrait expliquer cela par le fait que les flavonoïdes ont la faculté d'inhiber l'action des protéines kinases. Parallèlement, une stimulation des macrophages sera observée certains composés aromatiques et phénoliques, tels que l'acide caféique ou l'acide férulique possèdent respectivement des propriétés analgésiques/anti-inflammatoires, anti-oxydantes, et régénératrices cellulaires (**Cuvillier, 2015**).

I.1.9.4. Activité anticancéreuse

Les constituants du miel tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes sont des inhibiteurs importants de cycle cellulaire des différentes lignées cellulaires de mélanome, de gliome et de cancer du côlon. Plusieurs études ont rapporté que les polyphénols du miel ont la capacité à activer la caspase-3 responsable de l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses colorectales (**Otmani, 2021**).

Chapitre II
Généralités sur le stress
oxydant, lipides et
peroxydation lipidique

I.2. Stress oxydant

I.2.1. Définition

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'Espèces réactives d'oxygène ERO (figure 3), en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Favier ,2009).

Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (Favier ,2009).

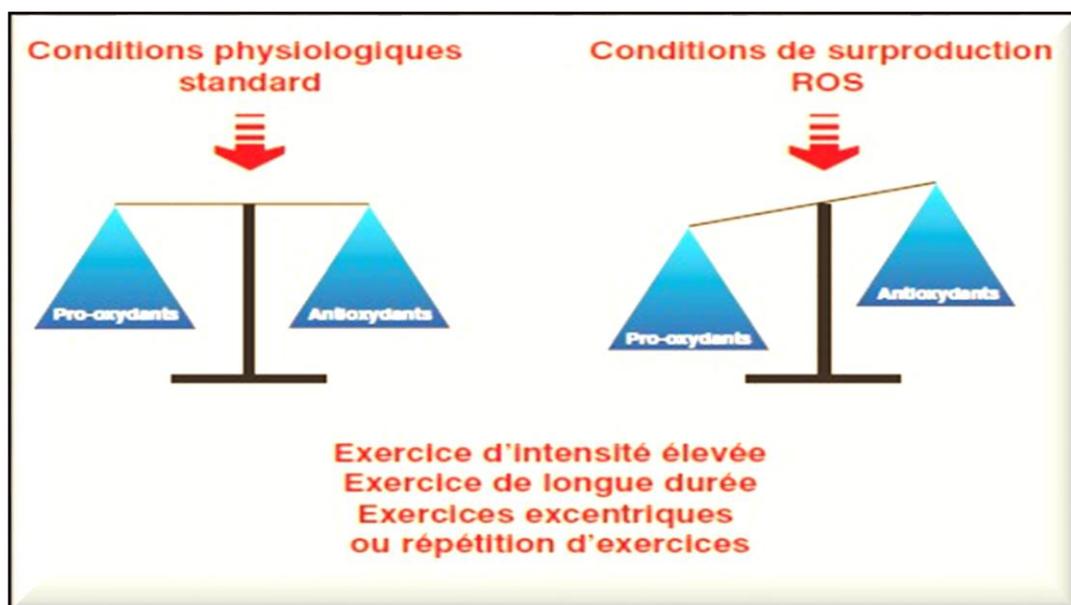


Figure3 : La balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO (Poisson, 2013).

I.2.2. Espèces réactives de l'oxygène

Les EROs produites par les cellules ont très longtemps été vues comme des produits toxiques du métabolisme, pouvant dégrader les macromolécules lipidiques, protéiques ou l'acide nucléique désoxyribosique (ADN) de la cellule (Beaudeau et al ., 2006).

Pour se protéger de ces effets délétères, les cellules possèdent d'ailleurs plusieurs enzymes anti-oxydantes telles que le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. Le stress oxydant intracellulaire est un déséquilibre de la balance entre la production d'ERO et la capacité antioxydante de la cellule à empêcher les lésions oxydatives **(Beaudeau et al., 2006)**.

Une surproduction d'ERO et/ou un déficit en systèmes antioxydants sont, à ce titre, impliqué dans les mécanismes physiopathologiques de nombreuses pathologies : athérosclérose, diabète, maladies neurodégénératives. Toutefois, on sait qu'aujourd'hui les ERO et les espèces réactives de l'azote (ERN), tel que le monoxyde d'azote (NO), sont avant tout des acteurs importants de la signalisation cellulaire et de la régulation des métabolismes **(Beaudeau et al., 2006)**.

I.2.3. Radicaux libres

I.2.3.1. Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche périphérique **(Valery et al., 2014)**.

Les espèces oxydantes sont des dérivés de l'oxygène radicalaire ou non, hautement réactifs et instables, impliqués dans de nombreux processus biologiques.

Parmi ces espèces, les moins réactives comme l'ion superoxyde (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont peu impliqués dans la dégradation protéique, mais ont la capacité de diffuser à travers les membranes et ainsi d'agir à des distances de façon relativement importante **(Valery et al., 2014)**.

I.2.3.2. Origine et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

La production de radicaux libres peut être d'origine endogène ou exogène (Figure 4) et résulte d'activités enzymatiques ou non enzymatiques **(Pham-Huy et al., 2008)**.

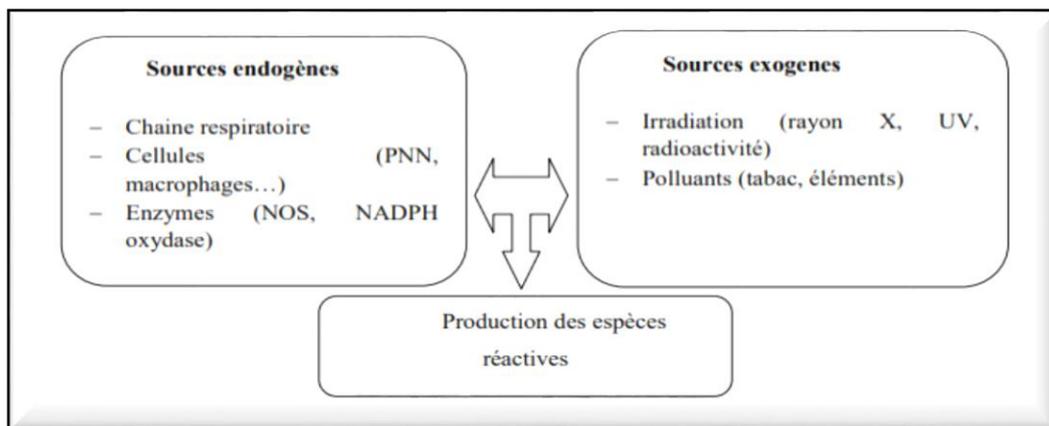


Figure 4 : Les sources des espèces réactives (Poisson, 2013).

a. source endogènes

La mitochondrie est le principal organite producteur d'énergie sous forme d'ATP. Elle est aussi considérée comme la plus grande source de production des EROs. La production physiologique des EROs par la mitochondrie est de l'ordre de 0,2 à 0,4 % de l'oxygène consommé (Hansford *et al.*, 1997 ; Sanz et Stefanatos, 2008). Il a été démontré que les complexes I et III de la chaîne respiratoire sont responsables de la production d'anion superoxyde (Barja, 1999 ; Chen *et al.*, 2003). L'anion superoxyde est ensuite rapidement converti en H_2O_2 par le superoxyde dismutase (SOD). (Chen *et al.*, 2003).

Plusieurs cellules et tissus produisent les EROs y compris les cellules endothéliales vasculaires, les cellules musculaires lisses et ce par l'intermédiaire de leur enzymes cellulaires (Beaudeau *et al.*, 2006).

Parmi ces enzymes : la NADPH oxydase membranaire, la xanthine oxydase, la cyclo-oxygenase et l'enzyme du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P_{450}) (Durand *et al.*, 2013). Les EROs générées (principalement O_2^- et H_2O_2) se transforment généralement en une autre forme très réactive (OH) surtout en présence de métaux de transition (fer et cuivre) (Beaudeau *et al.*, 2006).

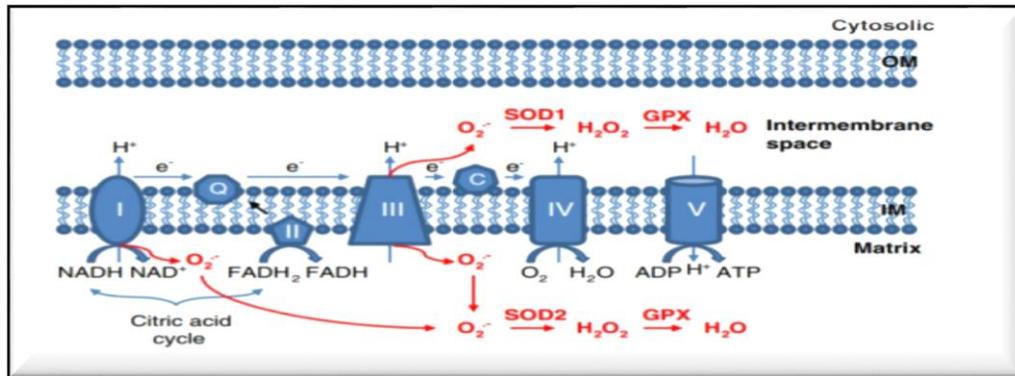


Figure 5 : Production des ERO mitochondriale (Li *et al.*, 2013).

b. Les sources exogènes

En plus des sources endogènes, il existe des sources exogènes liées le plus souvent à une mauvaise hygiène de vie. Parmi ces sources exogènes, on peut citer le tabagisme, l’alcool ou la consommation d’huiles oxydées ainsi que des agents physiques tels que les UV, la chaleur ou certains polluants (Riché, 2008). De plus certain métaux tels que le cuivre ou le fer, lorsqu’ils sont apportés en excès peuvent générer des EROs (Halliwell B *et al.*, 1990).

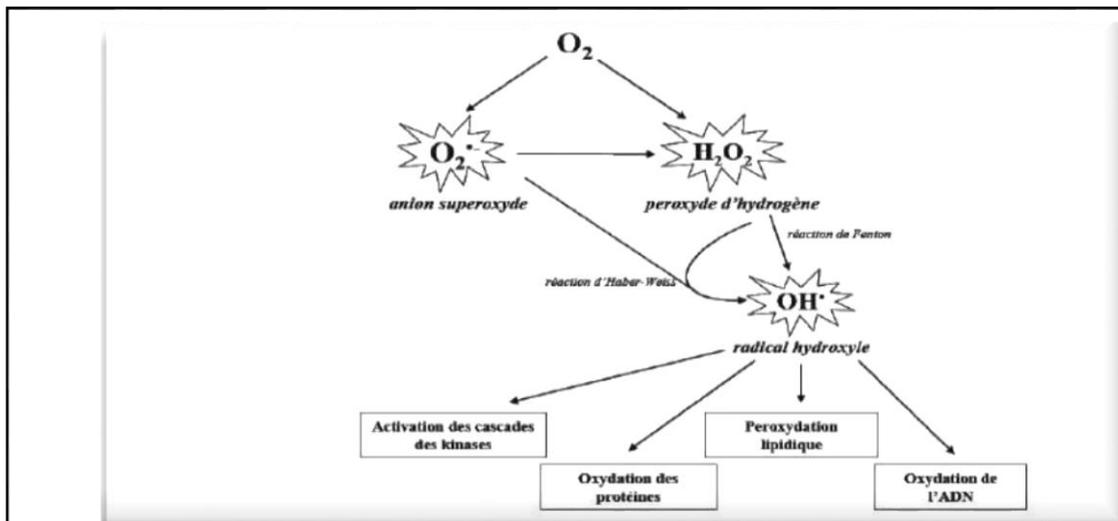


Figure 6 : Différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l’oxygène (Chen et Chung,1996).

I.2.4. Peroxydation sur les lipides du plasma

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (**Hulbertl, 2005 ; Pamplona et al., 2000**).

L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs, La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (**Hong et al., 2004**). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (**Marnett, 1999**), Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (**Echtay et al., 2003**).

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit terminal de la peroxydation lipidique. La réactivité du MDA avec l'acide thiobarbiturique (TBA) reste un test classique de dépistage de la peroxydation lipidique encore très utilisé (**Tamburri et al., 2009**).

La réaction de l'acide thiobarbiturique avec la MDA permet la formation d'un chromophore d'une couleur rose absorbant à 535 nm (**Satoh, 1978**).

Il est largement admis que la peroxydation des lipides dans les aliments produits, est une réaction en chaîne impliquant trois étapes générales : initiation, propagation et terminaison.

Amorçage (initiation) : Au cours de laquelle il y a génération des premiers radicaux alkyle (R^\bullet) à partir des acides gras insaturés (RH) (**Villière et Genot, 2006**).

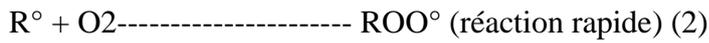


a. Initiateur (I)

Favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques (**Favier, 2006 ; Valko et al., 2006**).

b. Propagation

Au cours de laquelle les radicaux alkyles précédemment formés réagissent avec l’oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxyde (ROO°) (2), Ces derniers réagissent à leur tour avec des acides gras et forment des hydroperoxydes (ROOH) (3) (Villière et Genot, 2006).



Les hydroperoxydes (ROOH), sont des molécules instables qui sont des produits primaires de la réaction, donnant naissance à des produits secondaires sous l’effet de la chaleur ou des métaux (Halliwell et Gutteridge, 1999).

c. Terminaison

Les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n’est pas un radical libre mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.

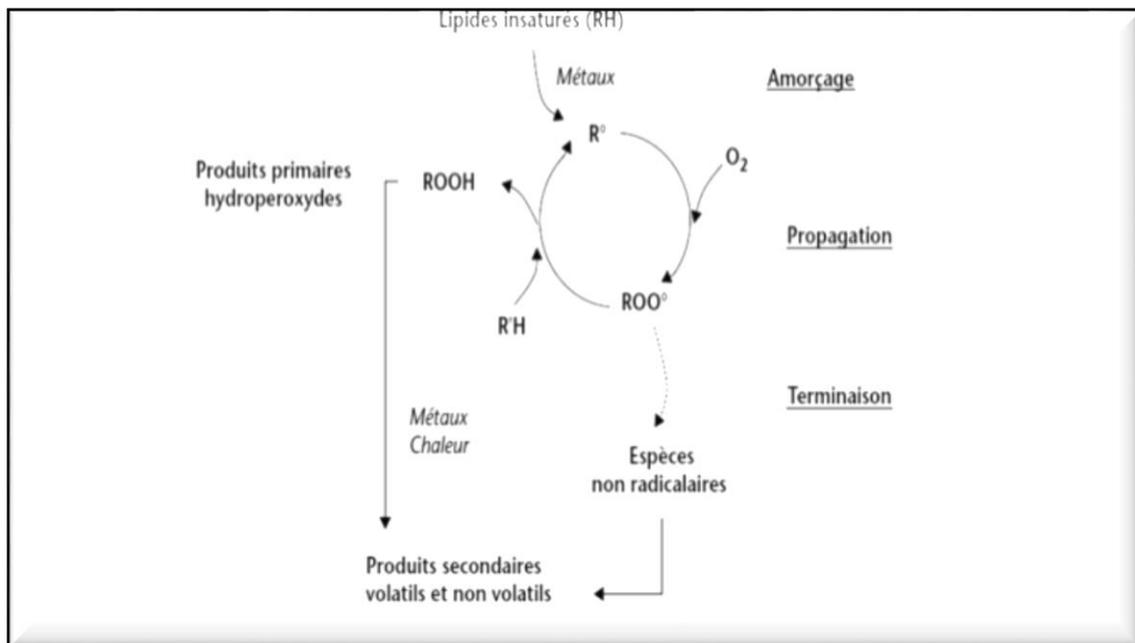
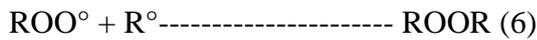
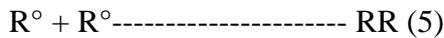


Figure 7 : Représentation schématisée du mécanisme réactionnel de la peroxydation des lipides (Villière et Genot, 2006)

I.2.5. Antioxydants

I.2.5.1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Servais, 2004**). Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes,

I.2.5.2. Types des antioxydants

Les antioxydants exogènes, comme l'acide ascorbique (vitamine C), se retrouvent à l'intérieur comme à l'extérieur de la cellule ainsi que sur la membrane cellulaire. Certaines substances hydrophobes, la plus importante étant la vitamine E, ont comme rôle de protéger l'intérieur de la membrane cellulaire, riche en acides gras polyinsaturés, de la peroxydation lipidique (**Spiteller, 2003**).

Certains antioxydants endogènes, comme l'acide urique, sont présents dans le plasma sanguin ; les plus importants antioxydants endogènes sont toutefois les enzymes superoxydedismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) (**Rodrigo, 2009**).

- **Le superoxydedismutase (SOD)** : C'est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène (**Jacques et André, 2004**).

- **La catalase** : Cette enzyme décompose le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais son rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (**Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993**).

- **Les glutathions peroxydases et réductases** : Ces enzymes sont localisés dans le cytosol et dans la mitochondrie. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques

(ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG).

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH (Marfak, 2003).

I.2.6. Différentes lipoprotéines présentes dans le sang

Les lipoprotéines sont des complexes de protéines et de lipides, hydrosolubles, transporteurs des lipides dans la circulation sanguine (André-Fouët, X., et al., 2004). La coque externe est une monocouche de phospholipides contenant du cholestérol libre et une ou plusieurs protéines appelées apolipoprotéines (par exemple ApoA, ApoB, etc.), (La structure amphiphile des phospholipides permet une solubilité adéquate des lipoprotéines : la tête hydrophile est en contact avec le plasma alors que le pôle opposé, hydrophobe, interagit avec le noyau lipidique contenant des triglycérides, des esters de cholestérol et de petites quantités d'autres substances hydrophobes, comme des vitamines liposolubles (Shepherd, J., 1994, Toussaint, J.-F., et al., 2003).

Les lipoprotéines ne sont pas des particules stables mais subissent des remaniements lors du transport des lipides. La classification des lipoprotéines vient de leurs caractéristiques physico-chimiques principalement réparties selon leurs mobilités électrophorétiques, par électrophorèse en agarose. La migration des protéines se fait selon leur charge, A pH supérieur à leur pHi moyen (pH en général 8,2 à 8,6), les protéines sont toutes chargées négativement et se comportent comme des anions suite à l'ionisation des groupements carboxyliques des acides aminés dicarboxyliques (glutamine et acide aspartique). Sous l'action d'un champ électrique de l'électrophorèse, elles vont migrer vers l'anode (+).

La mobilité électrophorétique est une valeur exprimée par la relation $\mu=v/E$ avec v pour la vitesse de la molécule, d'autant plus grande que le pH du milieu est éloigné du pHi de la protéine et E pour le champ électrique. Les lipoprotéines forment 2 classes avec des mobilités électrophorétiques proches des globulines α_1 (HDL) et (VLDL, IDL et LDL) (Stocks, J, and Miller, N, E., 1999).

Cependant, les techniques d'ultracentrifugation ont permis d'affiner cette classification en tenant compte de la densité hydratée des lipoprotéines et de leur taille (Gofman, J, W., et al., 1949).

Les lipoprotéines diffèrent aussi selon leur composition lipidique, au niveau du cœur hydrophobe mais aussi au niveau de leur composition en apolipoprotéines (figure8). Les lipoprotéines de faible densité telles que les VLDL et les chylomicrons sont riches en triglycérides alors que les lipoprotéines de densité plus élevée telles que les LDL et les HDL transportent essentiellement du cholestérol estérifié.

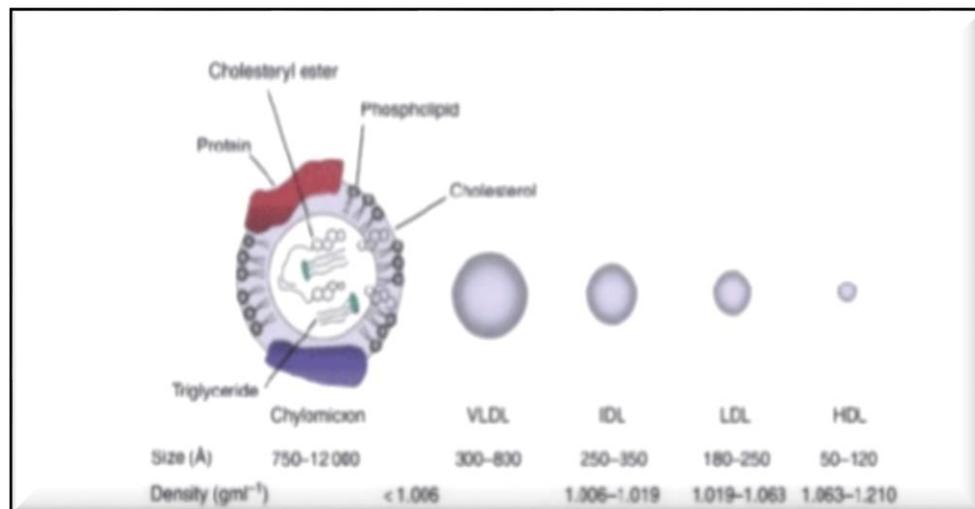


Figure 8 : Structure des lipoprotéines (Favanne E, Thorngate et David L, Williams)

I.2.6.1. Classification

Les lipoprotéines se classent en 5 groupes, selon leur composition lipidique.

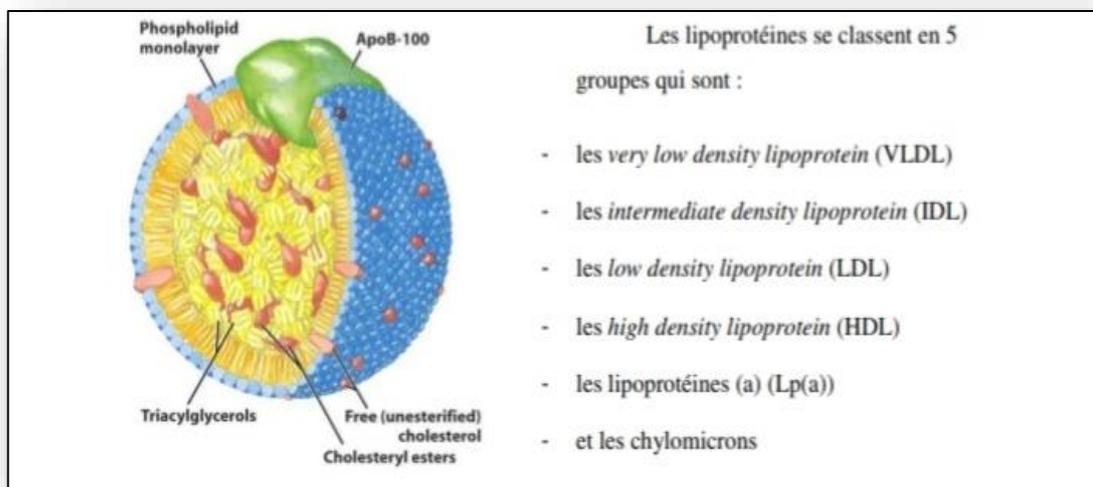


Figure 9 : Schéma d'une lipoprotéine (Nelson, D L et Cox, M M, 2006).

Chapitre III

Matériel et méthodes

Partie II : Partie expérimentale**II.1. Matériel et méthodes**

Notre partie expérimentale est réalisée au sein du laboratoire de biologie physico-chimique de l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

L'objectif du présent travail est de mesurer la capacité d'inhibition du miel sur l'oxydation lipidique de plasma sanguin induite par un agent oxydant.

II.1.1. Echantillons de miel

Sept échantillons de miel sont récoltés dans différentes régions de Bejaia et quelques autres willaya.

Tableau I : Echantillons de miel analysés (région, état, couleur).

Miels	Région	Etat	Couleur
M1	Imzalan (Bejaia)	Solide	Marron clair
M2	Bouhathem (Bejaia)	Solide	Marron
M3	Mssila	Visqueux	Marron clair
M4	Djelfa	Visqueux	Marron jaunâtre
M5	Laghouat	Visqueux	Marron
M6	Akfadou (Bejaia)	Solide	Marron
M7	Akfadou (Bejaia)	Liquide	Marron clair



Figure 10 : Echantillons des miels récoltés (**Originale**).

II.1.2. Analyse pollinique

L'analyse pollinique est une méthode qui consiste à déterminer l'origine botanique et de séparer les grains de pollen de la matière qui les entoure afin de pouvoir en observer la morphologie sur une lamelle sous microscope optique.

La méthode utilisée pour l'analyse pollinique est celle décrite par la commission internationale de botanique apicole (**Louveaux et al., 1978**).

Un volume de 25 g de miel est dissout dans 100 ml d'eau distillée, la solution obtenue est versée dans des tubes à centrifugation. Ces derniers sont placés dans une centrifugeuse pendant 10 min à 4500 tours/min. Le surnageant est retiré avec précaution le culot est additionné de 10 ml d'eau distillée puis centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions puis le surnageant est éliminé. Une petite goutte de culot (100 μ l) est prélevée, étalée sur une lame puis séchée sur une plaque chauffante, Sur la même lame, une goutte de fushine-gélatinée est étalée puis recouverte par une lamelle. La lecture des lames est réalisée sous le microscope optique au grossissement *40 (**louveaux et al., 1978**).

L'identification des grains de pollen est effectuée grâce aux banques de données numériques et bibliographiques du CETAM (Centre d'Etudes Techniques Apicoles de Moselle, France).

II.1.3. Analyses physico- chimiques

a. pH

Selon la méthode de **Bogdanov (1997)**, le pH est mesuré sur une solution de miel à 10%. Après avoir dissout 2,5 g de miel dans 25 ml d'eau distillée, la valeur du pH de la solution est déterminée après l'immersion de la sonde du pH-mètre dans celle-ci.

b. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la capacité d'un échantillon de miel à transmettre un flux électrique. Elle est déterminée par une analyse conductimétrique à 20 °C d'une solution aqueuse de miel à 20 % de la matière sèche.

Une quantité de miel est pesée telle que $M = (5 \times 100) / MS$ (où MS est la teneur en matière sèche de miel) puis dissoute dans 25 ml de l'eau distillé de très faible conductivité. La sonde de mesure du conductimètre est introduite dans la solution de miel.

La valeur de la conductivité électrique est lue sur l'appareil et les résultats sont exprimés comme suit :

$$CE \text{ (milli-Siemens /cm)} = \text{valeur mesurée} - A$$

CE : conductivité électrique.,

A : (la valeur mesuré x 0,032) x (T°-20°)

T° : Température ambiante de la mesure (dans notre cas elle varie entre 16 et 18°C).

0,032 : facteur de correction.

c. Humidité et brix

La mesure optique de l'indice de réfraction des échantillons détermine la teneur en eau du miel en se référant à la table de CHATAWAY, selon la méthode rapportée par **Bogdanov et al., (1999)**.

Une goutte de miel liquide est étalée sur la platine du prisme du réfractomètre. L'indice de réfraction ainsi que le pourcentage de brix sont lus sur une échelle graduée à travers l'oculaire du réfractomètre après l'avoir régler de telle sorte que la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure soit au milieu d'une croix. La teneur en eau est obtenue par correspondance à la table de CHATWAY (annexe).

d. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Le taux en HMF est déterminé par la méthode de **Bogdanov et al. (1997)**. Une masse de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillé, 2 ml de solution de Carrez I (solution d'hexacyanoferrate II de potassium à 15%) et de Carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 %) y sont additionnées. Le mélange est transféré dans une fiole de 50 ml puis le volume est ajusté avec de l'eau distillée. Quelques minutes après, le mélange est filtré avec du papier filtre Whatman et les 10 ml du premier filtrat sont écartés. Ensuite, 5 ml du filtrat sont introduits à chaque tube à essai, 5 ml de bisulfate de sodium sont additionnés à la solution de référence et 5 ml d'eau distillée sont ajoutés à la solution d'échantillon. Après homogénéisation l'absorbance de la solution d'échantillon est lue contre celle de référence à 284 nm et à 336 nm.

La teneur en HMF est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{HMF}](\text{mg/kg}) = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 / W$$

A₂₈₄: absorbance à 284 nm.

A₃₃₆: absorbance à 336 nm.

W : masse en grammes de l'échantillon de miel

149,7 = (126 x 1000 x 1000) / 16830 x 10 x 5 = constante.

126 = poids moléculaire de HMF.

16830 = absorptivité molaire ϵ de HMF à une absorbance de 284 nm.

1000 = conversion de g en mg.

10 = conversion de 5 à 50 ml.

1000 = conversion de g de miel en kg.

5 = poids nominal théorique de l'échantillon.

e. Protéines

La teneur du miel en protéines est déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**. C'est une méthode colorimétrique dans laquelle un colorant, le bleu de Coomassie G250, de couleur vert foncé en milieu acide, devient bleu en se fixant aux groupements NH^3+ des protéines, la réaction est quasi-instantanée et se mesure à 595 nm. Dans un tube à essai, un volume de 0,1 ml d'une solution de miel à 50 % est additionné d'un volume de 5 ml du réactif de Bradford. Après 2 min, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 595 nm (**Azeredo et al., 2003**). La teneur du miel en protéines est déterminée en utilisant, une courbe d'étalonnage avec le sérum albumine bovine (BSA) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de BSA par 100 g de miel (mg EBSA/100 g).

f. Proline

La teneur en proline du miel est déterminée selon la méthode rapportée par **Bogdanov et al. (1997)**. Les solutions utilisées et le protocole expérimental suivi sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II : Protocole de dosage de la proline

	Solution d'échantillon	Solution du blanc	Solution du standard
Solution de miel	0,5ml	-	-
Eau distillé	-	0,5 ml	-
Solution de proline (0,8mg/25ml)	-	-	0,5 ml
Acide formique	1 ml	1 ml	1 ml
Solution de ninhydrine	1 ml	1 ml	1 ml
Agitation	15 min	15 min	15 min
Bain marie à 100 °C	15 min	15 min	15 min
Transfert au bain marie à 70 °C	10 min	10 min	10 min
Solution aqueuse de propanol -2	5 ml	5 ml	5 ml
Temps d'incubation	45 min	45 min	45 min
Absorbance	510 nm	510 nm	510 nm

Les concentrations en proline sont déterminées selon l'équation suivante :

$$\text{Proline (mg/kg)} = (\text{Es} \times \text{E1} \times 80) / (\text{Ea} \times \text{E2})$$

Es : Absorbance de la solution d'échantillon.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

E2 : Quantité prise du miel en kg.

80 : Facteur de dilution.

g. Couleur

le protocole selon **Kaskoniene et al.(2009)** :

-Peser une quantité de 1g du miel.

-Dissoudre cette quantité du miel dans 2 ml d'eau distillée.

-Homogénéisation de mélange jusqu'à la dissolution complète du miel (avec une plaque agitatrice).

- Chauffer la solution à 40°C pour dissoudre les cristaux de sucre.

-Lire l'absorbance de la solution au spectrophotomètre à 635 nm.

Les miels sont classés selon l'échelle Pfund après conversion des valeurs d'absorbance (Abs) :

$$\text{Mm Pfund} = -38,70 + 371,39 \times \text{Abs}$$

Ou :

Mm Pfund : Intensité de la couleur du miel dans l'échelle de Pfund.

Abs : Absorption de la solution du miel.

Tableau III : Echelle Pfund

Nom de la couleur	Intensité de la couleur (mm Pfund)
Blanc d'eau	<9
Extra blanc	9-17
Blanc	18-34
Ambré extra clair	35-50
Ambré extra	51-85
Ambré	86-114
Ambré foncé	>114

II.1.4. Antioxydants et activités antioxydantes

II.1.4.1. Teneurs en antioxydants

II.1.4.1.1. Dosage des composés phénoliques

L'ensemble des composés phénoliques du miel est oxydé par le réactif du Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 750 nm, et elle est proportionnelle aux taux de composés phénolique.

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode décrite par **Naithani et al. (2006)**. 100 μ l de la solution de miel (0,1 g/ml) sont additionnés de 100 μ l du réactif Folin-Ciocalteu (50 %) et de 2 ml de carbonate de sodium (2 %). Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm.

Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe), réalisée avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g).

II.1.4.1.2. Teneur en flavonoïdes

La Directive du Conseil de l'Union Européenne (2002) a décrit une méthode colorimétrique de dosage des flavonoïdes. Elle consiste à mélanger 1 ml de la solution de miel 5 % diluée avec 4 ml de l'eau distillée suivis de 0,3 ml de la solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$, 5 %). Après 5 min, un volume de 0,3 ml de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$, 10 %) est additionné, 6 min plus tard, 2 ml de la soude ($NaOH$, 4 %) y sont ajoutés. L'absorbance du mélange est lue à 510 nm. La teneur en flavonoïdes totaux des miels étudiés est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100 g de miel (mg EC / 100g) (annexe II, figure 03). Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Ribéreau-Gayon, 1982**).

II.1.4.2. Peroxydation lipidique

II.1.4.2.1. Matériel

a. Matériel biologiques

❖ Les volontaires

Quatre individus ont été portés comme volontaires dans cette étude. Les volontaires sont des personnes d'âge adulte, de sexe masculin et féminin, de bonne santé, non fumeuses et ne prenant aucun traitement médicamenteux ou autres compléments alimentaires.

❖ Sang humain

Sept prélèvements sanguins ont été effectués pour chaque individu. Un volume de 4 ml de sang a été prélevé à partir de la veine oculaire de chaque individu et déposé dans des tubes héparines. Ces derniers sont centrifugés à Tours/min pendant 15 minutes.

b. Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et les réactifs utilisés sont les suivants :

- Acide thiobarbiturique TBA
- Acide chlorhydrique HCL
- Acide trichloracétique TCA
- Eau distillée

II.1.4.2.2. Méthode

Les TBARS est une méthode spectrophotométrique où le dosage permet d'évaluer la quantité de malonyldialdéhyde (MDA) présente dans le sérum.

Le MDA est un produit terminal de l'oxydation des lipides par les radicaux libres. La réaction de l'acide thiobarbiturique avec le MDA permet la formation d'un chromophore rose mesurable à 535 nm.

a. Protocole d'analyse

Préparation de la solution stock (TCA+TBA+HCL) : 15% d'acide trichloracétique (poids/volume), 0,375% d'acide thiobarbiturique (poids/volume) et 0,25 N d'acide chlorhydrique ont été préparés et mélangés dans 100 ml d'eau distillée. Cette solution a été modérément chauffée et soumise à une sonication pour aider la dissolution de l'acide thiobarbiturique.

Tableau IV : Protocole de la mesure de l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique.

(Da Costa et al., 2006)

	Solution d'échantillon	Solution du blanc	Solution du Contrôle	Solution du standard (vitamine C)
Solution de miel	0,25 ml	0,25 ml	-	-
Plasma sanguin	0,5 ml	-	0,5 ml	0,5 ml
Eaudistillé	-	0,5 ml	0,25 ml	-
Vitaminé C	-	-	-	0,25 ml
Incubation 37°C	5 min	5 min	5 min	5 min
Solution du stock	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Bain marie é 95°C	15 min	15 min	15 min	15 min
Transfert au bain de glace	5 min	5 min	5 min	5 min
Centrifugation 4000 tour/min	10 min	10 min	10 min	10 min
Absorbance	535 nm	535 nm	535 nm	535 nm

Pour calculer les pourcentages d'inhibition de peroxydation lipidique on doit effectuer le calcul suivant:

$$\left[\frac{\text{Abs de controle positif} - (\text{moyenne des abs des échantillons} - \text{Abs de controle négatif})}{\text{controle positif}} \right] \times 100$$

Contrôle positif contient : plasma + eau distillée + solution de stock

Contrôle négatif contient : eau distillée + solution de miel + solution de stock

II.1.5. Activités antiradicalaires

II.1.5.1. DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

La délocalisation d'un électron célibataire de DPPH, radical libre stable, donne une couleur violette. L'intensité de cette couleur diminue lorsque le DPPH est réduit en présence d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène (Molyneux, 2004). Le test de réduction de DPPH par les antioxydants présents dans le miel est effectué par la méthode décrite par (Meda et al., 2005).

Un volume de 1ml de la solution éthanolique de DPPH ($6,10^{-2}$ mM) est ajouté à 500 μ l de la solution aqueuse de miel (2,5 %). L'absorbance est lue à 517 nm après 15 min d'incubation, Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = (\text{Absc} - \text{Abse} / \text{Absc}) \times 100$$

Absc: absorbance du contrôle (1 ml de solution DPPH + 0,5 ml d'éthanol).

Abse: absorbance de l'échantillon.

II.1.5.2. ABTS

C'est la méthode colorimétrique la plus répandue pour l'évaluation de la capacité antioxydante. La couleur bleu-vert d'ABTS est due à la formation des radicaux libres ABTS^+ après l'ajout du persulfate de potassium à la solution incolore d'ABTS qui ne contient pas de radicaux libres, La présence des donneurs d'électrons réduit le radical ABTS^+ en un radical ABTS incolore d'où la décoloration de la solution (Erel, 2004). Le test d'ABTS est effectué suivant la méthode rapportée par Re et al., (1999). Un volume de 1 ml de la solution ABTS (7 mM) est ajouté à 0,1 ml de la solution aqueuse de miel (2,5 %), 7 min après, l'absorbance est lue à 734 nm, Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(\text{Absc} - \text{Abse}) / \text{Absc}] \times 100$$

Absc: Absorbance du contrôle (1 ml de solution d'ABTS + 0,5 ml d'éthanol).

Abse: Absorbance de l'échantillon.

II.1. 6. Analyses statistiques

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de trois essais. Le programme Microsoft Office Excel 2007 a été utilisé pour calculer les moyennes et les écartypes. Le logiciel STATISTICA 5,5 a été utilisé pour l'étude de la variance à un seul critère de classification entre les différents échantillons de miel, Les corrélations entre les différents paramètres étudiés sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation.

Chapitre IV

Résultats et discussion

II.2. Résultats et discussion

II.2.1. Analyses Polliniques

La palynologie, étude qualitative et quantitative pour obtenir une caractérisation plus robuste des miels, est intensivement employée pour déterminer les origines géographiques et botaniques des miels. Elle est également employée pour évaluer les corrélations avec les paramètres climatiques (**Makhloufi et al., 2010**).

Les classes de fréquence des grains de pollen sont données comme pollen prédominant (>45 %), pollen secondaire (16 - 45 %), pollen mineur important (3 - 15 %) et pollen mineur d'occurrence (1 - 3 %) (**Ouchemoukh et al., 2007; Makhloufi et al., 2010**). Les résultats des analyses polliniques, récapitulés dans le tableau V, montrent que le pollen dominant est trouvé dans 3 échantillons de miel (miels monofloraux): M1 (Apiaceae), M4 et M5 (Fabaceae) ce qui reflète la diversité florale. Plusieurs autres études ont révélé l'existence des miels monofloraux dans le nord Algérien (**Ouchemoukh et al., 2007; Makhloufi et al., 2010**).

Tous les miels analysés présentent des pollens provenant de la famille botanique Fabaceae, ceci confirme la richesse de la région en cette famille de plantes. Les résultats de l'analyse pollinique des miels Turcs rapportés par **Can et al. (2015)** montrent une importante diversité florale.

La richesse du miel en pollen dépend essentiellement des conditions climatiques, du rapport plante-abeille, de la disponibilité et le diamètre du pollen, de la force de la colonie d'abeilles, de la localisation de la ruche, de la saison et du mode d'extraction du miel (**Makhloufi et al., 2010**).

Tableau V : Spectres polliniques et pourcentages de pollens des miels analysés

Echantillons	Origine florale	Pollens dominants (45%)	Pollens secondaires (16-44%)	Pollens minoritaires (3-15%)	Pollens très minoritaires <3%
M1	<i>Apiaceae</i>	<i>Apiaceae</i> 58%	<i>Fabaceae</i> 16%	<i>Poaceae</i> 6% <i>Asteraceae</i> 9% <i>Teliaceae</i> 8	<i>Boraginaceae</i> 2% <i>Cistaceae</i> 1%
M2	Polyflorale	/	<i>Poaceae</i> 39% <i>Ericaceae</i> 17%	<i>Fabaceae</i> 5% <i>Cistaceae</i> 11% <i>Fagaceae</i> 14% <i>Asteraceae</i> 3% <i>Rosaceae</i> 3% <i>Apocynaceae</i> 4%	<i>Lamiaceae</i> 2% <i>Apiaceae</i> 2%
M3	Polyflorale	/	<i>Fabaceae</i> 25 % <i>Apiaceae</i> 21%	<i>Plantaginaceae</i> 11 % <i>Eucalyptus</i> 08% <i>Bourraginaceae</i> 07 % <i>Rosaceae</i> 06 % <i>Ericacinera</i> 06% <i>Asteraceae</i> 06% <i>Poaceae</i> 04 % <i>Rutaceae</i> 04 %	<i>Rhamnaceae</i> 01% <i>Cucurbitaceae</i> 01%

M4	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i> 57%	/	<i>Liliaceae</i> 11 % <i>Asteraceae</i> 10 % <i>Myrtaceae</i> 08 % <i>Eucalyptus</i> 06 % <i>Rosaceae</i> 04 %	/
M5	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i> 45 %	<i>Apiaceae</i> 22%	<i>Rosaceae</i> 09% <i>Liliaceae</i> 07% <i>Asteraceae</i> 06%	<i>Bouraginaceae</i> 02% <i>Eucalyptus</i> 02%
M6	Polyflorale	/	<i>Ericaceae</i> 26% <i>Poaceae</i> 19%	<i>Apiaceae</i> 4% <i>Cistaceae</i> 10% <i>Gentianaceae</i> 15% <i>Asteraceae</i> 7% <i>Rosaceae</i> 12%	<i>Chenopodiaceae</i> 2% <i>Fabaceae</i> 1% <i>Nysaceae</i> 2% <i>Caprifoliaceae</i> 1% <i>Polygonaceae</i> 1%
M7	Polyflorale	/	<i>Apiaceae</i> 42 % <i>Fabaceae</i> 35%	<i>Rosaceae</i> 04 % <i>Asteraceae</i> 07% <i>Myrteceae</i> 03 % <i>Calunavulgaris</i> 05 %	<i>Ericacinera</i> 02 % <i>Liliaceae</i> 02 %

II.2.2. Résultats des analyses physico-chimiques

Tableau VI: Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés

Echantillons	Brix (%)	Humidité (%)	pH	CE (mS/cm)	HMF (mg/Kg)	Couleur MmPfund	Proline (mg/Kg)	Protéine (mg EBSA/100g)
M1	75,4 ± 0 ^e	22,65 ± 0,02 ^a	3,95 ± 0,03 ^e	1,51 ± 0,02 ^a	5,91 ± 2,17 ^d	375,77 ± 13,55 ^a	183,37 ± 2,16 ^d	63,85 ± 4,52 ^c
M2	77,4 ± 0 ^d	18,95 ± 0,23 ^c	4,05 ± 0 ^c	1,35 ± 0,12 ^b	154,19 ± 7,45 ^a	175,47 ± 1,87 ^c	181,21 ± 7,19 ^d	42,5 ± 0,13 ^f
M3	82,8 ± 0 ^b	15,2 ± 2,15*10 ⁻³ ^e	3,74 ± 0,01 ^f	1,03 ± 0,01 ^d	40,12 ± 0 ^c	106,14 ± 1,96 ^d	238,74 ± 33,17 ^{bc}	79,86 ± 5,81 ^b
M4	84,27 ± 0 ^a	13,87 ± 0,02 ^f	4,28 ± 0,01 ^a	0,84 ± 0,01 ^e	104,34 ± 5,71 ^b	99,58 ± 0,77 ^d	316,88 ± 9,58 ^a	53,36 ± 1,1 ^d
M5	82,23 ± 0,01 ^b	15,32 ± 0,24 ^e	3,52 ± 0,02 ^g	0,7 ± 0 ^f	9,98 ± 4,21 ^d	199,11 ± 0,85 ^b	293,39 ± 40,27 ^{ab}	112,1 ± 9,4 ^a
M6	77,33 ± 0,0006 ^d	19,69 ± 0,23 ^b	4,03 ± 0,01 ^d	1,19 ± 0,01 ^c	15,82 ± 3,42 ^d	170,4 ± 1,29 ^c	228,67 ± 18,7 ^c	65,26 ± 13,74 ^{bcd}
M7	80,2 ± 0,002 ^c	17,51 ± 0,16 ^d	4,07 ± 0 ^b	1,03 ± 0 ^d	16,92 ± 1,50 ^d	52,41 ± 1,83 ^e	227,95 ± 0,72 ^c	49 ± 0,06 ^e

II.2.2.1. Humidité

La teneur en eau est un facteur hautement important qui permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur sa stabilité contre la fermentation (Terrab *et al.*, 2003 ; De Rodriguez *et al.*, 2004), cela indique la conservation la plus importante du miel car elle est étroitement liée à sa qualité, sa viscosité, sa cristallisation, sa fermentation et à sa saveur, (Nombre *et al.*, 2010).

Les résultats de l'humidité des échantillons du miel sont rapportés dans la figure 11.

Les valeurs de l'humidité des échantillons sont dans l'intervalle de $13,86 \pm 0,02$ % (M4) à $19,69 \pm 0,23$ % (M6) avec un indice de réfraction de 1,5023 à 1,4875 respectivement, La majorité des résultats obtenus présentent une différence significative à l'exception des échantillons suivants : M1, M2, M4, M6 et M7 ; pour les miel M3 et M5 aucune différence significative n'est enregistrée entre eux ($p < 0,05$).

Ces valeurs obtenues sont inférieures à la norme décrite par le **codex alimentaire (2001)** qui est de 20 %, indiquant ainsi un bon degré de maturité et la bonne conservation, elles sont aussi similaires à ceux cités par **Habib *et al.*, (2014)** (13,63 à 20,60 %) et **Makhloufi *et al.*, (2010)** (13,9 à 20,2 %).

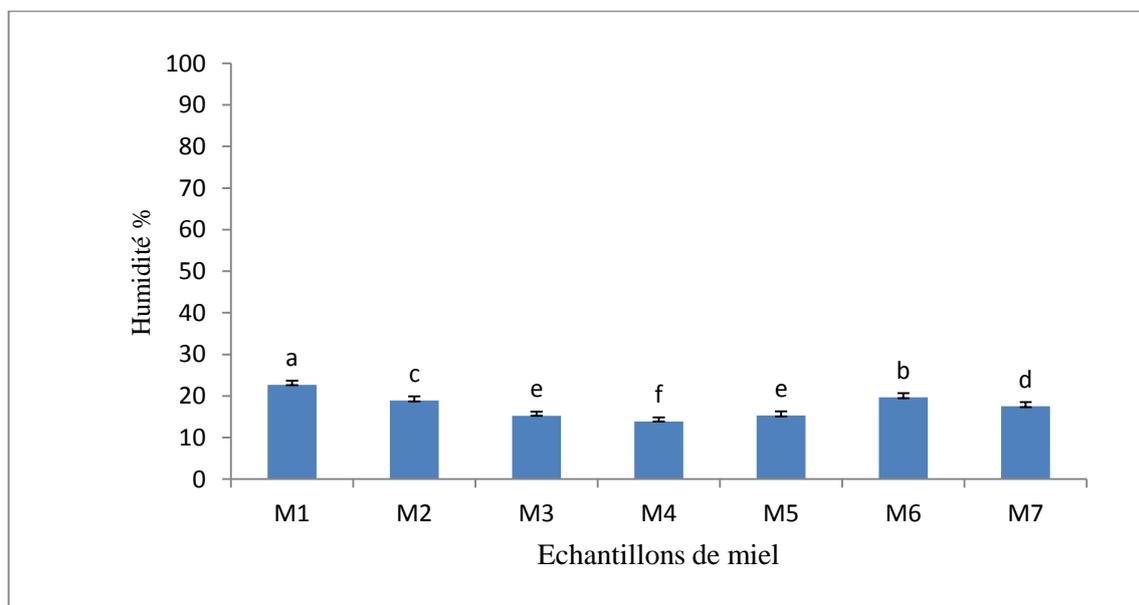


Figure 11 : La teneur en eau des échantillons de miel analysés.
Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

La différence significative de l'humidité des miels est expliquée par différentes conditions environnementales (climat, saison), l'origine florale, la teneur en eau des nectars, la force des colonies d'abeilles, les techniques de traitement, les conditions de stockage et à la compétence de l'apiculteur (**Bogdanov et al., 2004; Doukani et al., 2014; Belhaj et al., 2015**). Par contre, les valeurs rapprochées de l'humidité sont peut-être dues à l'origine géographique des miels (**Bogdanov et al., 2004**).

II.2.2.2. Brix

Le degré Brix ou pourcentage de matière sèche indique la quantité de sucres contenue dans miel. Selon les résultats il varie entre $77,33 \pm 0,005$ (M6) à $84,27 \pm 0,001$ % (M4). Ces valeurs sont en relation inverse avec la teneur en eau (**Conti et al., 2014**).

Les pourcentages de brix des échantillons du miel sont rapportés dans la figure 12. Les résultats obtenus sont en accord avec celles fixées par le **Codex Alimentaire (2001)** et supérieures de celles obtenues par **Karaman et al. (2011)** (76 - 81,5 %) sur les miels Turque et celles de **Habib et al. (2014)** sur l'étude des miels des régions arides (79 % à 84,1 %).

Aucune différence significative n'est enregistrée entre les échantillons de miel suivants : (M3, M5) et (M2, M6), mais pour M1, M4, M7 il existe une différence significative entre eux ($p < 0,05$).

Pour le miel M1 la quantité de sucre faible avec 75,44% signifie que le pourcentage de la matière sèche des échantillons analysés peuvent être contribués par la conversion des sucres en acides inorganiques ou la conversion du glucose en acides gluconiques (**Moniruzzaman et al., 2013**).

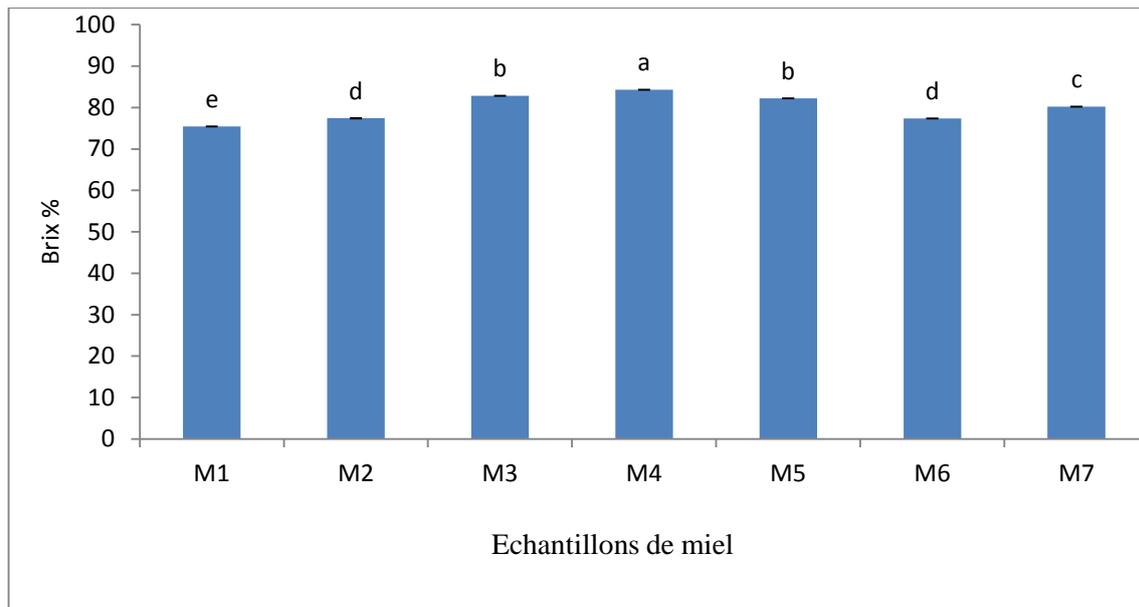


Figure 12 : Pourcentage de brix des échantillons de miels analysés.

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

II.2.2.3. pH

Le pH ou potentiel d'hydrogène est défini comme le cologarithme de la concentration en ion H^+ dans une solution. Pour le miel c'est un indice de réactivité acide du produit (Vanhanen et al., 2011).

Les valeurs de pH des échantillons des miels analysés varient entre $3,52 \pm 0,02$ (M5) à $4,28 \pm 0,01$ (M4). Elles sont en accord avec les recommandations du **Codex alimentaire (2001)**, ce qui confirme le caractère acide de ces échantillons.

Les résultats du pH des échantillons du miel sont rapportés dans la figure 13 montrant la présence d'une différence significative entre tous les échantillons : M1, M2, M3, M4, M5, M6 et M7 ($p < 0,05$). La variation est due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille, aux conditions de récolte ou de conservation et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (Belhaj et al., 2015).

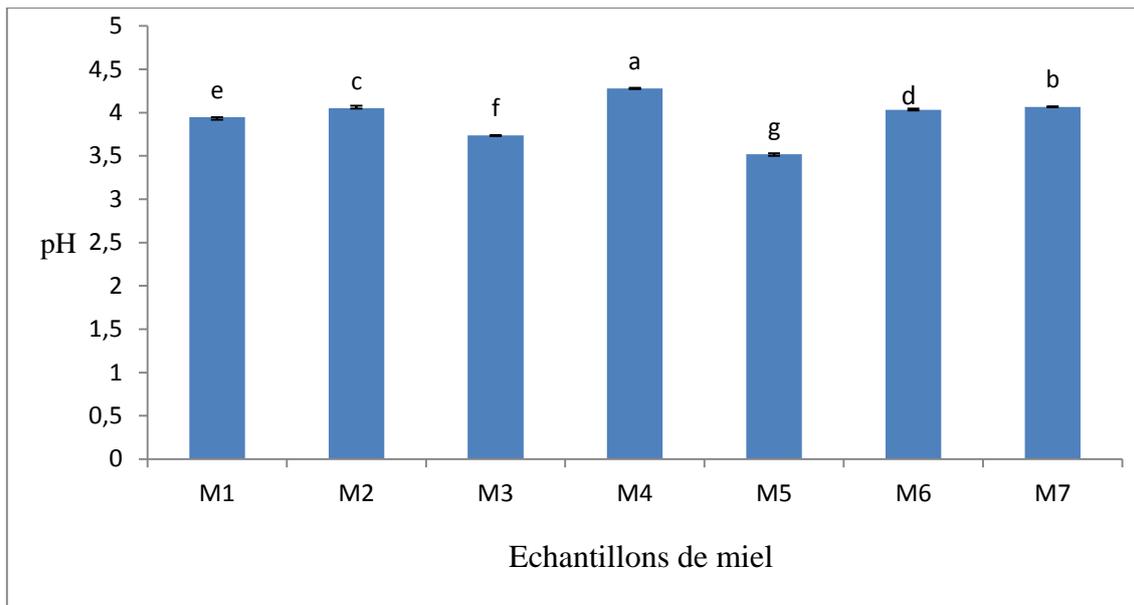


Figure 13 : pH des échantillons de miel analysés

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

II.2.2.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique exprime l'aptitude d'une solution aqueuse à conduire un courant électrique. La conductivité électrique du miel est liée à la teneur en cendres et à l'acidité, indiquant la présence des ions, des acides organiques et des protéines (**Doukani et al., 2014; Missio da Silva et al., 2016**).

Les miels de nectar ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et les miels de miellat possèdent une conductivité électrique supérieure à 0,8 mS/cm (**Lequet, 2010**).

La teneur de la conductivité électrique des miels analysés est comprise entre $0,70 \pm 0,00$ (M5) à $1,51 \pm 0,02$ mS/cm (M1). Selon les recommandations du **Codex Alimentaire (2001)**, les valeurs obtenues présentent une différence significative entre les miels suivant : M1, M2, M4, M5 et M6 ; pour le M3 et M7 aucune différence significative n'est enregistrée entre eux ($p < 0,05$).

La figure 14 représente les résultats de la conductivité électrique des échantillons, pour M1, M2, M3, M4, M6 et M7 elle dépasse 0,8 mS / cm, ce qui suggère la présence de miellat dans les miels cités et la présence de nectar dans l'échantillon M5.

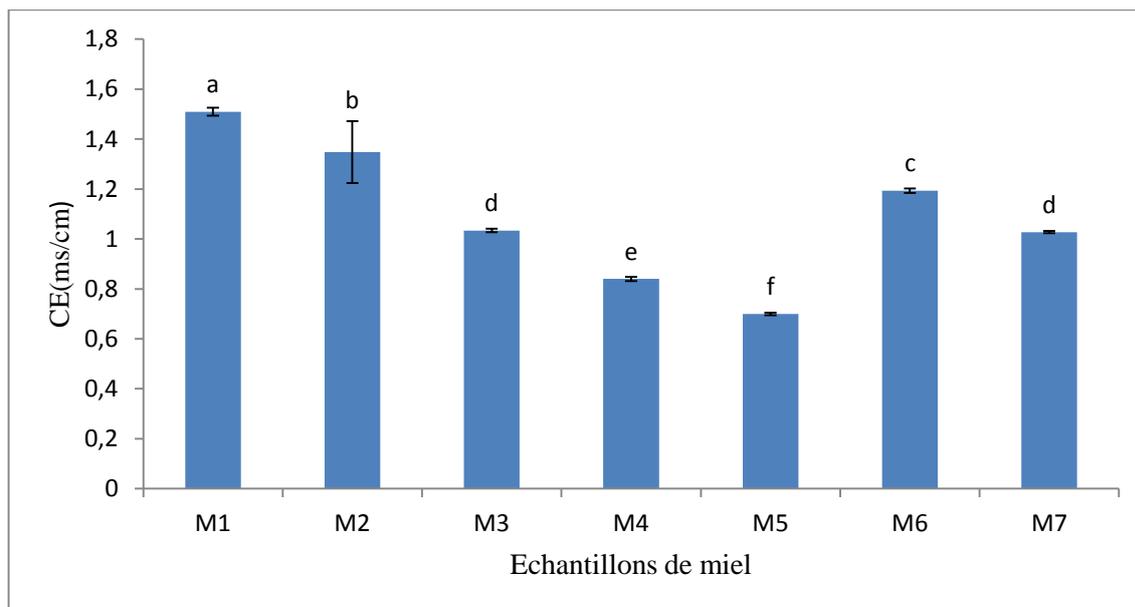


Figure 14 : Conductivité électrique des échantillons de miel

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

II.2.2.5. Hydroxyméthyl furfural (HMF)

L'hydroxyméthyl furfural est un composé chimique issu de la dégradation du fructose et le miel brut ne contient pas pratiquement ce produit. Cependant, sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH et du chauffage prolongé des miels (**Khalil et al., 2012**).

L'analyse des échantillons de miel révèle des teneurs en HMF qui sont situées entre 05,91 (M1) et 154,19 mg / kg (M2). Les résultats montrent qu'il y a une différence significative entre M2, M3 et M4 ; pour les miels M1, M5, M6 et M7 aucune différences significatives a été enregistrée ($p < 0,05$).

Les recommandations de l'**Union Européenne (2002)** fixent un maximum de 40 mg d'HMF/kg de miel, des valeurs supérieures sont révélatrices de la perte de qualité du miel.

D'après la figure 15, les résultats montrent qu'il existe 2 miels qui ne répondent pas à la limite maximale du taux d'HMF, il s'agit du miel M2 ($154,12 \pm 7,19$ mg/kg) et M4 ($104,34 \pm 5,71$ mg/kg), Ceci pourrait s'expliquer par le chauffage des miels, la nature et la concentration des sucres présents ou par la température de leur stockage, Les autres miels possèdent des valeurs d'HMF conformes aux normes fixées par le **Codex Alimentaire (2001)**, ce qui témoigne que ces miels sont frais et de bonne qualité.

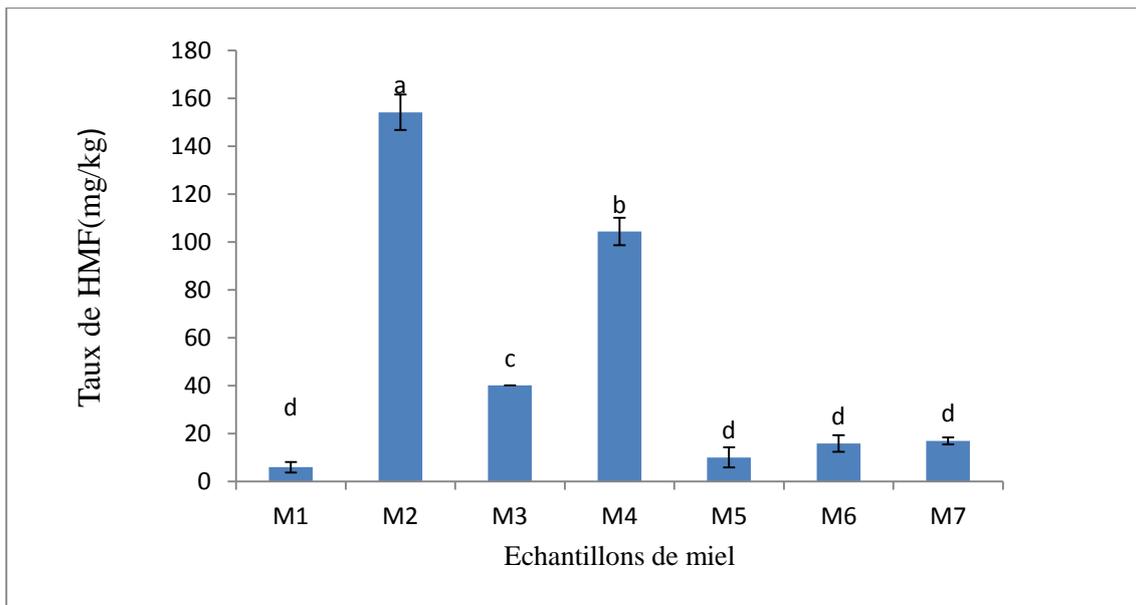


Figure 15 : Teneurs en HMF des miels analysés,

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

II.2.2.6. Couleur

La couleur du miel est un facteur qui détermine son acceptabilité par le consommateur, elle varie généralement du jaune clair à ambre foncé, et dans des cas extrêmes, certains miels peuvent avoir une teinte noir, selon **ElSohaimy et al.(2015)**.

L'intensité de la couleur est liée à la présence de pigments, tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes, qui sont connus pour avoir des propriétés antioxydantes (**Khalil et al., 2012**).

Les résultats obtenus pour ce paramètre varient de $52,41 \pm 1,83$ (M7) à $375,77 \pm 13,55$ (M01). Cette variation de la couleur est attribuée à l'origine florale, la température et durée de conservation du miel (**Bertoncelj et al., 2007**). La figure 16 montre les absorbances des échantillons de miel pour la couleur à une longueur d'onde de 635 nm. Les miels M1, M5 et M6 présentent une différences significative tandis que les miels M2,M6 et M3,M4 aucune différences significative a était enregistrée ($p < 0,05$).

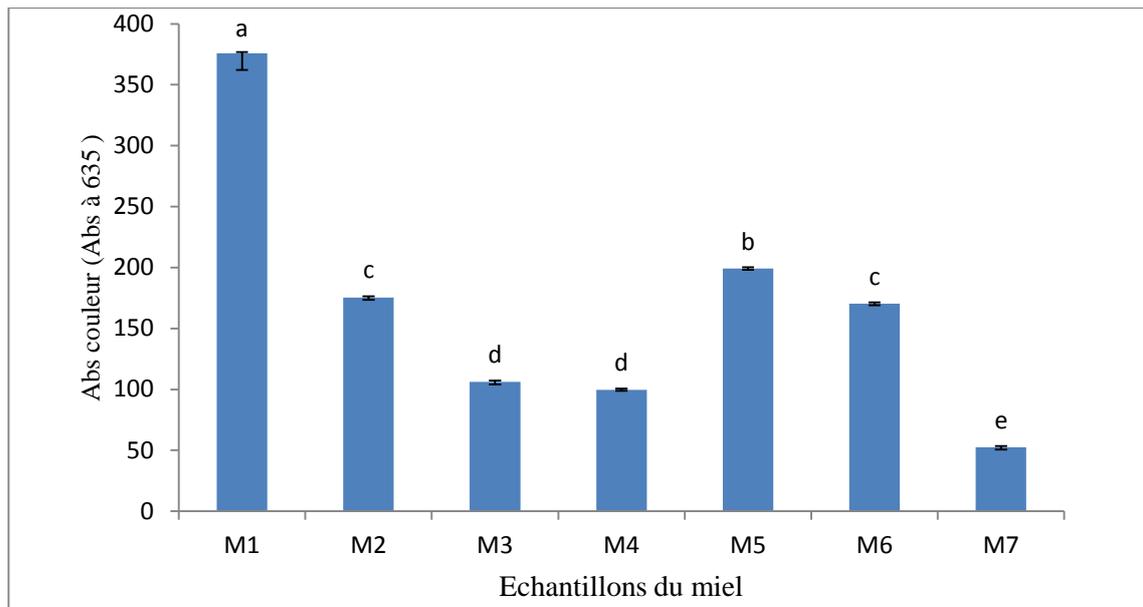


Figure 16 : Absorbance Couleur des miels analysés

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

II.2.2.7. Proline

La proline est l'acide aminé le plus abondant dans le miel, utilisé comme un standard pour quantifier la teneur en acides aminés (Alisi *et al.*, 2012). Il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière lors de la conversion du nectar et/ou miellat en miel. Il tire son origine du pollen que l'abeille butine (Truzzi *et al.*, 2014 ; Ouchemoukh, 2012). Et sa proportion est un facteur de maturité et un indice d'adultération du miel (Djossou *et al.*, 2013).

Le taux de la proline des échantillons du miel analysés montré dans la figure 17 qu'il varie de 181,21 (M1) à 316,88 (M4) mg / kg. Les résultats montrent aucune différence significative entre les miels suivant : M1 et M2 ; M4 et M5 ; M3 et M5 ; M6, M7 et M3 ($p < 0,05$).

Ces valeurs sont supérieures à 180 mg / kg, limite minimale pour les miels authentiques (Bogdanov *et al.*, 1999), ce qui confirme que les échantillons sont mûrs. Selon Wu *et al.* (2003), la proline provient majoritairement des sécrétions salivaires des abeilles.

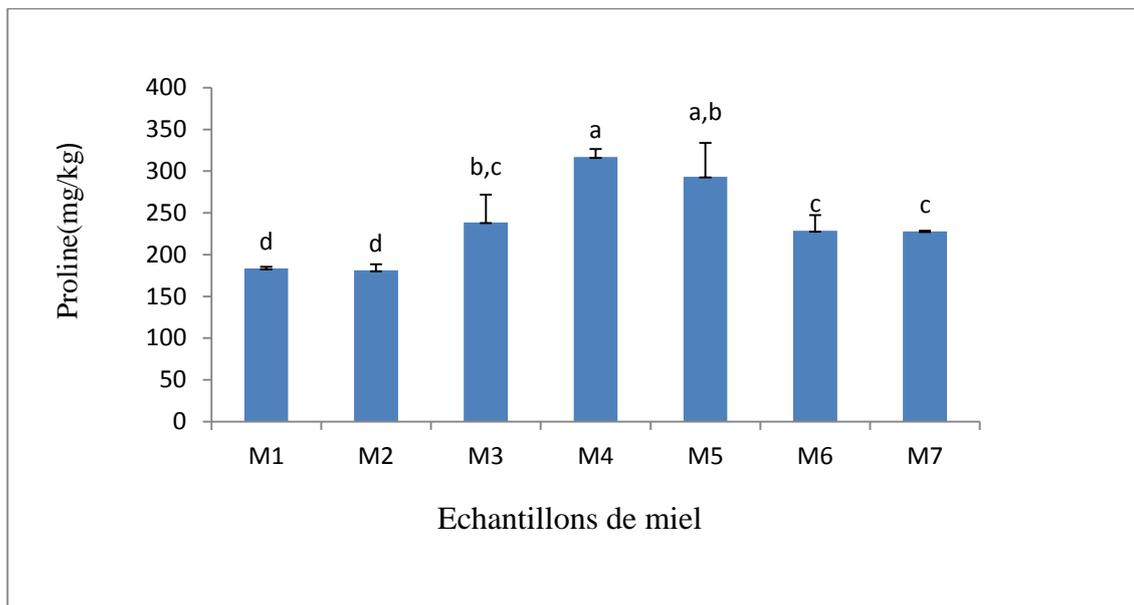


Figure 17 : La teneur en proline des échantillons de miel analysés, Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$),

II.2.2.8. Protéine

La figure 18 représente les résultats du taux de protéines déterminés dans les miels étudiés.

Les teneurs en protéines des miels analysés varient de $42,50 \pm 0,13$ à $112,10 \pm 9,4$ mg EBSA/100g pour les miels M2 et M5, respectivement. Des résultats similaires sont rapportés par **Yucel et Sultanoglu** en 2013 ; (13 à 115 mg EBSA / 100 g).

La majorité des résultats obtenus présentent une différence significative. Le miel M6 ne présente pas de différences significatives avec les miels M3, M1 et M4 ($p < 0,05$).

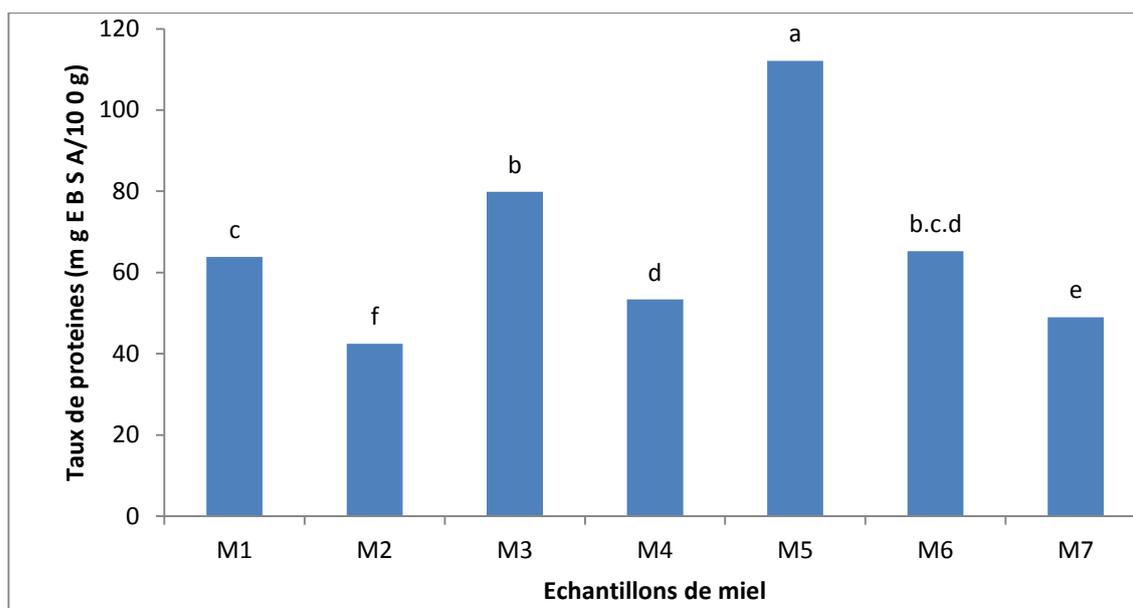


Figure 18 : La teneur en protéine des échantillons de miel analysés. Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

II.2.3. Antioxydants et activités antioxydantes

Tableau VII : Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés

Echantillons	CPT (mg EAG/100g)	Flavonoïdes (mg EC/100mg)	DPPH (%)	ABTS (%)
M1	155,31 ± 8,11 ^a	13,33 ± 0,50 ^a	51,7 ± 0,078 ^b	70,03 ± 0,31 ^a
M2	144,25 ± 12,37 ^a	6,59 ± 0,06 ^b	77,79 ± 0,019 ^a	74,92 ± 3,37 ^a
M3	102,83 ± 6,05 ^b	6,91 ± 2,25 ^b	54,09 ± 0,172 ^{bc}	74,01 ± 0,31 ^a
M4	87,45 ± 2,58 ^c	6,59 ± 1,41 ^b	45,02 ± 0,051 ^c	54,43 ± 10,40 ^C
M5	67,85 ± 6,67 ^d	6,26 ± 0,24 ^b	38,29 ± 0,095 ^c	26,91 ± 7,65 ^e
M6	161,34 ± 6,52 ^a	6,82 ± 0,74 ^b	73,39 ± 0,095 ^{abc}	74,52 ± 2,60 ^a
M7	61,92 ± 7,92 ^d	6,84 ± 0,95 ^b	61,42 ± 0,034 ^{bc}	39,04 ± 0,17 ^d

II.2.3.1. Teneurs en antioxydants

II.2.3.1.1. Teneurs en composés phénoliques totaux

Le taux de polyphénols totaux, exprimé en mg EAG/100 g, a été déterminé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. Les résultats des composés phénoliques obtenus sont représentés dans la figure 19.

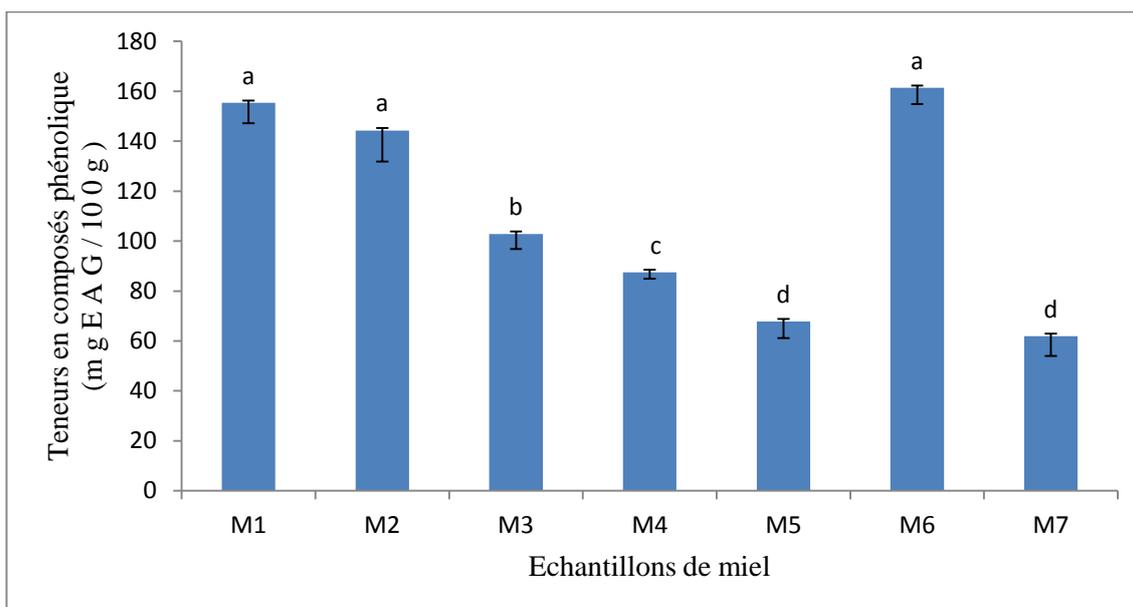


Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés.

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

Les teneurs en composés phénoliques des miels analysés oscillent de $61,92 \pm 7,92$ mg EAG/100g (M7) à $161,34 \pm 6,52$ mg EAG/100g (M6). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par **Tania et al. (2013)** sur les miels de Jandaria (80,2-166,1 mg EAG/100 g) et **Islam et al. (2012)** sur les miels de Bangladesh (15,24-68,85 mg EAG/100 g).

D'après des études publiées (**Alvarez-Suarez et al., 2010**) ; (**Sarmento Silva et al., 2013** et **Boussaid et al., 2014**), la variation des teneurs en polyphénols totaux pourraient être dû à la localisation géographique des différentes sources florales, étant donné que la source principale de ces composés est le nectar et les sécrétions végétales, (**Meda et al., 2005**) ont noté que les miels de miellat ont des concentrations plus élevées en ces composés par rapport aux autres types des miels.

La figure 19 montre que les échantillons M1, M2, M6 ainsi que les miels M5 et M7 ne possèdent pas des différences significatives entre eux, ($p < 0,05$), par contre l'inverse est observé entre les miels M3 et M4.

II.2.3.1.2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes des produits de la ruche étudiés sont enregistrés sur la figure 20 avec des différences significatives ($p < 0,05$).

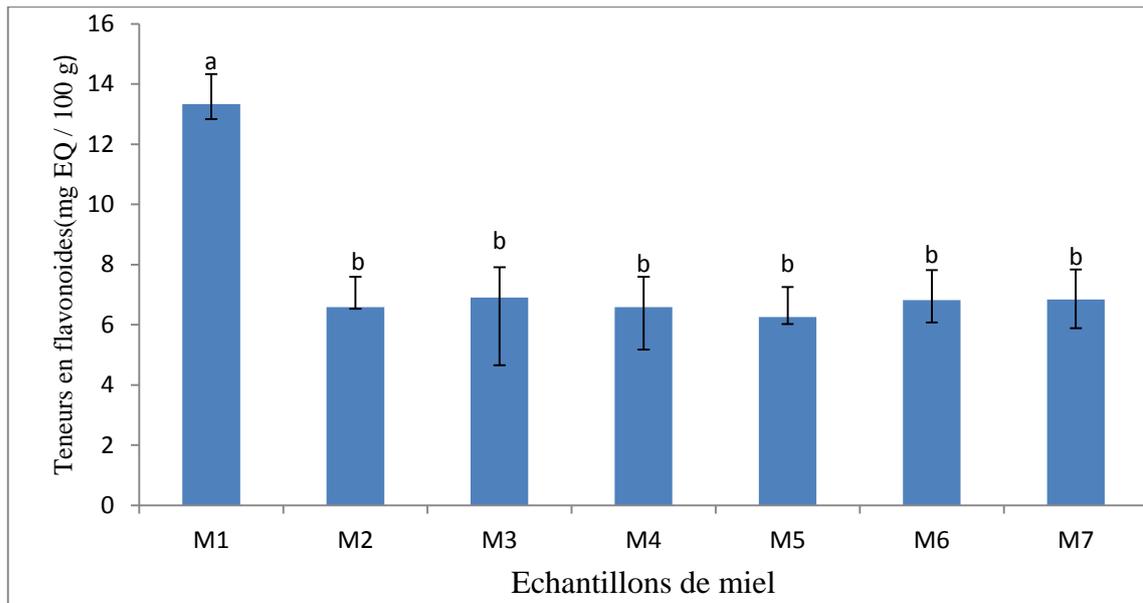


Figure 20 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés,
, Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

La teneur en flavonoïdes des différents miels analysés est comprise entre $6,26 \pm 0,24$ (M5) et $13,33 \pm 0,5$ mg EQ /100 g (M1) (figure 20). Le miel M1 est considéré comme le plus riche en flavonoïdes qui présente une différence significative ($p < 0,05$) avec les autres échantillons. Les miels M2, M3, M4, M5, M6 et M7 ne présentent pas une différence significative. Ceci peut être expliqué par leurs origines botaniques.

Par ailleurs nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Habati et al. (2017)** qui ont étudié des miels de la région centrale de l'Algérie (12,57 à 58,75 mg EQ /100g) et sont différents de ceux obtenus par **Kishore et al. (2011)** qui ont obtenus des teneurs entre 24,74 à 50,45 mg EQ / 100 g pour les miels de Malaisie.

II.2.3.2. Activités antioxydantes

II.2.3.2.1. Activité inhibitrice de peroxydation lipidique

Nous avons montré la formation de TBARS dans le plasma sanguin suite à l'oxydation des lipoprotéines qui existe dans le plasma sanguin incubé à 95 C° en présence de TBA et que les solutions du miel ajoutées inhibent la formation de TBARS ce qui empêche la production de MDA qui est le produit final de la peroxydation lipidique.

Tableau VIII : Résultats de l'activité inhibitrice de peroxydation lipidique.

Activité inhibitrice de peroxydation lipidique (%)					
	Individu N°1	Individu N°2	Individu N°3	Individu N°4	MOYENNE
Vitamine C	76,34±1,89 ^{Ac}	46,65±7,84 ^{Bb}	57,04±5,98 ^{Bc}	74,02±5,78 ^{Ab}	63,51±5,37 ^c
M1	88,8±1,34 ^{Aa}	82,23±5,12 ^{Ba}	88,57±3,81 ^{ABa}	80,99±3,11 ^{Ba}	84,01±4,20 ^b
M2	84,08±1,94 ^{Ab}	86,75±4,82 ^{Aa}	87,07±6,24 ^{Aab}	90,12±8,57 ^{Aa}	87,01±2,47 ^{ab}
M3	86,76±3,72 ^{Aab}	79,22±2,11 ^{Ba}	83,72±2,20 ^{Aab}	73,42±1,96 ^{Cb}	80,78±5,80 ^{ab}
M4	36,87±3,03 ^{Bed}	30,57±5,58 ^{BCc}	34,44±2,00 ^{Bde}	45,78±0,91 ^{Abc}	36,92±6,45 ^f
M5	47,92±6,25 ^{ABed}	40,96±6,03 ^{Bbc}	40,77±0,33 ^{ABd}	50,90±3,89 ^{Abc}	46,59±5,10 ^{ef}
M6	44,35±0,3 ^{Ad}	41,37±3,82 ^{Ab}	45,09±3,99 ^{Ade}	48,11±4,42 ^{Abc}	44,73±2,77 ^{de}
M7	32,14±10,12 ^{Be}	43,67±6,33 ^{ABb}	39,81±2,46 ^{ABf}	44,95±2,53 ^{Ab}	40,14±5,77 ^{de}

◆ Les résultats de l'individu N°1 sont rapportés dans la figure 21, le pourcentage d'inhibition de peroxydation lipidique des échantillons du miel est dans l'intervalle de $32,14 \pm 10,12$ (M7) et $88,8 \pm 1,34$ (M1).

Les valeurs obtenues qui portent des lettres minuscules différentes indiquent des différences significatives.

La majorité des échantillons obtenus ne présentent pas une différence significative ($P < 0,05$).

Les valeurs obtenus pour les échantillons du miel M1, M2 et M3 par rapport aux 4 individus sont supérieurs à celle de la vitamine C qui est un puissant antioxydant. Pour le reste des échantillons de miel les pourcentages d'inhibition enregistrés sont inférieurs à celui de la vitamine C mais une activité anti-oxydante considérable a été enregistrée avec des pourcentages d'inhibitions de peroxydation lipidique qui varient entre 32,14 et 47,92% grâce à l'effet antioxydant du miel.

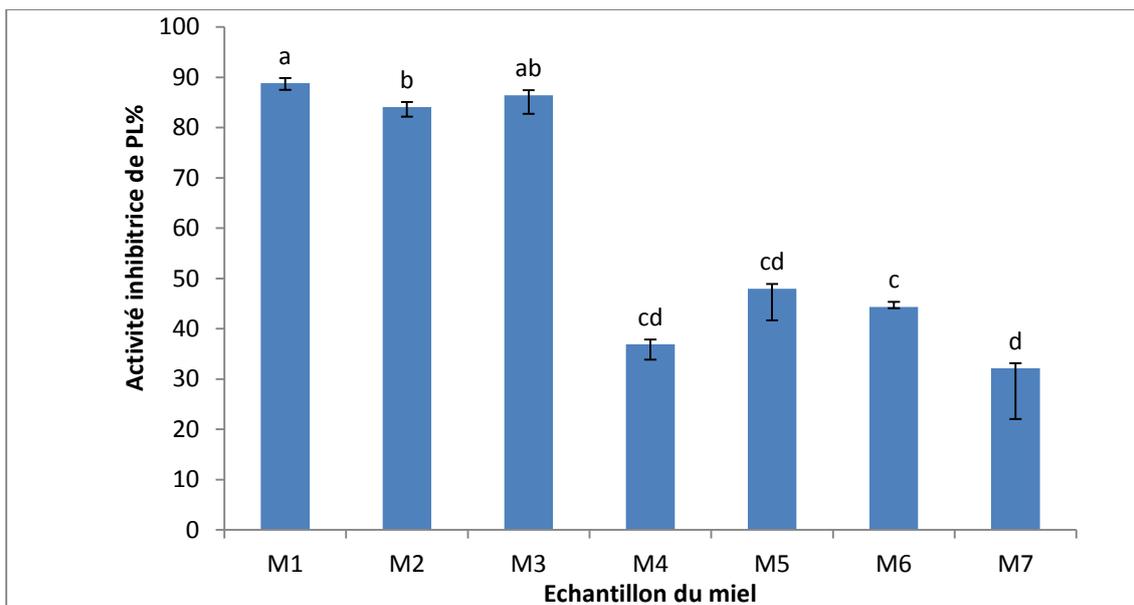


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N°1

◆ Les résultats de l'individu N°2 sont rapportés dans la figure 22, le pourcentage d'inhibition de peroxydation lipidique des échantillons du miel est dans l'intervalle de $30,57 \pm 5,58$ (M4) et $86,75 \pm 4,82$ (M2).

Les valeurs qui portent des lettres différentes minuscule et majuscule indiquent des différences significatives.

La majorité des échantillons obtenus ne présentent pas une différence significative à l'exception de M4, ($P < 0,05$).

Les valeurs obtenues pour les échantillons M1, M2 et M3 sont proches entre eux ce qui signifie qu'ils ont presque la même activité anti-oxydante et qui montre aussi la possibilité que les 3 échantillons de miels ont la même source florale ce qui leur donne la même composition chimique alors presque le même effet antioxydant (teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes).

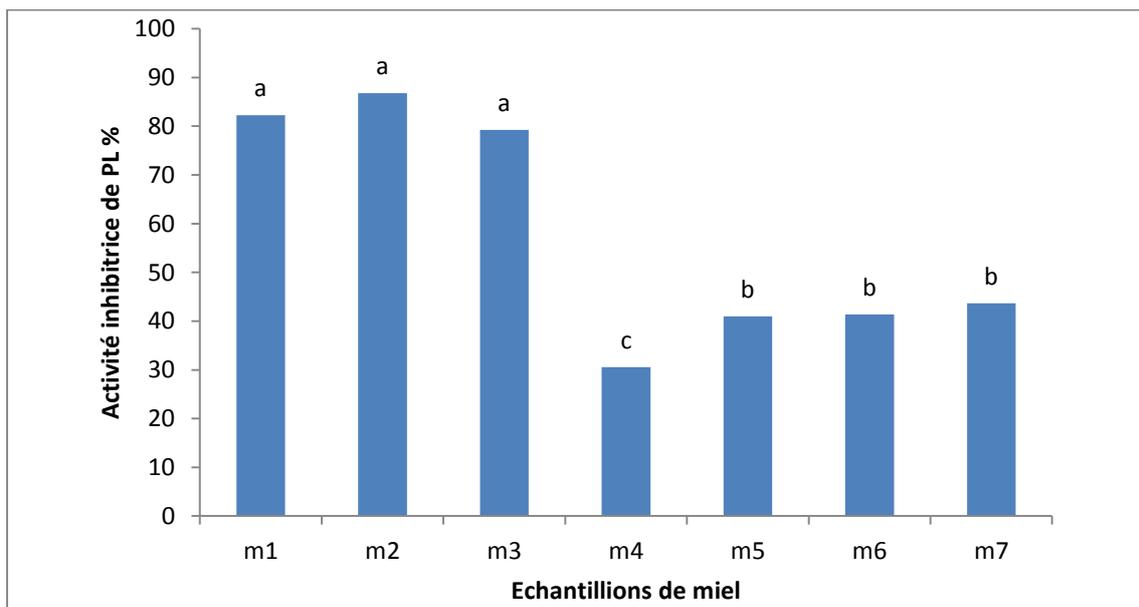


Figure 22 : Pourcentages d'inhibition enregistrés pour l'individu N°2

◆ Les résultats de l'individu N°3 sont rapportés dans la figure 23, le pourcentage d'inhibition de peroxydation lipidique des échantillons du miel est dans l'intervalle $34,44 \pm 2,00$ (M4) et $88,57 \pm 3,81$ (M1),

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives.

La majorité des échantillons obtenus ne présentent pas une différence significative ($P < 0,05$).

Les valeurs les plus élevées sont toujours enregistrées pour les miels 1,2 et 3 ce qui signifie qu'ils sont plus riches en antioxydants. Le reste des échantillons ont montré des activités antioxydantes importantes en enregistrant des valeurs proches à celles obtenues en utilisant la vitamine C comme antioxydant pour inhiber la peroxydation lipidique.

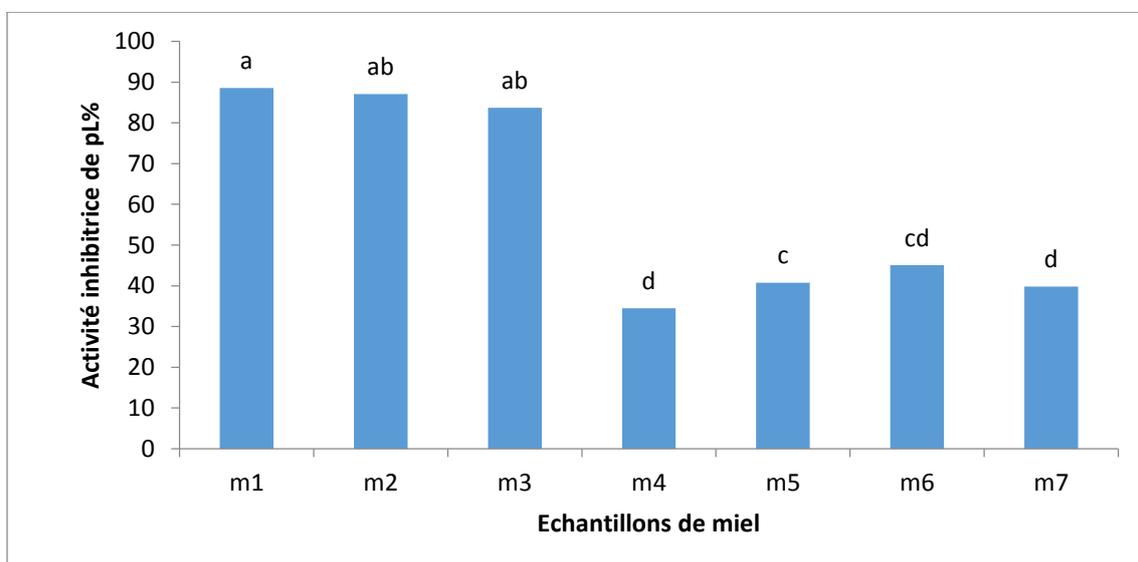


Figure N° 23 : Pourcentage d'inhibition enregistrée pour l'individu N°3

◆ Les résultats de l'individu N°4 sont rapportés dans la figure 24, le pourcentage d'inhibition de peroxydation lipidique des échantillons du miel sont dans l'intervalle $44,95 \pm 2,53$ (M7) et $90,12 \pm 8,57$ (M2),

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives.

La majorité des échantillons obtenus ne présentent pas une différence significative à l'exception de M3 ($P < 0,05$).

Pour l'individu 4, les valeurs les plus grandes sont aussi enregistrées pour M1, M2 et M3, ce qui nous permet de dire que l'activité inhibitrice de peroxydation lipidique des sept échantillons de miel ne dépend pas des individus et cette activité antioxydante agit de la même façon quel que soit l'individu.

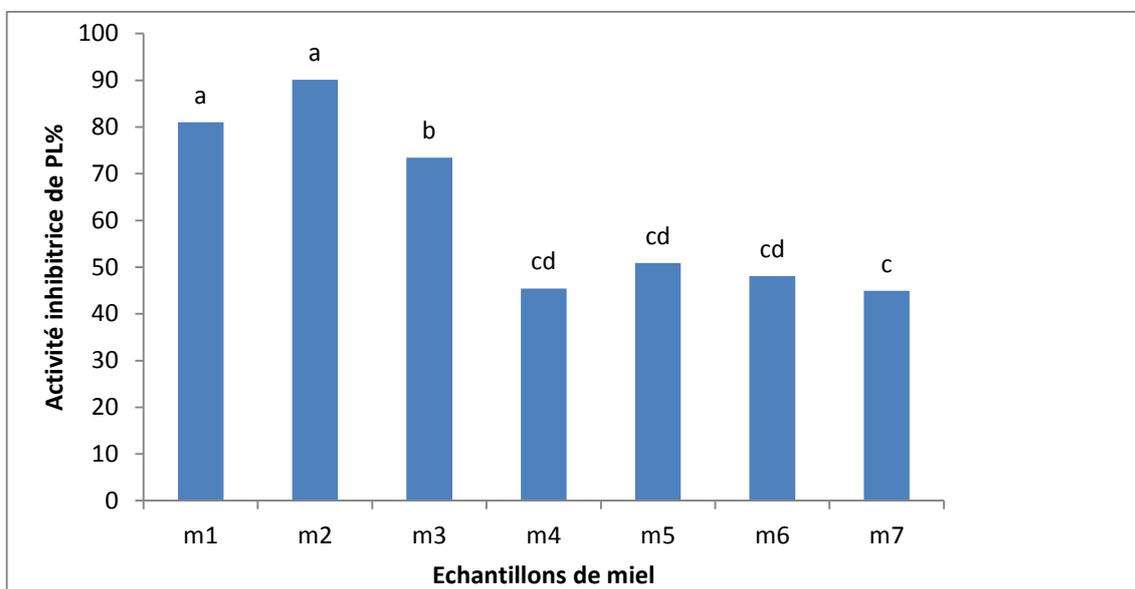


Figure N° 24 : Pourcentage d'inhibition enregistrée pour l'individu N° 4

II.2.3.2.2. Activités antiradicalaires

a. Pouvoir scavenger du radical DPPH

Le radical de DPPH (2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyle) est l'une des molécules les plus utilisées pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical et simplicité d'analyse (**Doukani et al., 2014**).

Les résultats obtenus varient entre $38,29 \pm 0,095$ % (M5) et $77,79 \pm 0,019$ % (M2). Les résultats d'échantillons étudiés sont différents de ceux de **Ferreira et al. (2009)** sur les miels Portugais (8,4% à 16,9%) ; ils sont proches de ceux rapportés ainsi que **Noor et al. (2014)** sur les miels de Pakistan (30,5%-77,43%).

De point de vue statistique il n'y a pas une différence significative ($p < 0,05$) entre les échantillons de miels suivants (M2, M6) ; (M1, M3, M6, M7) et (M4, M5, M7, M6, M3).

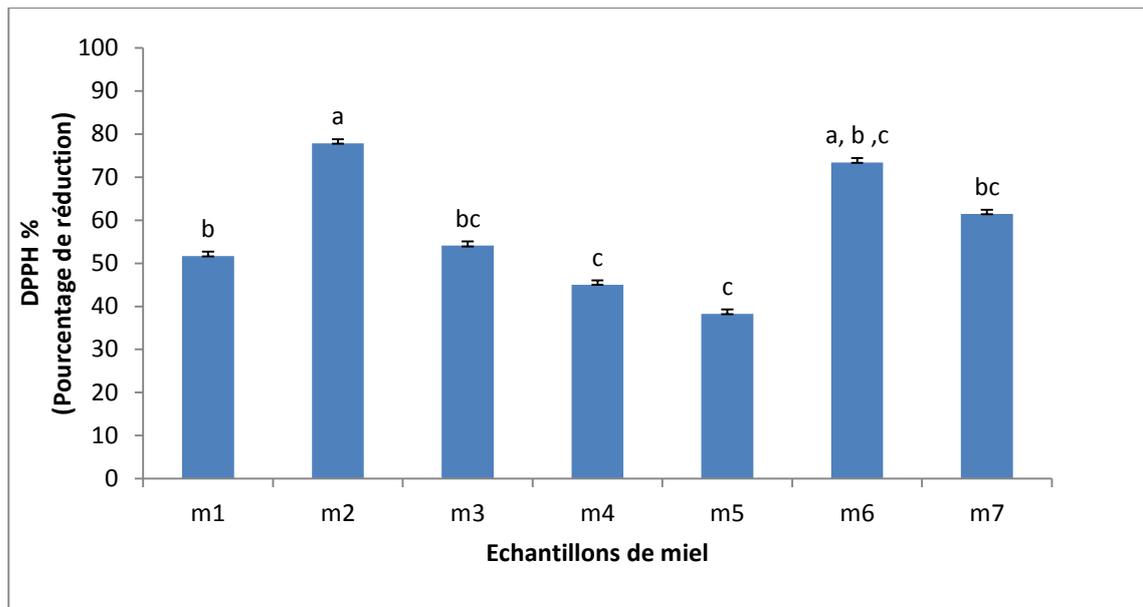


Figure 25 : Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés.

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

b. Pouvoir scavenger du radical ABTS

L'activité anti radicalaire par l'ABTS est une autre méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique ABTS⁺ et le réduire en sa forme neutre ABTS (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010).

Les échantillons de miels analysés présentent une activité anti radicalaire par l'ABTS varie entre $39,04 \pm 0,17$ % (M7) et $74,92 \pm 3,37$ % (M2) représentés dans la figure 26. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par **Habib et al.**(2014) sur les miels orientaux (65,25 à 80,62 %) et sont aussi compris dans l'intervalle obtenu par **Wilczynska** (2014)(6 à 79%) sur les miels de Pologne.

Ces différences sont attribuées aux origines botaniques, à la présence de maints agents antioxydants tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les vitamines C et E (AlMamary *et al.*, 2002). Les échantillons de miels M2, M3 et M6 possèdent une activité antiradicalaire similaire même s'ils sont récoltés dans différentes régions géographiques, les miels M1, M4, M5 et M7 présente une différence significative ($p < 0,05$).

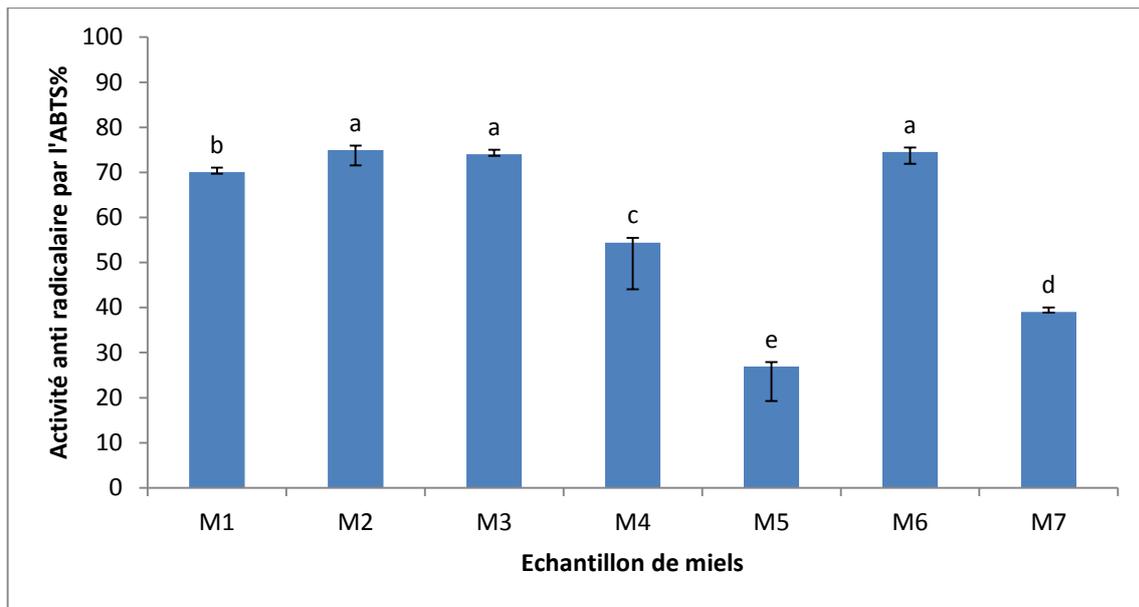


Figure 26 : Pouvoir scavenger du radical ABTS des miels analysés

Les valeurs qui portent des lettres différentes indiquent des différences significatives, ($p < 0,05$)

II.2.4. Corrélations et analyses multivariées

II.2.4.1. Corrélations

Les résultats de la matrice de corrélations représentés dans le tableau 9 montrent des corrélations très hautement significatives entre le brix et l'humidité ($r = -0,97$), la conductivité électrique ($r = -0,83$) et la proline ($r = 0,75$). Le test de corrélations montre également un lien entre l'humidité et les autres paramètres physicochimiques à l'exception de pH, HMF et protéines.

Le tableau 9 indique des corrélations très hautement significatives entre les composés phénoliques et l'ABTS ($r = 0,73$) et des corrélations hautement significatives entre les composés phénoliques et les flavonoïdes ($r = 0,48$), les composés phénoliques et le DPPH ($r = 0,51$), les flavonoïdes et le DPPH ($r = 0,51$) et les flavonoïdes et l'ABTS ($r = 0,45$). Ces coefficients sont inférieurs à ceux obtenus par **Otmani et al. (2021)** pour les composés phénoliques et les flavonoïdes ($r = 0,80$) et les composés phénoliques et le DPPH ($r = 0,76$) et par **Zaidi et al. (2019)** entre les flavonoïdes et le DPPH ($r = 0,80$) et les flavonoïdes et l'ABTS ($r = 0,79$). Cependant, **Otmani et al. (2022)** ont obtenu des corrélations très significatives entre les composés phénoliques et l'ABTS ($r = 0,86$).

Une relation significative est également observée entre la couleur et les composés phénoliques ($r=0,50$) et la couleur et les flavonoïdes ($r=0,50$). Des résultats similaires sur la relation entre la couleur et les composés phénoliques d'une part et la couleur et les flavonoïdes d'autre part et sont rapportés par **Otmani et al. (2021)** pour les miels Algérien avec des coefficients de corrélation de 0,88 et de 0,93, respectivement, **Beretta et al. (2005)** ont rapporté que les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des miels foncés sont plus élevées que celles des miels clairs.

Les résultats obtenus montrent également une bonne corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique ($r=0,51$).

Tableau IX : Corrélations entre les paramètres physicochimiques, les activités antioxydantes et la peroxydation lipidique,

Variable	Brix	Humidité	CE	pH	Couleur	HMF	Protéines	Proline	CPT	Flavo	DPPH	ABTS	PL
Brix	1,00												
Humidité	-0,97	1,00											
CE	-0,83	0,83	1,00										
pH	0,12	-0,13	0,02	1,00									
Couleur	-0,55	0,51	0,40	-0,63	1,00								
HMF	0,37	-0,39	-0,03	0,54	-0,47	1,00							
Protéines	0,26	-0,22	-0,37	-0,80	0,34	-0,54	1,00						
Proline	0,75	-0,74	-0,87	0,03	-0,36	-0,01	0,44	1,00					
CPT	-0,66	0,70	0,78	-0,11	0,50	-0,03	-0,07	-0,52	1,00				
Flavo	-0,50	0,50	0,34	-0,35	0,50	-0,05	-0,02	-0,34	0,48	1,00			
DPPH	-0,51	0,54	0,56	0,32	-0,08	0,34	-0,56	-0,49	0,51	0,51	1,00		
ABTS	-0,38	0,40	0,62	-0,10	0,18	0,29	-0,14	-0,49	0,73	0,45	0,62	1,00	
PL	-0,50	0,46	0,64	-0,43	0,58	0,07	0,01	-0,68	0,51	0,39	0,34	0,59	1,00

■: Significatif (p<0,05); ■: Hautement significatif (p<0,01) ; ■: Très hautement significatif (p<0,001),

ABTS : Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique, CE : conductivité électrique, CPT : composés phénoliques totaux, DPPH : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl, Flavo : flavonoides, HMF : Hydroxyméthylfurfural, pH : potentiel hydrogène, PL : peroxydation lipidique,

II.2.4.2. Analyse en composantes principales (ACP) (analyse récapitulative)

L'analyse exploratoire ACP est effectuée pour révéler les similitudes et les différences entre les échantillons du miel par rapport à leurs paramètres physicochimiques, leurs teneurs en composés bioactifs et leurs activités biologiques. Le tracé des valeurs propres montre une ligne droite après la deuxième composante principale, ce qui conduit à la conclusion que seules CP1 et CP2 qui représentent 72,58 % de la variation totale peuvent être utilisées pour une explication adéquate des données obtenues.

La figure 27 montre que CP1 explique 51,58 % des données (possède le pouvoir discriminant le plus élevé) et représente l'humidité ($r=-0,88$), la conductivité électrique ($r=0,97$), la couleur ($r=-0,57$), le pH ($r=-0,21$), l'HMF ($r=-0,15$), les composés phénoliques ($r=0,90$), les flavonoïdes ($r=-0,49$), le DPPH ($r=-0,72$), l'ABTS ($r=-0,81$) et la peroxydation lipidique ($r=-0,69$) dans la partie négative. Cependant, le brix ($r=0,92$), les protéines ($r=0,47$) et la proline ($r=0,92$) sont présentés dans la partie positive, CP2 explique 21 % des données et représente l'humidité ($r=0,23$), la couleur ($r=0,62$), les protéines ($r=0,84$), les composés phénoliques ($r=0,05$), les flavonoïdes ($r=0,29$) et la peroxydation lipidique ($r=0,20$) en haut de graphique (partie positive), tandis que le brix ($r=-0,18$), la conductivité électrique ($r=-0,04$), le pH ($r=-0,86$), l'HMF ($r=-0,69$), la proline ($r=-0,03$), le DPPH ($r=-0,45$) et l'APTS ($r=-0,05$) sont représenté en bas de graphique (partie négative).

La discrimination par CP1 des paramètres étudiés révèle cinq groupes d'échantillons (figure 27). Le premier groupe qui se trouve à gauche de graphique et qui comporte le miel M1 se distingue essentiellement par des valeurs élevées en humidité, conductivité électrique, couleur, composés phénoliques et flavonoïdes et les meilleures activités biologiques.

Cependant, ce groupe montre des faibles teneurs en protéines, proline et brix. Le deuxième groupe (M2 et M6) qui est également à gauche de CP1 enregistre des valeurs légèrement inférieures à celle de premier groupe. Le troisième (M3) et le quatrième (M4 et M7) groupe se trouvent à l'opposé du graphique et ils sont moins riche en composés bioactifs et moins actif en termes d'activités biologiques.

Cependant, le cinquième groupe qui se trouve à droite de graphique et qui contient le miel M5, marque des faibles valeurs en humidité, conductivité électrique, couleur, composés phénoliques et flavonoïdes et des faibles activités antioxydantes et inhibitrice de la peroxydation lipidique. En revanche, le miel M5 se démarque par sa teneur élevée en protéines, La figure confirme les corrélations obtenues à l'aide de la matrice de corrélation.

II.2.4.3. Classification hiérarchique ascendante (CHA)

La classification hiérarchique ascendante (figure 28) révèle 5 clusters et ces résultats confirment ceux obtenus par l'ACP. Le cluster 1 est formé par M5 et qui représente les taux les plus faibles en paramètres physicochimiques et composés bioactifs et les faibles activités biologiques. Le cluster 2 renferme M7 et M4 est caractérisé par des valeurs supérieures à celles enregistré par le premier groupe.

Les clusters 3 et 4 enregistrent des valeurs moyennes en paramètres physicochimiques, teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes et activités biologiques. En revanche, le cluster 5 qui est formé principalement de M1 montre des taux plus élevé en paramètres étudiés, En utilisant la CAH, il a été possible de suggérer la formation de groupes pour classer les échantillons sur la base de paramètres physicochimiques, teneur en composés bioactifs et activités biologiques.

Les résultats de l'ACP et de la classification ascendante hiérarchique démontrent que le miel M1 est le meilleur miel en termes de teneur en composés phénoliques et flavonoïdes et activités antioxydantes et d'inhibitrice de la peroxydation lipidique, suivis par les M2, M6, M3, M7, M4 et M5, respectivement.

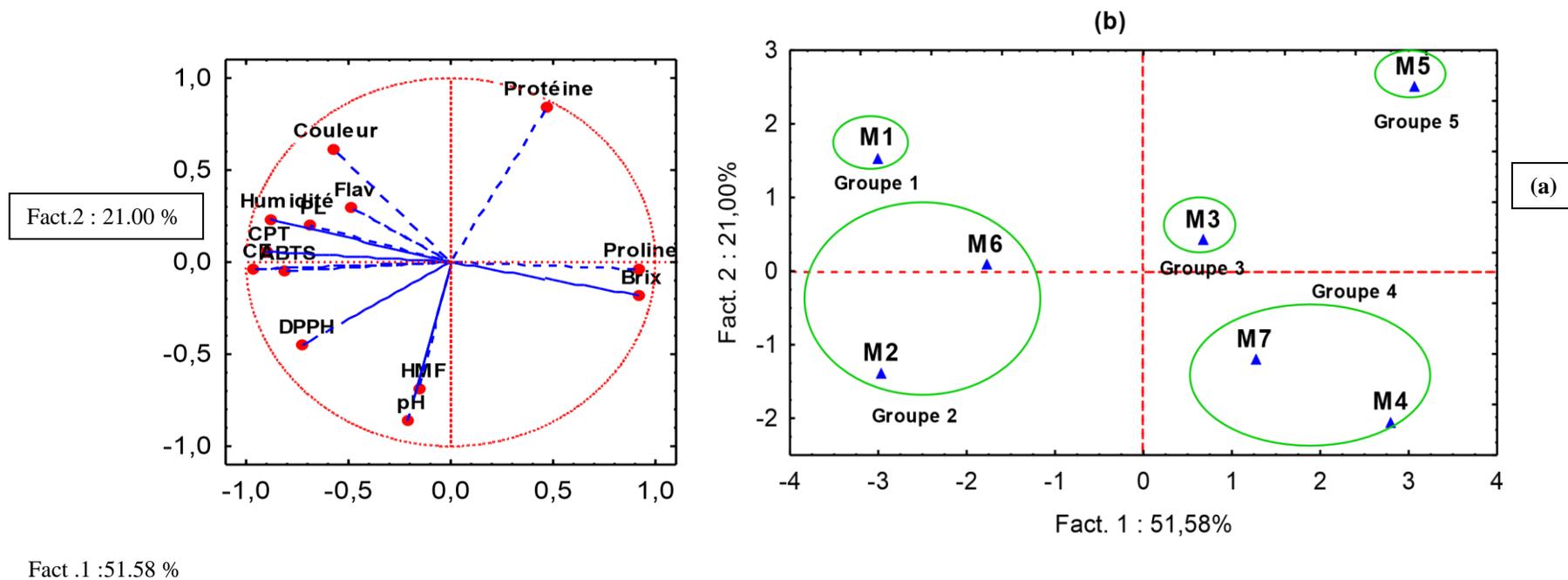


Figure 27 : Graphique d'analyse en composantes principales (ACP) des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.

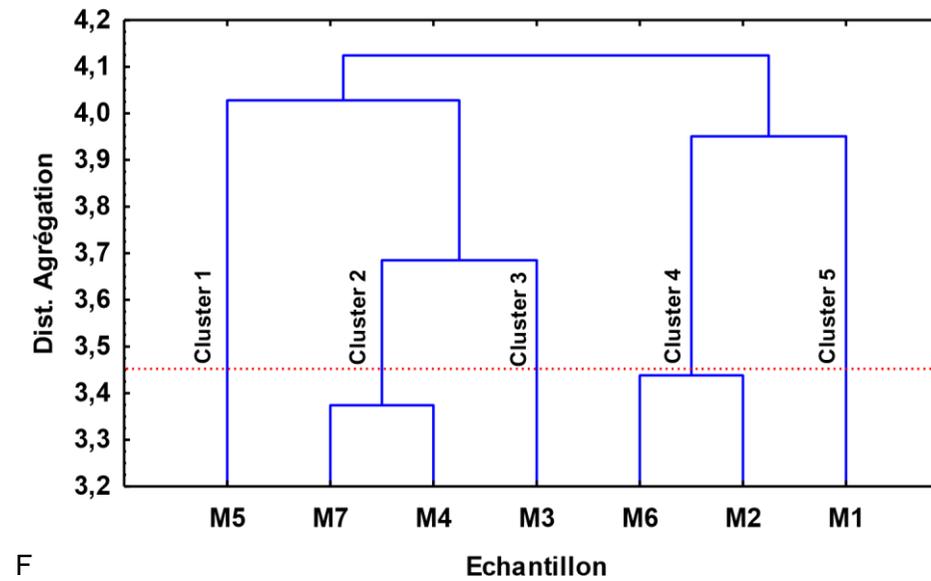


Figure 28 : Dendrogramme vertical obtenu à l'aide de la méthode de Ward et des distances euclidiennes pour les paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.

Conclusion et perspectives

Conclusion

L'Algérie est constituée d'une multitude de reliefs d'où l'existence d'une importante diversité végétale et des conditions climatiques favorables pour les abeilles, ce qui lui donne l'avantage d'avoir un miel de qualité et de différentes vertus que ce soit nutritionnels ou thérapeutiques.

Ce travail a permis d'évaluer les critères de qualité de 7 miels Algériens dont la majorité provient de la wilaya de Béjaïa, en se basant sur les résultats des analyses polliniques, physico-chimiques et des activités antioxydantes. L'analyse pollinique montre que 4 miels sont polyfloraux et 3 autres sont monofloraux (2 miels de Fabaceae et un miel d'Apiaceae).

Les résultats obtenus concernant les propriétés physico-chimiques sont influencés par plusieurs paramètres : les conditions environnementales, le type de la flore butinée, la force de la colonie d'abeille et la compétence de l'apiculteur.

L'humidité des miels analysés varie de 13,86 à 19,69%, Le pH oscille de 3,52 à 4,28.

La conductivité électrique est comprise entre 0,70 à 1,51 mS / cm, les miels issus du nectar possèdent une conductivité électrique inférieure à 0,8mS / cm ce qui confirme leur origine.

La teneur en protéines et en proline oscillent de 42,50 à 112,10mg E BSA / 100 g et de 181,21 à 316,88mg / kg respectivement, La teneur en HMF révèle des valeurs allant de 5,91 à 154,19mg / kg, tous les miels répondent à la norme (> 40 mg / kg) excepté le M2 et le M4 qui la dépasse.

La couleur enregistre des valeurs qui oscillent de 0,25 à 1,12 dont le miel 7 est le plus clair et les M1, M2, M5 et M6 sont les plus foncé. En général la couleur est le miroir de richesse de miel en antioxydants, le miel foncé en contient plus.

Les résultats des analyses physico-chimiques sont en accord, en général, avec les normes de la commission internationale du miel, La teneur en polyphénols des miels analysés montre une différence hautement significative qui varie de 61,92 à 161,34 mg EAG / 100 g, ainsi leur teneur en flavonoïdes qui oscille de 6,26 à 13,33 mg EC / 100g.

Les miels analysés montrent des activités antioxydantes importantes. L'activité anti radicalaire par l'ABTS et par le DPPH fluctuent de 39,04 à 74,92 % et de 38,29 à 77,79%, L'activité antioxydante par le test d'inhibition de la peroxydation lipidique montre un pourcentage d'inhibition qui oscillent de 32,14% à 88,80% pour l'individu 1 ; 30,57% à 86,75% pour

Conclusion

l'individu 2 ; 34,44% à 88,57% pour l'individu 3 et de 44,95% à 90,12% pour le dernier volontaire.

Perspectives

Ce travail peut être enrichi en augmentant le nombre d'échantillons, élargir la zone d'étude, poursuivre cette étude par des analyses microbiennes..., et peut-être le in vivo et l'identification des molécules responsables de ces différentes activités.

Références Bibliographiques

Références bibliographique

A

1. **Accorti, M., Piazza, M, G., &Persano Oddo, L .(1987).** La conductivité électrique et le contenu en cendre du miel. *Apiacta*, 22, 19–20.
2. **Aitlounis Lydia. (2012).** Comparaison des caractéristiques physiques, polliniques, microbiologiques et organoleptiques de quelques miels locaux et ceux d'importation commercialisés, Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques spécialité Technologie Alimentaire, Université de Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou.
3. **Alisi C,S.,Ojiako O,A., Igwe C, U., Ujowundu C, O, Anugweje K, and Gloria N. (2012).** Okwu Antioxidant Content and Free Radical Scavenging Activity of Honeys of *Apis mellifera* of Obudu Cattle Ranch,*International Journal of Biochemistry Research and Review*, 2(4): 164-175.
4. **Alvarez-Suarez J,M.,Tulipani S., Diaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S, et Battino M. (2010).**Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds,*Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-249.
5. **Ames N,,Shigenaga M, K,, Hagen T, M. (1993).** Oxidants. antioxidants and the degenerative disease of aging.*Proceeding of the National Academy of Sciences*, 90, 7915-7922p.
6. **AngelosM ;Kutalav K ; Torres C,A ; He G ; Stones J ; Mohammed M ; Kuppusamy P. 2005.** Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation.*Am J Physiol Hear Circ Physiol*, 290 :341-347.
7. **Anjos, O., Iglesias, C., Peres, F., Martinez, J., Garcia, A,&Taboa, D.(2015).**Neutral networks applied to discriminate botanical of honeys,*Food Chemistry*, 175:128-136.
8. **Anklam, E, (1998),** A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey.*Food Chemistry*, 63(4), 549-562.
9. **Assie B,, Descottes B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. *Thèse Médecine, Toulouse*, p, 115.
10. **Apuy, G.,Paccalin, J,&Lostalot, J,D. (1994).**Miel et abeilles,*Diététique et Médecine*, 4: 161-173.

B

11. **Bansal V, Medhi B, Pandhi P. (2005).** Honey-A remedy discovered and its therapeutic utility.*Kathmandu Univ Med*3(3):305-9.
12. **Barja G. (1999).**Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity,*J BioenergBiomembr*, Aug;31(4):347–66.
13. **Bartholomeus,T., Berque,B,Boueih jpi,T,Mollet. (2010).** Lettre du développement apicole en Aquitaine,
14. **Beaudeau, J,L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A and Peynet, J. (2006).** Le stress oxydant composition physiopathologique de l'athérosclérose,*Immunoanalyse et biologie spécialisée*, 21: 144-150,
15. **Beaudeau, J.-L. J. Peynet, D. Bonnefont-Rousselot, P. Therond, J. Delattre,A.(2006).** Legrand.Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote Implication dans la transcription.et la régulation des gènes. *Ann Pharm Fr.*; 64(24) :373-81.
16. **Belaïch, R and Boujraf, S. (2016).**Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques,*Médecine des maladies Métabolique*,10(1) : 38-42.
17. **Belhaj, O.,Oumato, J, et Zrira, S.(2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains,*Marocan Science Agronomy and Veterinary*, 3 (3): 71-75,
18. **Berger, M,M. (2006).** Manipulation nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances,*Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48-53.
19. **BelayA,, Solomon W,K., Bultossa G., Adgaba N,& Samuel Melaku.(2013).**Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia,*Food Chemistry*,141: 3386–3392.
20. **Beretta, G,,Ganata, P,, Ferrero, M,, Oriolis, M,, Maffei Facino, R.(2005).**Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric, fluorimetricesseys and chemometric, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 533:185-191.
21. **BertonceljJ,,Dobersek U,, Jamnick M, and Golob T. (2007).** Evaluation of phenolic content: antioxydant activity and colour of Slovenian honeys,*Food Chemestry*, 105,822-828,
22. **M., (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche,Thèse de doctorat, Univ, *Limoges*, P, 142.

23. **Bogdanov, S, (2011).** Honey composition, In The honey book, (Chapter 5), *Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net.
24. **Bogdanov S,,Lüllman C,, Marttin P,, Von Der Ohe W,, Russmann H,, Vorwohl G,, PersanoOddo L,, Sabatini A,G,, Marcazzan G, L,, Piro R,, Flamini C,, Morlot M,, Heritier J,, Borneck R,, Marioleas P,, Tsigouri A,, KerKvliet J,, Ortiz A,, Ivanov T,, D'Arcy B,, Mossel B,& Vit P, (1999).**Honey quality and international regulatory standard: review by the international honey commission, *Bee World*, 71: 20-26.
25. **Bogdanov, S,, Ruoff, K, et PersanoOddo, L, (2004).** Physico-chemical methods for characterisation of unifloral honeys, *Apidologie*, 35: 4-17.
26. **Bogdanov, S,, Ruoff, K,, &Oddo, L, P, (2004).** Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys, a review,*Apidologie*, 35(Suppl, 1), S4- S17.
27. **Bonté, F,,Desmoulière, A, (2013).** Le miel : *origine et composition*,*Actualities pharmaceutiques* N° 531, 18-21p.
28. **Bonté F et Désmolière A, (2013).** « Le miel, quel intérêt en cicatrisation? »,Le miel origine et composition,*Actualités phamaceutiques*, 18-21.
29. **Bonté, F,,Desmoulière, A, (2013).** Le miel : origine et composition,*Actualities pharmaceutiques* N° 531, 18-21p.
30. **Boussaid, A,,Chouaibi, M,, Rezig, L,, Hellal, R,, Donsi, F,, Ferrari, G,& Hamdi, S, (2014).** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples various floral origins from Tunisia,*Arabia Journal of Chemistry*, In Press.
31. **Bruneau E, (2002).** Le miel, In « le Traité Rustica de l'Apiculture »,*Edition Rustica*, 63-354.

C

32. **Capuano, E,,&Fogliano, V, (2011).** Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF):A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies,*Food Science and Technology*, 44, 793–810.
33. **Castro, L, et Freeman, B,A, (2001).** Reactive oxygen species in human health and disease,*Nutrition*, 170: 161-165.
34. **Cavia, M,M,, Fernandez-Muino, M,A,, Alonso-Torre, S,R,, Huidobro, J,F, et Sancho, M,T, (2007).**Evolution of acidity of honeys from continental climates: *Influence of induced granulation*,*Food Chemistry*, 100: 1728–1733.
35. **Chauvin R.(1987).** Le miel, In « la ruche et l'homme »,*Edition Calman-Lévy*, p 168.

- 36. Chen, H,J,, Chung, F,L .(1996).** Epoxidation of trans-4-hydroxy-2-nonenal by fatty acid hydroperoxides and hydrogen peroxide,*Chem Res Toxicol* 9, 306-12.
- 37. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ .(2003).** Production of reactive oxygen species by mitochondria: *central role of complex III*,*J Biol Chem*, 19;278(38):36027– 31.
- 38. Clemence hoyet.(2005).** le miel : de la source a la thérapeutique, Thèse pour obtenir : *le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université Henri Poincaré - Nancy, France.*
- 39. Codex Alimentarius Commission .(2001).***Revised codex standard for honey*,*Revue*, 12:1-7.
- 40. Commission Européenne (2002),** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel, *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10, 47-52.
- 41. Conti, M,E.,Finoia, M, G,, Fontana, L., Mele, G,, Botrè, F., &Iavicoli, I.(2014).**Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters,*Chemistry Central Journal*, 8(1), p: 44.
- 42. Cotte J,F.(2004).** Analyse des miels, I- Vers de nouvelles méthodes d'investigation des adultérations,*Bulletin Technique Apicole*,31(1):15-24.
- 43. Cuvillier A, (2015).**Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire,*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lille 2, Faculté de pharmacie.*

D

- 44. Da Costa C.M, Santos R.C, Emerson S.(2006).** A simple automated procedure for thiol measurement in human serum plasma.; 42(5): 345-350.
- 45. De BodtG.(2004).** Pansement de pointe et pointe de miel, *Abeilles et Cie*,103, 26-27.
- 46. De Rodriguez G,O,, De Ferrer B,S,, Ferrar A, and Rodriguez B, (2004).**Characterisation of honey produced in Venezuela,*Food Chemistry*, 84: 599-502.
- 47. Descottes, B.(2009).**Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années,*Phytothérapie*, 7: 112–116.
- 48. Desmoulière,A.(2013).** Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes,*Actualités pharmaceutiques*, n° 531 : p17.
- 49. DjossouJ,A.,Tchobo F,P,, Yédomonhan H,, Alitonou A,G, and Soumanou M, M, (2013),**Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou,*Tropicultura*, 31, 3, 163-169.

50. Donadieu Y, (2008), La propolis , Thérapeutiques naturelles,*Editions Dangles* , Paris , 96 p.

51. Doukani K, Tabak S, Derriche A et HaciniZ.(2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens,*Rev,Ecol, Environ*, 10, 37-46.

52. Doukani, K.,Tabak, S., Derriche, A, et Hacini, Z, (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens,*Ecologie-Environnement*, 10: 1112-5888.

E

53. Echtay KS, Esteves TC, Pakay JL, Jekabsons MB, Lambert AJ, Portero-Otin M, Pamplona R, Vidal-Puig AJ, Wang S, Roebuck SJ and Brand MD, 2003. A signalling role for 4hydroxy-2nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling,*Embo J* 22, 4103-4110.

54. Enjalbert F,(2010). Nutrition et alimentation de la vache laitière,*Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*.

55. El SohaimyS,A.,Masry S,H,D ,et Shehata G, (2015).Physico chemical characteristics of honey from different origins,*Annals of Agricultural Science*, 60,2 : 279– 287.

56. Emmanuelle H,, Julie C, and Laurent G, (1996). Les constituants chimiques du Miel,*Science et Medecine*, 4 : 1-7.

57. Erel, O, (2004).A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation,*ClinicalBiochemistry*, 37: 277-285.

F

58. Fanny,B, (2012). Les propriétés thérapeutiques du miel et leur domaine d’application en médecine générale : revue *de la littérature, Médecine humaine et pathologie*, 22-24.

59. Favier A, (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d’un marqueur,*Ann Biol Clin* 55 (1) : 9-16.

60. Favier, A, (2006). Stress oxydant et pathologies humaines, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 : 390-396.

61. Favier A,(2009). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d’un marqueur,*Ann Biol Clin*, 54(1) : 9-16.

62. Ferreira I C F R, Aires E, Barreira J C M et Estevinho L M, (2009).Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract,*Food Chemistry*,, 114, 1438-1443.

63. Fontaine, E.,Barnoud, D., Schwebel, C and Lerverve, V, (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique,*Réanimation*, 11: 411-420.

G

64. Gámbaro, A., Ares, G., Giménez, A., & Pahor (2007).Preference mapping of color of Uruguayan honeys,*Journal of Sensory Studies*, 22, 507–519.

65. Gomes S,, Dias L,G., Moreira L,L., Rodrigues P, and Estevinho L, (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal,*Food and Chemical Toxicology*, 48, p : 544-548.

66. Gonnet M.,& Vache G, (1985). Le goût du miel, Paris : éd, UNAF.

67. Gorjanovic, S,Z,,Alvary-Suarez, J, M,, Novakovic, M, M,, Pastor, F, T,, Pezo, C., Battino, M,&Suznjevic, D, Z, (2013). Comparative analysis of antioxydant activity of honey of different floral sources using recently developed polarograic and various spectrophotometric esseys, *Journal of Food Composition and Analysis*, 30: 13-18.

H

68. Habati M, Abdelaziz Gherib, BoulanouarBakchiche, Ahmed, A,Benmebarek (2017). Study on the physicochemical, antioxidant properties and mineral content of honeys produced in the central region of ALGERIA, *Chemistry et Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 18 (2), 121 – 134.

69. Habib, H,M,, Al Meqbali, F,T,, Kamal, H,, Souka, U,D, et Ibrahim, W,H, (2014). Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions,*Food Chemistry*, 153: 35-43.

70. Halliwell, B.,Gutteridge, JMC, Free Radicals in Biology and Medicine, In Halliwell B., Gutteridge JMC, eds, 1999a : 1-543.

71. Halliwell B and Gutteridge JM, (1999). Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed,*Oxford University Press*.

72. Halliwell, B, et Gutteridge, J,M, (1999). Free Radicals in Biology and Medicine,Oxford: *ClarendonPress*, 488 p.

73. Hansford RG, Hogue BA, Mildaziene V, (1997). Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age, *J Bioenerg Biomembr*, Feb; 29(1):89– 95.

74. Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, Lee SC, Lee KB and Rhee SJ, (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats, *Clin Chim Acta* 340, 107-115.

75. Hulbert AJ, 2005. On the importance of fatty acid composition of membranes for aging, *J Theor Biol* 234, 277-288.

76. Hoyet C, (2005). Le miel: De la source à la thérapeutique, Thèse de pharmacie en pharmacie, Faculté de pharmacie, *Université poincare de Nancy 1*, pp,17-37.

77. Hsieh, R, et Kinsella, J, (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish, *Advances in Food Research and Nutrition*, 33: 233-341.

I

78. Islam A, Khalil I, Islam N, Moniruzzaman M, Mottalib A, Sulaiman S A et Gan S H,(2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year, *BMC Complement, Altern, Med*, 12, 17.

J

79. Jacques B ; André R, 2004. Biochimie métabolique, Ed ellipses, Paris, pp : 217- 225.

80. Jean-Prosst P, Médori P, and le Conte Y, (2005) . Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher, *Edition TEC Doc*, 7 e édition, p,698.

K

81. Karabagias, I,K.,Badeka, A,, Kontakos, S., Karabournioti, S., &Kontominas, M, G, (2014), Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics, *Food Chemistry*, 146, 548–557.

82. Khalil M,B,,Moniruzzaman M., Boukraâ L, Benhanifia M,, Asiful I., Nazmul I, Siti Amrah S,& Siew H, G, (2012), Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey, doi:10.3390/molecul, 17: 11199-11215.

83. Khalil M,I,,Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M,A., Islam M,N., Sulaiman SA, and Gan S,H, (2012).Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey,*Molecules*, 17(9):11199–11215.

84. KishoreR,K,,Sukari Halim A,, NurulSyazan M,S, and Sirajudeen K,N,S, (2011).Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources,*Nutrition Research*, 31, 322-325.

L

85. Lazarević, K,B,,Andrić, F., Trifković, J., Tesić, Z, et Milojkovic-Opsenica, D, (2012).Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters,*Food Chemistry*, 132: 2060-2064.

86. León-Ruiz, V., Vera, S., González-Porto, A, V., & Andrés, M, P, S, (2013). Analysis of water-soluble vitamins in honey by isocratic RP-HPLC,*Food Analytical Methods*, 6, 488–496.

87. Lequet L, (2010).Du nectar au miel de qualité : contrôle analytique du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur,*Thèse de Doctorat, Ecole National Vétérinaire de Lyon*, p,195.

88. Lindau-Sehpard B et Shaffer J, 1993. Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage, *Free radical biology and medicine*, 15, 581-8.

89. Loubreau-Callen D,, Clement M,C, et Marmion V, (2000). Les miels in « techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire », P,1-20.

90. Louveaux, J, (1968a). Composition, propriétés et technologie du miel,In: *Traité de biologie de l'abeille, Tome III : les produits de la ruche*, Paris : Masson et Cie.

M

91. Makhloufi, C,,Kerkvliet, D,, Ricciardelli-D'albore, G,, Choukri, A, et Samar, R, (2010).Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods,*Apidologie*, 41: 509-521.

92. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L, (2004).Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.

93. Marchenay P, et Berard L, (2007). L'homme, l'abeille et le miel, Paris, *De Borée*, 223-225.

- 94. Marfak A, 2003** .Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides,*Doctorat de l'université de Limoges*, France, pp,7-10.
- 95. Marnett LJ, 1999**. Lipidperoxidation-DNA damage by malondialdehyde,*Mutat Res* 424, 8395,83.
- 96. Marshall, T., Williams, K, M, (1987)**. Electrophoresis of honey: Characterization of trace proteins from a complex biological matrix by silver staining,*Analytical Biochemistry*, 167, 301-303.
- 97. Meda A, (2005)**. Utilisation thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activité biologiques des miels du Burkina faso,*Thèse de doctorat en science biologiques appliquées* : 10-12.
- 98. Meda, A., Lamien, C, E., Romito, M., Millogo, J, & Nacoulma, O, G, (2005)**. Determination of total phenolic, flavonoid and proline in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity, *Food Chemistry*, 91:571-577.
- 99. Missio da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L,V,, Oliveira Costa, A,C, et Fett, R, (2016)**. Honey: Chemical composition, stability and authenticity,*Food Chemistry*, 196: 309-323.
- 100. Molan P C et Russel K, (1988)**. Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys, *J, Api, Res*, 27(1), 62-67.
- 101. Molan P,C,(1992)**. The antibacterial activity of honey,1,the nature of the antibacterial activity, *Bee world*, 73, 5-28.
- 102. Molan P,C, (2001)**. Why honey is effective as a medicine, the scientific explanation of its effects,*Bee World*, 82(1), 22-40.
- 103. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S,A,, Khalil, M,I, et Gan S,H, (2013)**. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with Manuka honey, *Chemistry Central Journal*, 7: 138.

N

- 104. Nanda V, Sarkar B C, Sharma H K et Bawa A S, (2003)**. Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India, *J, Food Composit, Anal*, 16, 613– 619.
- 105. NombéréI., Schweitzer P., Boussim J,I, and Rasolodimby J,M, (2010)**. Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso, *African Journal of a food science*, 4(7): 458-463.

106. Noor N, Sarfraz R A, Ali S et Shahid M, (2014). Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys,*Food Chem*,143, 362– 366.

O

107. Olaitan, P,B,, Adeleke, O,E, et Ola, I,O, (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes,*AfricanHealth Sciences*, 7(3): 159-165.

108.Ouchemoukh S,(2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens,Thèse de Doctorat, Université Abderrahmane Mira de Béjaia, P, 162.

109. Ouchemoukh, S,,Louaileche, H, et Schweitzer, P, (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys,*Food Chemistry*, 18: 52-58.

110. Otmani A, (2021). Paramètres physic-chimiques, profils polliniques et phénoliques et propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoire et inhibitrices d'enzymes de miels d'Algerie. Thèse de Doctorat, Université Abderrahmane Mira de Béjaia.

P

111. Pamplona R, Portero-Otin M, Ruiz C, Gredilla R, Herrero A and Barja G, 2000. Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals, *Mech Ageing Dev* 112, 169-174. Marnett LJ, 1999,*Lipid peroxidationDNA damage by malondialdehyde,MutatRes* 424, 83-95.

112. Petit, N, (2012), Le miel au secours de la médecine conventionnelle,*Santé*, 13-17.

113. Pham-Huy LA ; He H ; Pham-Huy C, 2008, Free radicals, antioxidants in disease and health,*International Journal of BiomedicalMedecine*, 4 :89-96.

114. PHILIPPE, J, (2007). Le guide de l'apiculture ,Edition EDISUD.

115. Pierre Jeanprost, (2005). Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher,7ème Edition, J,B, BAIUIERE, Paris 89-98.

116. Poisson C, 2013. Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique ; innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué.

117. Ponce A,G,, Fritz R,, Del Valle C, et Roura S, I, (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard,*LWT-Food Science and Technology*, 36(7): 679-684.

R

118. RichéMD,(2008). Micronutrition, santé et performance : Comprendre ce qu'est vraiment la micronutrition,*De Boeck Supérieur*;, 386 p.

119. Rodrigo R, 2009, Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Disease, New York: *Nova Science*, 358 p.

S

120. Sanz A, Stefanatos RKA, (2008). The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view,*Curr Aging Sci*;;1(1):10–21.

121. Sanz, M,L,, Gonzalez, M,, De Lorenzo, C,, Sanz, J, et Martinez-Castro, I, (2005).A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey,*Food Chemistry*, 91: 313-317.

122. Sarmento Silva, T,M., Dos Santos, F, P,, Evangelista-Rodrigues, A, E,, Sarmento da Silva, E, M,, Sarmento da Silva, G,, Santo de Navais, J., Assis Ribeiro dos Santo, F,& Camara, C, A, (2015). Phenolic compounds, melissopalynological physicochemical analysis and antioxidant activity of jondiara (*Melipona Subnitida*) honey,(2013),*Journal of Food Composition and Analysis*, 29: 10-18.

123. Satoh K, 1978. Utilisation d'un marqueur du stress oxydatif pour évaluer l'impact des périodes de stress chez les bovins : cas du vêlage et du transport allotement chez les veaux, *Clin Chim Acta*, 90 :37-43.

124. Stranway, P, (2013). The miracle of honey, In "Practical tips for health, home, beauty", Ed, *Wintkins Publishing Ltd*: 35-58.

125. Suznjevic, D,Z,, Pastor, F,T,, Gorjanovic , S, Z,, (2011). Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination,*Talanta*, 85:1398–1403.

T

126. TamburriE ;Orlanducci S ; Toschi F ; Terranova M,L; Passeri D, 2009.Growth mechanisms, morphology, and electroactivity of PEDOT layers produced by electrochemical routes in aqueous medium,*Synth, Met.*, 159 (2009) 406-414.

127. TerrabA,, Diez M, J, and Heredia F, J, (2003). Palynological, physicochemical and color characterization of Moroccan honeys, Orange (*Citrus sp.*) honey, *Food Science and Technology International*, 38 : 383-7.

128. Touitou Y, (2005). Biochimie : structure des glucides et lipides, Université Paris- VI, Paris, <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/SGLbioch/index.html>.

129. Truzzi C, Annibaldi A, Illuminati S, Finale C, and Scarponi G, (2014). Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology, *Food Chemistry*, 150: 477–481.

V

130. Valéry Afonso, Romuald Champy, Dragoslav Mitrovic, Pascal Collin, Abderrahim Lomri, 2014 . Radicaux libres dérivés de l’oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales, *Revue du Rhumatisme*,; 74(5) :636–643.

131. Valko, M., Rhodes, C,J., Moncola, J., Izakovic, M, et Mazura, M, (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 16 : 1-40.

132. Vanhanen, L,P, Emmertz, A, Savage, G,P., (2011). Mineral analysis of monofloral New Zealand honey, *Food Chem*, 128, 236–240.

133. Villière, A, et Genot, C, (2006), Physico-chemical and olfatometric analysis of lipid oxidation in oil-in-water emulsions, *Oleagineux Corps Gras*, 13(2-3) : 152-159.

134. Von der Ohe, W, Dustmann, J, H, & Von der Ohe, K, (1991). Prolinalskriterium der Reife des Honigs, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87, 383–386.

W

135. Wang, J, & Li, Q, X, (2011). Chapter 3 – Chemical composition, characterization, and differentiation of honey botanical and geographical origins, *Advances in Food and Nutrition Research*, 62, 89-137.

136. Wardenier, R, (2012). Le monde fascinant des abeilles, *Journal des Enfants*, 1- 4.

137. Wilczyńska A, (2014). Effet of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey, *LWT – Food Science and Technology*, 57: 767-77.

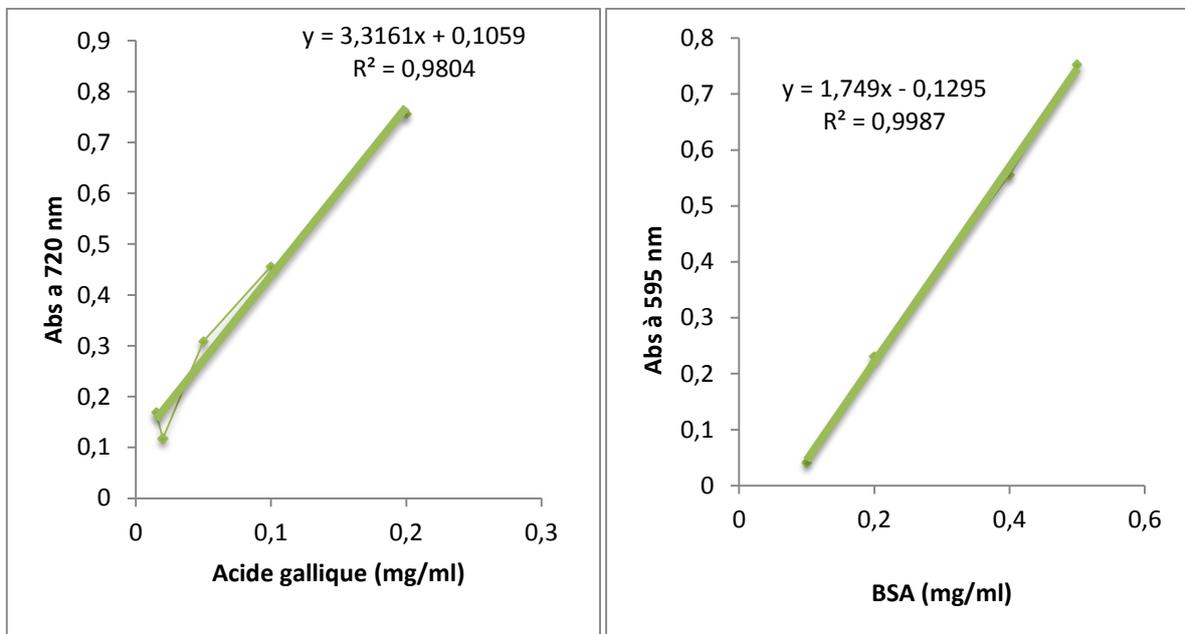
Y

138. Yücel, Y, & Sultanoglu, P, (2013). Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1, 16–2.

Annexes

Annexes

Courbe d'étalonnage



Courbe d'étalonnage des protéines et compose phénolique totaux

Corrélation entre les paramètres physico-chimiques, activée antioxydant et la peroxydation lipidique p<0.05, p<0.01 et p<0.001

Les annexes

Corrélations significatives marquées à p < ,05000													
Variable	Brix	Humidité _{1/2}	CE	Ph	HMF	Couleur	Proline	Protéine _{1/2}	CPT	Flavo	DPPH	ABTS	PL
Brix	1,00	-0,97	-0,83	0,13	0,37	-0,55	0,75	0,26	-0,66	-0,49	-0,51	-0,37	-0,48
Humidité _{1/2}	-0,97	1,00	0,83	-0,12	-0,39	0,51	-0,74	-0,22	0,70	0,52	0,54	0,39	0,45
CE	-0,83	0,83	1,00	0,04	-0,04	0,39	-0,86	-0,38	0,77	0,47	0,56	0,66	0,66
Ph	0,13	-0,12	0,04	1,00	0,54	-0,63	0,04	-0,80	-0,11	-0,03	0,32	0,02	-0,39
HMF	0,37	-0,39	-0,04	0,54	1,00	-0,47	-0,01	-0,54	-0,03	-0,26	0,34	0,38	0,03
Couleur	-0,55	0,51	0,39	-0,63	-0,47	1,00	-0,36	0,34	0,50	0,34	-0,08	0,09	0,58
Proline	0,75	-0,74	-0,86	0,04	-0,01	-0,36	1,00	0,44	-0,52	-0,37	-0,49	-0,52	-0,70
Protéine _{1/2}	0,26	-0,22	-0,38	-0,80	-0,54	0,34	0,44	1,00	-0,07	-0,06	-0,56	-0,21	-0,05
CPT	-0,66	0,70	0,77	-0,11	-0,03	0,50	-0,52	-0,07	1,00	0,42	0,51	0,74	0,52
Flavo	-0,49	0,52	0,47	-0,03	-0,26	0,34	-0,37	-0,06	0,42	1,00	0,37	0,12	0,33
DPPH	-0,51	0,54	0,56	0,32	0,34	-0,08	-0,49	-0,56	0,51	0,37	1,00	0,62	0,34
ABTS	-0,37	0,39	0,66	0,02	0,38	0,09	-0,52	-0,21	0,74	0,12	0,62	1,00	0,55
PL	-0,48	0,45	0,66	-0,39	0,03	0,58	-0,70	-0,05	0,52	0,33	0,34	0,55	1,00

Corrélations significatives marquées à p < ,01000													
Variable	Brix	Humdit	CE	Ph	HMF	Couleur	Proline	Protéine	CPT	Flavo	DPPH	ABTS	PL
Brix	1,00	-0,97	-0,83	0,13	0,37	-0,55	0,75	0,26	-0,66	-0,49	-0,51	-0,37	-0,48
Humdit	-0,97	1,00	0,83	-0,12	-0,39	0,51	-0,74	-0,22	0,70	0,52	0,54	0,39	0,45
CE	-0,83	0,83	1,00	0,04	-0,04	0,39	-0,86	-0,38	0,77	0,47	0,56	0,66	0,66
Ph	0,13	-0,12	0,04	1,00	0,54	-0,63	0,04	-0,80	-0,11	-0,03	0,32	0,02	-0,39
HMF	0,37	-0,39	-0,04	0,54	1,00	-0,47	-0,01	-0,54	-0,03	-0,26	0,34	0,38	0,03
Couleur	-0,55	0,51	0,39	-0,63	-0,47	1,00	-0,36	0,34	0,50	0,34	-0,08	0,09	0,58
Proline	0,75	-0,74	-0,86	0,04	-0,01	-0,36	1,00	0,44	-0,52	-0,37	-0,49	-0,52	-0,70
Protéine	0,26	-0,22	-0,38	-0,80	-0,54	0,34	0,44	1,00	-0,07	-0,06	-0,56	-0,21	-0,05
CPT	-0,66	0,70	0,77	-0,11	-0,03	0,50	-0,52	-0,07	1,00	0,42	0,51	0,74	0,52
Flavo	-0,49	0,52	0,47	-0,03	-0,26	0,34	-0,37	-0,06	0,42	1,00	0,37	0,12	0,33
DPPH	-0,51	0,54	0,56	0,32	0,34	-0,08	-0,49	-0,56	0,51	0,37	1,00	0,62	0,34
ABTS	-0,37	0,39	0,66	0,02	0,38	0,09	-0,52	-0,21	0,74	0,12	0,62	1,00	0,55
PL	-0,48	0,45	0,66	-0,39	0,03	0,58	-0,70	-0,05	0,52	0,33	0,34	0,55	1,00

Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$

Variable	Brix	Humdit	CE	Ph	HMF	Couleur	Proline	Protiene	CPT	Flavo	DPPH	ABTS	PL
Brix	1,00	-0,97	-0,83	0,13	0,37	-0,55	0,75	0,26	-0,66	-0,49	-0,51	-0,37	-0,48
Humdit	-0,97	1,00	0,83	-0,12	-0,39	0,51	-0,74	-0,22	0,70	0,52	0,54	0,39	0,45
CE	-0,83	0,83	1,00	0,04	-0,04	0,39	-0,86	-0,38	0,77	0,47	0,56	0,66	0,66
Ph	0,13	-0,12	0,04	1,00	0,54	-0,63	0,04	-0,80	-0,11	-0,03	0,32	0,02	-0,39
HMF	0,37	-0,39	-0,04	0,54	1,00	-0,47	-0,01	-0,54	-0,03	-0,26	0,34	0,38	0,03
Couleur	-0,55	0,51	0,39	-0,63	-0,47	1,00	-0,36	0,34	0,50	0,34	-0,08	0,09	0,58
Proline	0,75	-0,74	-0,86	0,04	-0,01	-0,36	1,00	0,44	-0,52	-0,37	-0,49	-0,52	-0,70
Protiene	0,26	-0,22	-0,38	-0,80	-0,54	0,34	0,44	1,00	-0,07	-0,06	-0,56	-0,21	-0,05
CPT	-0,66	0,70	0,77	-0,11	-0,03	0,50	-0,52	-0,07	1,00	0,42	0,51	0,74	0,52
Flavo	-0,49	0,52	0,47	-0,03	-0,26	0,34	-0,37	-0,06	0,42	1,00	0,37	0,12	0,33
DPPH	-0,51	0,54	0,56	0,32	0,34	-0,08	-0,49	-0,56	0,51	0,37	1,00	0,62	0,34
ABTS	-0,37	0,39	0,66	0,02	0,38	0,09	-0,52	-0,21	0,74	0,12	0,62	1,00	0,55
PL	-0,48	0,45	0,66	-0,39	0,03	0,58	-0,70	-0,05	0,52	0,33	0,34	0,55	1,00

Les Annexes

Table de CHATAWAY

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

Résumé

Le but de cette étude est de déterminer la capacité d'inhibition du miel sur l'oxydation lipidique du plasma sanguin et d'évaluer les activités antioxydantes de sept échantillons de miels qui sont récoltés dans différentes régions de Bejaïa et déterminer leurs paramètres physico-chimiques (humidité, brix, pH, conductivité électrique, couleur, protéines, proline et HMF), leurs origines botaniques, leurs taux en antioxydants (composés phénoliques et flavonoïdes) et pouvoir scavenger des radicaux (DPPH et ABTS). Les résultats obtenus montrent que la majorité des miels analysés sont conformes à la législation. L'humidité oscille de 13,86 à 16,76 %, Le pH moyen et la conductivité électrique moyenne est de 3,95 et 1,09 mS / cm respectivement. La teneur moyenne en proline, protéine et en HMF est de 238,60 mg / kg, 66,56 mg EBSA / 100 g et 49,61 mg / kg respectivement. La moyenne des composés phénoliques et flavonoïdes est 111,56 mg EAG / 100 g et 7,59 mg EQ / 100 g. Les miels analysés présentent un pourcentage d'activités anti radicalaire de 57,38 % pour le DPPH et de 59,12 % pour l'ABTS. Ces résultats témoignent que ces échantillons sont de bonnes qualités par rapport aux normes internationales. Des corrélations très hautement et hautement significatives sont observées entre les paramètres physicochimiques, les teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes. Quatre échantillons de sang ont été prélevés dans un laboratoire médical pour quatre individus différents. Le plasma a été obtenu par centrifugation. Un test TBARS qui permet d'évaluer la quantité du MDA qui reflète la peroxydation lipidique a été mis en œuvre selon la méthode de Buege et Aust (1978), on utilisant la vitamine C comme standard puisque il permet également de réduire la peroxydation lipidique on piégeant différents EROs. Pour le pourcentage de l'activité d'inhibition de peroxydation lipidique des sept échantillon du miel on a observé pour M1 : 81,01 % ; M2 : 84,01 % ; M3 : 80,78 %, qui sont des pourcentages supérieurs à celui enregistré par la vitamine C qui est de 63,51 % ,et une activité inférieure par rapport à celle de la vitamine C était enregistré pour le reste des échantillons du miel (M4 : 36,92 % ; M5 : 46,59 ; M6 : 44,73 % et 40,14 % pour le M7).

Mots clés : miel, paramètres physico-chimiques, analyse pollinique, propriétés antioxydantes, peroxydation lipidique.

Abstract

The purpose of this study is to determinate honey inhibition capacity on the lipid oxidation of blood plasma and evaluating antioxidant activities of seven honey samples, which are harvested in different regions of Algeria and determinate their physico-chemicals properties (moisture, brix, pH, electrical conductivity, color, protein, prolin and HMF), their botanical origins, their rates in antioxydants (phenolic and flavonoid composition), and the scavenger radicals (DPPH....). The results obtained show that the majority of honey samples analysed comply with legislation. Moisture oscilates from 13, 86 to 16,76%. The average pH and the average electrical conductivity are 3, 95 et 1, 09 mS /cm respectively. The medium content of proline, protein and HMF are 238,60 mg / kg, 66,56 mg EBSA / 100 g et 49,61 mg / kg respectively. The average phenolic and flavonoid coumpound are 1,56 mg EAG / 100 g et 7,59 mg EQ / 100 g , where the honey samples analysed show an anti-radical activities at an average of 57,38% and 59,12% concerning ABTs. This results testify that these samples are of a good quality compared to international standards. Highly significant correlations are observed between physicochemical parameters, antioxydants and antioxydant activities. Four blood samples were deducted from four different volunteers. The plasma was obtained by centrifugation, A TBARS test that evaluates the amount of the MDA that reflects lipid peroxidation has been implemented according to the Buege et Aust (1978) method. Vitamin C was used as a standard since it also reduces lipid peroxidation and trap different EROs, The inhibiting percentage of the lipid peroxidation activity of the seven samples of honey observed are :M1: 81,01 % ; M2 : 84,01 % ; M3 : 80,78 % ; M4 : 36,92 % ; M5 : 46,59 ; M6 : 44,73 % and 40,14 % for the seventh sample of honey.

Key words: honey, physico-chemical parameters, pollinical analysis, antioxidant properties, lipid peroxidation.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد قدرة العسل على تثبيط اكسدة دهون بلازما الدم وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة لسبعة عينات منالعسل تم جمعها في مناطق متعددة من ولاية بجاية ومناطق من ولايات أخرى.تم أيضا تحديد خصائصهم الفيزيوكيميائية (الرطوبة الحموضة اللون البروتينات) تحديد اصولهم النباتية وكمية مضادات الاكسدة المحتواة فيهم .النتائج المتحصل عليها أظهرت ان معظم عينات العسل تتوافق مع المعايير وتشهد ان هذه العينات ذات جودة عالية مقارنة بالمعايير الدولية.تم أخذ عينات دم من أربعة متطوعين للقيام باختبار TBARS الذي يقوم بتقييم كمية MDA التي تسمح بمعرفة حدوث او عدم حدوث اكسدة الدهون.كما تم استعمال الفيتامين C في مكان العسل و تطبيق نفس الاختبار حتى تتم مقارنة النتائج و يتم توضيح نشاط العسل اكثر .النتائج المتحصل عليها في هذا الاختبار الأخير يظهر إمكانات عالية للعسل في معالجة اكسدة الدهون التي يحتويها بلازما الدم.

الكلمات المفتاحية: العسل، العوامل الفيزيائية والكيميائية، تحليل حبوب اللقاح، الخواص المضادة للأكسدة، بيروكسيد الدهون.