

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Fondamentale



Réf :

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

MASTER

Thème

**Analyses polliniques, composition chimique,
activités antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*
des miels et effet anti-brunissement enzymatique de
miel sur la banane**

Présenté par :

M^{lle} LAHBAS Souad & M^{lle} MILOUDI Sara

Soutenu le : **15 septembre 2022**

Devant le jury composé de :

M^{me} YOUS F.

MAB

Présidente

M^r OUCHEMOUKH S.

Professeur

Encadreur

M^{me} BENSALÉM S.

MCA

Examinatrice

M^{lle} SADOU D.

Doctorante

Invitée

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, Nous rendons grâce à Dieu, le tout puissant et le très miséricordieux de nous avoir donné la patience, la force et le courage de mener à terme ce travail.

*Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promoteur **Mr Ouchemoukh S.** pour son encadrement de qualité, pour l'assistance qu'il nous a témoigné, pour sa disponibilité, pour ses orientations, pour sa compréhension, pour les efforts qu'il avait consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, pour sa gentillesse et ces précieux conseils tout le long de notre mémoire sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme YOUS F.** et **Mme BENSALÉM S.** d'avoir accepté de juger ce travail. Recevez ici nos immenses gratitudee.*

*Un grand merci à **Mlle SADOU D.** et **Mlle GUENAWI N.** pour leurs orientations judicieuse, leurs qualités d'ordre et d'efficacité, pour leur disponibilité et pour tout le temps qu'elles ont consacré pour notre mémoire.
Votre aide est très précieuse pour nous.*

Un grand merci à nos familles et amis, pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous ont permis de chercher au plus profond fond de nous même la force, la volonté et la persévérance à même d'arriver à cet instant des plus importants de notre vie.

Dédicaces

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

*A ma mère et à mon père qui ont tout fait pour moi pour que je
réussisse dans ma vie et mes études. Un grand merci à vous.*

Que Dieu vous préserve toujours dans ce bas monde en bonne santé.

*A ma grand-mère et mes grand pères que dieu les accueille dans son
vaste paradis.*

*A mes très chères Sœurs: Zakia, Adja, Rachida, Ghania, Sabrina, Lila
et Nadja.*

A mes très chères Frères: Karim, Djalel et Lyes.

A mes belles sœurs et mes beaux frères

*A Toute ma famille sans exception, Oncles, Tantes, Cousins et
Cousines.*

*A mes amies chacune à son nom qui m'ont appuyé chacune de sa
manière*

A toute personne qui m'a aider de proche ou de loin.

Sara

Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail :

Spécialement à mon père en témoignage d'un profond amour, de grande reconnaissance et pour toutes les sacrifices qu'il a consentis pour mon éducation et mon bonheur

A ma chère mère pour ses sacrifices depuis qu'elle m'a mise au monde, à qui je dois énormément et qui a tant cru en moi

A mon très cher frère Karim

A mes très chères sœurs Farida et Samia

A ma belle sœur Kahina et mes beaux frères Djamel et Mourad

A mes très chers amis et amies

A tous ceux qui me sont chers.

Souad

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

ACP : Analyses en composantes principales

ANOVA: *Analysis of one variance*

BSA: *Bovin Serum Albumin*

COX-2: cyclooxygénase 2

CUPRAC: *The Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity.*

Da: Dalton

DO: densité optique

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EAG: Equivalent d'acide gallique

EBSA: Equivalent de Bovin Serum Albumin

EQ: Equivalent de quercétine

Fe²⁺: Fer ferreux

Fe³⁺: Fer ferrique

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power.

HMF: Hydroxyméthylfurfuraldéhyde

HPLC: *High performance liquid chromatography*

PPO: polyphénoloxydase

TCA: Acide trichloroacétique

TPTZ : Tripyridyletriazine

Tris-HCl : Trisaminométhane

Liste des figures

Figure 1: Photographie des échantillons de miels analysés.	10
Figure 2: Photographie de bananes utilisées.	11
Figure 3 : Photographies des grains de pollen des miels analysés.	22
Figure 4: pH des miels analysés.	23
Figure 5: Humidité des miels analysés.	24
Figure 6: Brix des miels analysés.	25
Figure 7: Teneurs en HMF des miels analysés.	28
Figure 8: Densités optiques des miels analysés.	27
Figure 9: Conductivités électriques des miels analysés.	26
Figure 10: Teneurs en protéines des miels analysés.	29
Figure 11: Teneurs en proline des miels analysés.	30
Figure 12: Teneurs en polyphénols des miels analysés.	31
Figure 13: Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.	32
Figure 14: Activité anti-radicalaire avec le radical DPPH des échantillons de miels.	34
Figure 15: Activité anti-radicalaire avec le radical ABTS des échantillons de miels.	35
Figure 16: Pouvoir réducteur des échantillons des miels.	39
Figure 17: Résultats du test au phosphomolybdate des échantillons de miels.	36
Figure 18: Résultats du test ferrozine des échantillons de miels.	40
Figure 19: Résultats du test CUPRAC des différents échantillons de miels.	37
Figure 20: Résultats du test FRAP des différents échantillons de miels.	38
Figure 21: Unités de brunissement des tranches de bananes traitées par des solutions de miels dilués à 10 % et celles de miels non dilués à 30 °	43
Figure 22: Unités de brunissement des tranches de bananes traitées par des solutions de miels dilués à 10 % et celles de miels non dilués à 4 °C.	43
Figure 23 : Photographies de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels locaux M1 et M2 à 30 °C et à 4 °C pour des tranches de bananes.	45
Figure 24: Photographies de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels M1 et M2 dilués à 10 % à 30 °C et à 4 °C pour des bananes complètes	46
Figure 25: ACP des paramètres physicochimiques, activité antioxydante et activité anti-inflammatoire.	55
Figure 26: Différents groupes des échantillons de miel.	55

Liste des tableaux

Tableau I : Présentation des échantillons de miels analysés.	10
Tableau II : Spectres polliniques et pourcentages de pollens de miels analysés.....	22
Tableau III : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par les échantillons de miels.....	41
Tableau IV : Corrélations couleur, paramètres physicochimiques, teneur en antioxydants et activité antioxydante.	49
Tableau V : Corrélations activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires.....	49
Tableau VI : Corrélations des activités anti-oxydantes et anti-brunissement enzymatique.....	50

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel

I.Définition	2
II.Composition	2
II.1 Glucides	2
II.2 Eau.....	2
II.3 Acidité et pH.....	2
II.4 Protéines et acides aminés	3
II.5 Sels minéraux.....	3
II.6 Hydroxyméthylfurfural (HMF).....	3
II.7 Composés aromatiques et phénoliques	3
II.8 Constituants divers	4
III. Origine de miel	4
III.1 Nectar	4
III.2 Miellat	4
IV. Différents types de miels.....	5
IV.1 Miels monofloraux.....	5
IV.2 Miels multifloraux	5

Chapitre II : Propriétés biologiques de miel

I. Activité antioxydante.....	6
II. Activité anti-inflammatoire	7
III. Activité anti-brunissement enzymatique	8

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Echantillonnage.....	10
II. Analyses polliniques.....	11
III. Analyses physicochimiques	12
III.1 Potentiel hydrogène (pH).....	12
III.2 Humidité et brix	12
III.3 Conductivité électrique.....	12

III.4 Couleur	13
III.5 Dosage d'Hydroxyméthylfurfural	13
III.6 Dosage des protéines	13
III.7 Dosage de la proline	14
IV. Dosage des antioxydants	14
IV.1 Polyphénols	14
IV.2 Flavonoïdes	15
V. Etude de l'activité antioxydante.....	15
V.1 Activités anti-radicalaires	15
V.1.1 Test du DPPH.....	15
V.1.2 Test de ABTS.....	16
V.2 Test au phosphomolybdate	16
V.3 Test de CUPRAC	17
V.4 Test de FRAP	17
V.5 Pouvoir réducteur	17
V.6 Pouvoir chélateur de fer.....	18
VI. Étude de l'activité anti-inflammatoire	19
VI.1 Inhibition de la dénaturation de BSA (Bovin Serum Albumin).....	19
VII. Étude de l'activité anti brunissement enzymatique	19
VIII. Analyses statistiques	20
Chapitre II : Résultats et discussion	
I. Analyses polliniques	21
II. Analyses physicochimiques.....	23
II.1 Potentiel hydrogène (pH).....	23
II.2 Humidité	24
II.3 Brix	25
II.4 Conductivité électrique.....	26
II.5 Couleur	27
II.6 Teneur en HMF.....	28
II.7 Teneur en protéines	29
II.8 Teneur en proline	30
III. Teneurs en antioxydants	31
III.1 Polyphénols	31
III.2 Flavonoïdes.....	32
IV. Etude de l'activité antioxydante.....	33
IV.1 Activités anti-radicalaires.....	33

IV.1.1	Activité anti-radicalaire par le DPPH	33
IV.1.2	Pouvoir anti-radicalaire par ABTS.....	34
IV.2	Test au phosphomolybdate	35
IV.3	Test de CUPRAC.....	36
IV.4	Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	37
IV.5	Pouvoir réducteur.....	39
IV.6	Pouvoir chélateur de fer	40
V.	Etude de l'effet anti-inflammatoire	41
VI.	Etude de l'activité anti-brunissement enzymatique.....	42
VII.	Analyses Statistiques	47
VII.1	Corrélations	47
VII.1.1	Corrélations couleur, paramètres physicochimiques, teneur en antioxydants et activité antioxydante.....	47
VII.1.2	Corrélations activités antioxydante et anti-inflammatoire.....	50
VII.1.3	Corrélations entre les antioxydants et les activités antioxydante et anti-brunissement enzymatique.....	52
VII.2	ACP des paramètres physicochimiques, activité antioxydante et activité anti-inflammatoire.....	54
	55
	Conclusion et perspectives	56
	Références biobibliographiques.....	58

Annexes

Introduction

Introduction

Le miel est une substance complexe produite par les abeilles *Apis mellifera* (**Mendes et al., 1998**). Il est composé essentiellement de glucides et d'eau ainsi que de composés minoritaires: polyphénols, vitamines, minéraux, diverses protéines et acides aminés et les grains de pollen qui déterminent le type du miel (monofloral ou polyfloral) (**Missio da Silva et al., 2016**). Plusieurs vertus sont attribués au miel grâce à leurs propriétés biologiques (activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité anti-brunissement...) (**Biluca et al., 2020**).

Tous les pays méditerranéens sont propices à l'apiculture. La diversité de la flore algérienne et la douceur relative du climat permettent dans certaines régions des miellées successives s'étalant sur une grande partie de l'année. Au cours des 10 dernières années en Algérie, la production de miel a presque doublé, atteignant 74 420 quintaux par an, malgré ça ses importations proviennent de plusieurs pays du monde (**Berenice, 2020**).

Pour certains consommateurs, la qualité des miels naturels locaux est bonne par rapport à ceux importés qui sont exposés aux risques de fraude et à la mauvaise préservation de la qualité des miels. Est-ce que ce regard des consommateurs envers les miels locaux et importés est correct? Si c'est vrai, où se situe la différence entre ces miels d'un point de vue composition chimique et propriétés biologiques?

Ce travail vise à déterminer d'une part les profils polliniques, les paramètres physico-chimiques (pH, humidité, conductivité électrique et teneurs en HMF, proline et protéines), les activités antioxydante et anti-inflammatoire des miels locaux (Timezrit et Beni-Maouche) tout en comparant avec des miels d'importation et d'autre part l'activité anti-brunissement enzymatique des miels locaux sur la banane.

Cette étude est divisée en deux parties:

- Dans la première partie, les différentes connaissances bibliographiques sur la composition chimique, les caractéristiques physico-chimiques, les activités antioxydante, anti-inflammatoire et anti-brunissement de miel sont présentées.
- La deuxième partie renferme le matériel d'étude, les méthodes analytiques et l'interprétation des résultats obtenus.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur le miel

Chapitre I : Généralités sur le miel

I. Définition

La Commission du Codex Alimentarius (2001) a défini le miel comme étant la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou des sécrétions de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur elles par des insectes suceurs, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche

II. Composition

II.1 Glucides

Les glucides sont les principaux constituants du miel. Ils représentent environ 95 % de la matière sèche du miel. Les sucres principaux sont les monosaccharides glucose et fructose qui sont les produits de l'hydrolyse du saccharose sous l'action de l'invertase (Gonnet, 1982). Par ailleurs, environ 25 sucres différents sont détectés tels que : l'isomaltose, le turanose, le maltulose, le kojibiose, leucrose, le nigérose, kestose, le dextrantriose...etc (Siddique *et al.*, 1967).

II.2 Eau

La teneur en eau du miel est l'une des caractéristiques les plus importantes car elle conditionne sa qualité et notamment son mode de conservation. Les miels possédants plus de 21% d'eau sont de basse qualité et fortement exposés à des risques de fermentation (Louveaux, 1976). L'humidité de miel varie selon l'origine botanique et géographique du nectar, le sol et les conditions climatiques (Machado De- Melo *et al.*, 2018).

II.3 Acidité et pH

La teneur en acide du miel est relativement faible. La plupart des acides sont ajoutés par les abeilles ouvrières (Echigo *et al.*, 1974).

L'acide principal du miel est l'acide gluconique, produit de l'oxydation du glucose par la glucose oxydase. Les acides suivants sont trouvés en petites quantités : les acide formiques, acétique, citrique, lactique, maléique, malique, l'acide oxalique, pyroglutamique et succinique (Mato *et al.*, 2003).

La plupart des miels sont acides, c'est-à-dire que le pH est inférieur à 7. Le pH des miels de fleurs varie entre 3,3 et 4,6 ; les miels de miellat, en raison de leur teneur en minéraux plus élevée, ont une valeur de pH plus élevée, variant entre 4,5 et 5,5 (Bogdanov, 2016).

II.4 Protéines et acides aminés

Les protéines et les acides aminés représentent une faible portion dans le miel. Le nectar et le pollen des végétaux sont en grande partie à l'origine de ces composés. Les autres sources des protéines du miel proviennent des sécrétions salivaires et enzymes (amylase, catalase, glucose-oxydase) incorporées par l'abeille au cours de l'élaboration du miel (Aurongzeb et Azim, 2011). Le miel contient presque tous les acides aminés physiologiquement importants dont le principal est la proline qui renseigne sur la maturité et l'authenticité d'un miel (Perez *et al.*, 2007).

II.5 Sels minéraux

Les miels de fleurs contiennent 0,1 à 0,35 g de sels minéraux et d'oligo-éléments. La substance minérale principale est le potassium. Au début, la teneur en minéraux était déterminée comme un critère de qualité du miel. Aujourd'hui, cette mesure est remplacée par la détermination de la conductivité électrique (Morse *et al.*, 1980).

Les études montrent qu'il existe une relation entre la couleur de miel et sa teneur en cendres. D'une manière générale, les miels clairs sont nettement moins riches en cendres que les miels foncés (Bogdanov *et al.*, 1997).

II.6 Hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'HMF est l'abréviation usuelle du 5-HydroxyMéthyl-2-Furfural. Sous cette dénomination se cache un aldéhyde aromatique isolé pour la première fois en 1832, que l'on synthétise à partir du fructose obtenu à partir de produits agricoles. La formation d'HMF provient d'une dégradation lente du fructose et du glucose lesquels, en milieu acide, se décomposent et libèrent trois molécules d'eau (Mazrou, 2008).

Dans le miel frais, il n'est présent qu'à l'état de traces et sa concentration augmente avec le stockage et le chauffage prolongé du miel. Dans le cas d'un stockage normal, les valeurs HMF enregistrent annuellement une augmentation d'environ 5 à 10 mg/par kg. Dans le cas d'un stockage au chaud et lors de la fonte à des températures plus élevées (50 à 70° C), la teneur en HMF augmente plus rapidement (Subramanian *et al.*, 2007).

II.7 Composés aromatiques et phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales (Andersen et Markham, 2006). Ouchemoukh *et al.* (2017) a rapporté la présence de plus de 30 composés phénoliques dans les miels Algériens dont 12 acides phénoliques et 16 flavonoïdes.

II.8 Constituants divers

A coté des constituants principaux qui sont énumérés, le miel contient aussi d'autres constituants tels que les lipides et les vitamines qui sont présents en très faible quantité, les grains de pollen, les grains d'amidon, les caroténoïdes, les substances aromatiques, poussières minérales, les champignons, des levures (*Saccharomyces*, *Torula*...), des algues unicellulaires et des bactéries (spores de genre *Bacillus*) (Gonnet, 1982 ; Lochhead, 1933 et Schivre, 2006).

III. Origine de miel

Le miel est une substance élaborée par les abeilles à partir des sucres produits par des végétaux, il y a essentiellement deux types de productions sucrées exploitées par les abeilles : le nectar et le miellat (Gonnet et Vache, 1985).

III.1 Nectar

Les abeilles butinent le nectar des fleurs qui est constitué d'eau sucrée (80 % d'eau et environ 20 % de sucre). La transformation du nectar en miel repose sur le principe de la trophallaxie c'est-à-dire l'échange de la nourriture d'une bouche d'abeille ouvrière à une autre. Le passage du nectar d'abeille en abeille par suite de régurgitation et d'absorption va permettre sa concentration. De plus, les abeilles incorporent au nectar des sécrétions de leurs glandes salivaires riches en ferments, en diastases (amylases principalement) qui vont transformer les polysaccharides du nectar en sucres simples. Le miel ainsi obtenu est entreposé dans les alvéoles où il s'affine : c'est la maturation. Un peu d'eau va encore être éliminée grâce la ventilation effectuée par les ailes des abeilles. Toutes ces étapes ont en fait permis d'inverser les proportions en sucre et en eau du nectar en miel (Gonnet et Vache, 1985).

III.2 Miellat

Le miellat est un produit plus complexe que le nectar faisant intervenir un intermédiaire, généralement un puceron, qui pique le végétal, se nourrit de sa sève et rejette l'excédent de matières sucrées sous forme de gouttelettes que les abeilles récupèrent sur les feuilles des plantes qui hébergent les pucerons, souvent des arbres tels que les sapins, les épicéas, les chênes, les érables et les tilleuls mais aussi les plantes herbacées (Gonnet, 1982).

IV. Différents types de miels

IV.1 Miels monofloraux

Théoriquement, un miel monofloral est un miel naturel provenant principalement d'une seule espèce florale déterminée (**Bogdanov *et al.*, 2004**). Cependant, lorsque la proportion des grains de pollens d'une seule plante représente plus de 45 % de l'ensemble du pollen, le nom de cette plante est donné au miel (**Bonté *et* Desmoulière, 2013**).

IV.2 Miels multifloraux

Les miels multifloraux sont des miels provenant du nectar de plusieurs espèces de fleurs (miel de toutes fleurs) sans dominance nette d'une plante particulière (**Barbara, 2009**).

Chapitre II :
Propriétés biologiques de
miel

Chapitre II : Propriétés biologiques de miel

I. Activité antioxydante

Le processus métabolique génère des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les radicaux libres en excès provoquent un déséquilibre connu sous le nom de stress oxydatif qui se déroule entre les systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques de l'organisme. Il est responsable de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN et les protéines (Aljadi et Kamaruddin, 2004 ; Goodarzi et Khosravi, 2013) et peuvent favoriser des maladies comme l'athérosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, la dégénérescence musculaire, l'altération de la cicatrisation de la plaie et les maladies inflammatoires gastro-intestinales. À l'inverse, les antioxydants luttent contre le stress oxydatif en neutralisant ces radicaux libres (Ames *et al.*, 1993 ; Meda *et al.*, 2005).

Le miel est une source naturelle en antioxydants qui sont efficaces pour la réduction des risques de ces maladies par la désactivation des espèces réactives oxygénées (Meda *et al.*, 2005). Le système antioxydant du miel se base sur des antioxydants enzymatiques comme la glucose-oxydase, la catalase et la peroxydase ; les antioxydants non-enzymatiques comme l'acide ascorbique, les polyphénols, les caroténoïdes, les acides organiques, les acides aminés et les protéines (Linkon *et al.*, 2015 ; Özcan et Al Juhaimi, 2016).

L'activité antioxydante du miel dépend essentiellement de sa nature quantitative et qualitative des antioxydants qu'il contient. La présence de cofacteurs comme le sélénium, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse est très importante pour avoir une activité optimale des enzymes antioxydants qui catalysent les réactions de neutralisation des radicaux libres (Ouchemoukh, 2012).

Les composés phénoliques sont des antioxydants anti-radicalaire capables de piéger les radicaux libres tels que le radical superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Hossain *et al.*, 2016 ; Hwang *et al.*, 2016). Ils ont aussi la capacité à inhiber la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique en cédant leurs atomes d'hydrogène (H^+) aux radicaux peroxydes (LOO^-) pour former des radicaux plus stables ($LOOH$) (Kähkönen *et al.*, 1999).

Les antioxydants préventifs tels que les protéines, l'acide ascorbique et les acides organiques empêchent la formation des radicaux libres par chélation des ions métalliques, comme le cas des piègeurs d'oxygène singulet (1O_2) (Genot *et al.*, 2004).

II. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus naturel et protecteur résultant d'une agression (blessure, infection, allergie). Elle a pour objectif de reconnaître, détruire et éliminer toutes les substances qui lui sont étrangères par l'intervention de tous types de cellules phagocytaires (macrophages et polynucléaires neutrophiles) qui provoque la libération de radicaux libres qui activent le facteur de transcription nucléaire NFκB (un marqueur important de l'inflammation). Ce marqueur active les gènes codant pour des molécules pro-inflammatoire (COX-2 et interleukines) qui stimulent par la suite la production de cytokines amplifiant la réponse inflammatoire (Cho *et al.*, 2011 ; Fautrel et Cherin, 2000 ; Magné *et al.*, 2004 ; Zeghal et Sahnoun, 2013).

Avoir une inflammation n'est pas quelque chose d'agréable et les symptômes (rougeurs, chaleur, gonflements, douleurs) peuvent déranger. Cependant, il existe de nombreux trésors de la nature aux propriétés anti-inflammatoires qui peuvent soulager la douleur tels que le miel qui est considéré comme un remède précieux pour le traitement de l'inflammation (Franty, 1984 ; Hayet, 2005).

Des études cliniques ont montré que le miel exerce une activité anti inflammatoire sur les réactions d'inflammations en réduisant le gonflement localisé, la rougeur, la douleur et la chaleur. Cette activité anti-inflammatoire du miel est due à la présence des antioxydants qui inhibent la synthèse des prostaglandines qui sont responsables des symptômes associés à l'inflammation (Bean, 2012).

Les composés phénoliques ont la capacité de neutraliser de façon significative les radicaux libres impliqués dans les voies de signalisation du processus inflammatoire, ce qui provoque l'inhibition de la cyclooxygénase 2 (COX-2), la suppression des médiateurs pro-inflammatoires (les cytokines et les chimiokines) et la réduction de nombre des neutrophiles. Les antioxydants inhibent l'activation du NFκB ce qui réduit l'inflammation (Kassim *et al.*, 2010 ; Rao *et al.*, 2016).

Le miel contient la glucose-oxydase qui est une enzyme responsable de la production du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et elle convertit le glucose en acide gluconique, ce qui augmente l'acidité de miel et diminue le risque d'infection (Adams *et al.*, 2008 ; Bang *et al.*, 2003 ; Weston, 2002).

La chryisine du miel provoque la diminution de l'expression de la COX-2 par l'inhibition de la synthèse du facteur nucléaire de cette enzyme pro-inflammatoire (**Woo *et al.*, 2005**).

III. Activité anti-brunissement enzymatique

Le brunissement enzymatique est une oxydation catalysée par la polyphénoloxydase (1,2 benzènediol ; oxygène oxydoréductase, EC.1.10.3.1), notée PPO, en présence de l'oxygène contenu dans les composés phénoliques endogènes des fruits et légumes (**Ensminger *et al.*, 1995**).

Les PPO sont répandus dans la nature. Elles se trouvent majoritairement dans le cytoplasme des fruits mûrs et dans les plastides des plantes (**Vaughn et Duke, 1984**) ou elles jouent un rôle de résistance contre les infections microbiennes et virales qui touchent les végétaux (**Martinez et Whitaker, 1995**). Les polyphénoloxydases catalysent l'oxydation des composés phénoliques, qui ont des propriétés antifongiques, en quinones de couleur jaune qui sont bactéricides et fongicides. Ces quinones vont se polymériser pour former des polymères bruns insolubles (**Friedman, 1997**).

Le brunissement enzymatique est considéré comme un mécanisme de défense chez les végétaux qui impliquent les PPO et les polymères bruns formés représente une barrière qui limite la prolifération de l'infection et l'altération des tissus de la plante grâce à leurs propriétés antimicrobiennes (**Zawistowski *et al.*, 1991**).

Les PPO utilise l'oxygène moléculaire comme co-substrat. Elles catalysent l'oxydation des polyphénols selon deux réactions en fonction du substrat :

- Hydroxylation en position ortho d'un substrat monophénolique (activité monophénoloxydase, crésolase ou tyrosinase);
- Oxydation d'un diphénol en benzoquinone (activité diphénoloxydase, également appelée laccase et spécifiquement catécholase lorsqu'il s'agit o-diphénol) (**Nicolas *et al.*, 1994**).

Les polyphénoloxydases sont divisées en plusieurs sous-groupes, tels que :

- 1- Les monophénoloxydases ou monooxygénases catalysent l'hydroxylation des monophénols en o-diphénols (**Varoquaux, 1978**).
- 2- Les catécholases ou catécholoxydases catalysent l'oxydation des substrats o-diphénoliques en o-quinones en présence d'oxygène.

3- Les laccases catalysent l'oxydation des substrats phénoliques en radicaux semi-quinone, cette réaction s'accompagne par la réduction de l'oxygène en eau **(Reinhammar et Maimstrom, 1981)**.

Les composés phénoliques se trouvent dans les vacuoles et lorsqu'elles sont rompues par la coupe, le tranchage ou le broyage, les PPO cytoplasmiques sont mis en contact avec ces substrats phénoliques en provoquant le brunissement enzymatique. L'intensité de brunissement dépend essentiellement de la quantité de PPO active dans les tissus, la teneur en polyphénols, pH, la température et de la disponibilité en oxygène.

L'inhibition de brunissement enzymatique nécessite l'élimination des composés responsables de ce brunissement :

- L'élimination de l'oxygène à la surface des fruits et légumes par immersion dans l'eau ou du sirop pour retarder le brunissement enzymatique.
- L'utilisation des agents chélateurs de cuivre pour empêcher l'activation de site actif de la PPO qui est indispensable à la catalyse enzymatique.
- L'inactivation des PPO par des traitements thermiques **(Nicolas et Billaud, 2006)**.

Le miel a été étudié pour son activité antioxydante et ses applications potentielles comme un agent anti-brunissement naturel dans les applications alimentaires. La fonction antioxydante du miel est attribuée par sa composition en flavonoïdes et en acides phénoliques. La teneur en antioxydants de miels est influencée par sa région géographique et la source florale **(Chen *et al.*, 2000 ; Gheldof *et al.*, 2002)**.

Les enzymes du miel peuvent agir comme des antioxydants en favorisant l'élimination de l'oxygène. Le miel exerce un effet inhibiteur sur l'activité de la PPO dans les raisins blancs et pommes fraîchement coupées. Un peptide de 600 Da contenu dans le miel est un inhibiteur non-compétitif de la PPO qui chélate le cuivre essentiel pour l'activation du site actif de cette enzyme **(Oszmianski et Lee, 1990)**. Il inhibe l'oxydation enzymatique des polyphénols, et convertit également une partie des quinones en polyphénols **(Robards *et al.*, 1999)**.

Partie
expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Echantillonnage

La présente étude a porté sur cinq échantillons de miels différents (figure 1). Les deux premiers (M1 et M2) sont des miels locaux récoltés en 2021 et les autres échantillons (M3, M4 et M5) sont des miels d'importation (tableau I).

Tableau I : Présentation des échantillons de miels analysés.

Echantillon	Etat	Origine géographique	Couleur
M1	Liquide	Beni Maouche	Marron foncé
M2	Cristallisé	Timezrit	Jaune clair
M3	Liquide	Importé	Marron Clair
M4	Liquide	Importé	Marron foncé
M5	Liquide	Importé	Marron



Figure 1: Photographie des échantillons de miels analysés.

Des bananes ayant presque le même poids (Annexes 01) sont achetées le même jour de leur utilisation au laboratoire afin d'étudier l'effet anti-brunissement enzymatique (Figure 2).



Figure 2: Photographie de bananes utilisées.

II. Analyses polliniques

L'analyse pollinique est considérée comme étant une méthode efficace pour la recherche et l'identification de l'origine botanique d'un échantillon de miel. Deux types d'analyses polliniques sont effectués : une analyse qualitative qui consiste à déterminer la nature des pollens présents dans l'échantillon de miel et une analyse quantitative pour déterminer la quantité de ces pollens (**Louveaux *et al.*, 1978**).

La classification s'effectue selon le pourcentage suivant : les pollens dominants (≥ 45 %), les pollens d'accompagnements (15 - 45 %), les pollens minoritaires (3 - 15 %) et les pollens très minoritaires (≤ 3 %) (**Ouchemoukh, 2012**).

La méthode utilisée pour l'analyse pollinique est celle décrite par la commission internationale de botanique apicole (**Louveaux *et al.*, 1978**). Une quantité de 10 g de miel est dissoute dans 20 ml d'eau distillé. La solution obtenue est centrifugée pendant 10 min à 4500 tours/min. Le surnageant obtenu est éliminé et le culot est additionné à dix ml d'eau distillée puis centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions et le surnageant est encore éliminé. Le culot est récupéré et étalé sur une lame en verre, puis recouvert par une lamelle. Les lames sont examinées sous microscope photonique au grossissement x 40.

Les grains de pollens sont identifiés en se référant à une banque de données de laboratoire de CETAM (Centre d'Etudes Techniques Apicoles de Moselle, France).

III. Analyses physicochimiques

Les analyses physico-chimiques ont concerné la mesure du pH, de la couleur, de la conductivité électrique, et la détermination des teneurs en eau, en HMF, en protéines et en proline.

III.1 Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est mesuré selon la méthode rapportée par Bogdanov *et al.* (1997) à l'aide d'un pH-mètre de type Ph213–HANNA sur une solution de miel à 10 %. Une quantité de 2,5 grammes de miel est pesée et dissoute dans 25 ml d'eau distillée. La solution est bien mélangée et homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique, l'électrode du pH mètre est immergée dans cette solution, et le pH est lu directement sur l'appareil.

III.2 Humidité et brix

La teneur en eau des échantillons de miel est déterminée par la mesure de l'indice de réfraction à 20° C à l'aide d'un réfractomètre de type Abbé, selon la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). Une goutte de miel est déposée et étalée sur le prisme de l'appareil préalablement étalonné avec de l'eau distillée. Avec bouton de réglage, la limite de séparation des deux zones (une claire et une obscure) est emmenée dans le champ de vision. La ligne de séparation est ajustée à l'intersection du réticule avant de lire directement l'indice de réfraction sur l'échelle du bas et le Brix sur l'échelle du haut. Les indices de réfraction sont convertis selon la table de Chataway (Annexe 02) en teneur en eau.

III.3 Conductivité électrique

La conductivité électrique est déterminée selon la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). Une quantité du miel (M) est homogénéisée dans 25 ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (0,4 µS cm⁻¹) pour avoir une solution du miel de 20 % (p/v).

La valeur de la conductivité électrique est lue sur un conductimètre et les résultats sont exprimés en Ms cm⁻¹:

$$M = \frac{5 \times 100}{MS}$$

$$\text{CE (milli siemens cm-1)} = \text{Valeur mesurée} - [(\text{valeur mesurée} \times 0,032) \times (T^\circ - 20^\circ \text{C})]$$

M : Quantité du miel a pesée. **MS** : Teneur en matière sèche du miel. **CE** : Conductivité Electrique.
0,032 : Facteur de correction. **T°** : Température ambiante de la mesure en °C.

III.4 Couleur

La couleur de miel est déterminée selon la méthode décrite par Bogdanov *et al.* (1997). Un gramme de miel est dissout dans 4ml d'eau distillée. La solution est mélangée et homogénéisée avec un agitateur magnétique. L'absorbance est lue à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

III.5 Dosage d'hydroxyméthylfurfural (HMF)

Les teneurs en Hydroxyméthylfurfural (HMF) sont déterminées par la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). Une quantité de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Un volume de 1 ml d'hexacyanoferrate II de potassium (solution de Carrez I à 15 %) et 1 ml d'acétate de zinc (solution de Carrez II à 30 %) sont ajoutés. Puis, le volume est ajusté avec de l'eau distillée dans une fiole de 50 ml ensuite les premiers 10 ml sont éliminés. La solution est filtrée avec du papier wattman.

Un volume du 5 ml du filtrat est mélangé avec 5 ml de la solution de sodium bisulfite (0,2 %) et le même volume du filtrat est mélangé avec 5 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, l'absorbance est lue à 286 nm et à 336 nm.

La teneur en HMF est calculée par l'équation suivante :

$$\text{HMF (mg/kg)} = (A_{286} - A_{336}) \times 149,7 \times 5/m$$

A₂₈₄: absorbance a 284nm.

A₃₃₆: absorbance à 336 nm.

149,7 : constante.

m: masse en gramme de l'échantillon de miel.

5 : poids nominal théorique de l'échantillon.

III.6 Dosage des protéines

La méthode de Bradford est une méthode de dosage colorimétrique utilisée pour la mesure de la concentration en protéine. Ce dosage utilise le principe d'absorption du bleu de Coomassie G 250 qui se fixe sur le groupement NH³⁺ des acides aminés des protéines (arginine, tyrosine, tryptophane, histidine et phénylalanine) et donne une couleur bleue au milieu réactionnel (Bradford, 1979).

Un volume de 0,1 ml de solution de miel (50 %, p/v) et 5 ml du réactif de Bradford sont mis dans un tube à essai. Après 2 min, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 595 nm.

La teneur en protéines est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec un standard qui est le sérum albumine bovine (BSA) (Annexe 3, figure 1). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de BSA par 100 g de miel (mg EBSA/100 g) ($y = 1,026x + 0,067$ $R^2 = 0,999$) (Azeredo *et al.*, 2003).

III.7 Dosage de la proline

Le principe de dosage de la proline est basé sur l'action de la ninhydrine sur la proline en milieu acide pour donner une coloration dont le maximum d'absorbance est situé entre 500 et 520nm. L'intensité de coloration est liée à la quantité de proline et indique la maturité et la conformité du miel. Son taux diminue significativement lorsqu'une falsification est apportée au miel par un ajout de sucres (Lokossou *et al.*, 2017).

Le dosage de la proline est réalisé d'après la méthode Bogdanov *et al.* (1997). Un volume de 1 ml d'acide formique et 1 ml de la ninhydrine (3 %) sont ajoutés à 5ml d'une solution de miel (5 %). Le blanc contient tous ces réactifs sauf la solution de miel qui est remplacée par l'eau distillée. Les tubes sont bien fermés et placés dans un bain-marie agitateur pendant 20 min à 95 °C. Ensuite, ils sont placés pour une autre fois dans un bain-marie à 75 ° C pendant 10 min. Un volume de 5 ml de 2-propanol (50 %) sont ajoutés à chaque tube. La lecture est faite après 45 min d'incubation à 510 nm. Le dosage de la proline se fait par rapport à une solution standard qui a subi le même protocole et les concentrations sont calculées selon la formule suivante :

$$\text{Proline (mg/kg)} = (\text{Ae} \times \text{M}_1 \times 80) / (\text{Ap} \times \text{M}_2)$$

Ae : absorbance de l'échantillon de miel. **M₁**:mg de proline pour la solution standard.

M₂: quantité de miel. **Ap** : absorbance de la solution standard de la proline. **80** : facteur de dilution.

IV. Dosage des antioxydants

IV.1 Polyphénols

La méthode de Folin-Ciocalteu est considérée comme étant la meilleure méthode pour la quantification des polyphénols (Spignon *et al.*, 2007). Le principe de cette méthode repose sur la capacité du phénol à réduire le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune constitué des acides phosphotungstiques ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolybdiques ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) en milieu alcalin en un mélange de tungstène et de molybdène de couleur bleue. La couleur bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans l'échantillon analysé (Ribéreau-gayon *et al.*, 1982).

La teneur en polyphénols totaux de miel est déterminée selon la méthode de Folin Ciocalteu rapportée par Naithani *et al.* (2006). Un volume de 100 µl de la solution de miel (10 %) est additionné de 100 µl de réactif de Folin Ciocalteu (50 %) et de 2 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃, 2 %). L'absorbance est lue à 750 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité.

La teneur en polyphénols est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe 3, figure 2), les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 grammes de miel (mg GAE/100g), ($y=3,71x+0,06$; $R^2 = 0,989$).

IV.2 Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon la méthode de Al *et al.* (2009). Un volume de 1 ml de solution de miel (50 %, p/v) est mélangé avec 0,3 ml de nitrite de sodium (NaNO₂, 5 %, p/v). Après 5 min, 0,3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 10 %, p/v) y sont ajoutés. Six minutes plus tard, 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH, 1M) y sont additionnés aussi. La lecture est faite à 510nm après l'homogénéisation de la solution. La teneur du miel en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (Annexe 3, figure 3). Les résultats sont exprimés en mg EQ/100 g de miel, ($y=0,368x+0,001$; $R^2 = 0,986$).

V. Étude de l'activité antioxydante

V.1 Activités anti-radicalaires

V.1.1 Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le test du DPPH mesure l'activité antioxydante des composés qui peuvent transférer un proton qui se fixe au radical DPPH. De couleur violette foncée, cette réaction provoque une diminution de l'intensité de la couleur en présence d'antioxydants (Doukani *et al.*, 2014 ; Gulcin *et al.*, 2003).

Un volume de 500 µl de solution du miel (2,5 %, m/v) est mélangé avec 1 ml de la solution éthanolique de DPPH (6×10^5 M). Après 15 min d'incubation, la lecture de l'absorbance est faite à 517 nm et le pourcentage de réduction est calculé selon la formule suivante (Meda *et al.*, 2005).

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = (A_C - A_E / A_C) * 100$$

Abs_c : absorbance du contrôle. **Abs_e** : absorbance de l'échantillon. **Contrôle** : 1 ml DPPH. **Blanc** : 1 ml éthanol.

V.1.2 Test de ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

Le principe du test d'ABTS est basé sur la diminution de l'absorbance à 734 nm du radical cationique ABTS^{•+} de couleur bleu-vert en présence d'un composé potentiellement anti-radicalaire qui le réduit en un radical ABTS, ce qui provoque une décoloration de la solution (**Re et al., 1999**).

Le protocole utilisé est celui décrit par Re *et al.* (1999). Le radical cation ABTS^{•+} est généré en mélangeant le persulfate de potassium (K₂S₂O₈, 2,45 X 10⁻³ M) avec le radical ABTS (7 X 10⁻³ M) dans de l'eau distillée. Le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 16 h avant utilisation.

La solution obtenue est diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700. Un volume de 1 ml de cette solution fraîchement préparée est ajouté à 800 µl de la solution de miel (2,5 %, m/v). Après 7 min d'incubation, la lecture est faite à 734 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition d'ABTS (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

A_C : absorbance du contrôle. **A_E** : absorbance de l'échantillon.

V.2 Test au phosphomolybdate

Le test au phosphomolybdate est basé sur la réduction de l'ion molybdate Mo⁺⁶ en ion molybdène Mo⁺⁵ en présence des antioxydants du miel et formation subséquente d'un complexe phosphate de molybdène de couleur bleu-vert à pH acide (**Habib et al., 2014**).

Un volume de 50 µl de la solution du miel (0,5 %, m/v) est ajouté à 1 ml du réactif de phosphomolybdate (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Après incubation dans un bain marie à 90 °C pendant 90 min et après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est lue à 695 nm contre un blanc. L'acide gallique est utilisé comme un standard (Annexe 3, figure 4). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 100 g du miel ($y = 3,695x - 0,003$; $R^2 = 0,997$) (**Mcanalley et al., 2003**).

V.3 Test de CUPRAC (The Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

Le test de CUPRAC mesure l'activité antioxydante des composés qui peuvent réduire le cuivre en présence de néocuproïne pour former le complexe néocuproïne (Nc)-ions cuivrique $[\text{Nc}_2\text{-Cu}^{2+}]$. Cette méthode est basée sur le suivi du changement de l'absorbance de ce complexe (**Apak *et al.*, 2004**).

Une quantité de 150 μl de chaque dilution des échantillons de miel (2,5 %) est mélangée avec 300 μl de solution de chlorure de cuivre (II) CuCl_2 (0,01 M), 300 μl de la solution alcoolique de néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline) (7,5 mM), 300 μl de tampon aqueux d'acétate d'ammonium (1 M, pH = 7) et 150 μl de l'eau distillée. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est lue à 450 nm (**Reşat *et al.*, 2007**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 100 g de miel ($y=15,27x+0,030$; $R^2 = 0,996$) (Annexe 3, figure 5).

V.4 Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le complexe ferrique 2, 4, 6 – tripyridyl-1,3,5-striazine (Fe^{3+} - TPTZ) est réduit en sa forme ferreux (Fe^{2+} -TPTZ). La réaction de Fe^{2+} avec le TPTZ forme une couleur bleu-violette en présence des antioxydants, avec un maximum d'absorbance à 593 nm (**Alvarez -suarez *et al.*, 2010**).

Un volume de 0.5 ml de la solution de miel à 2,5 % est mélangé avec 0,75 ml de la solution de FRAP. La solution est incubée pendant 5 minutes à 37 °C puis l'absorbance est lue à 593 nm. Les valeurs sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe 3, figure 6) (**Alvarez -suarez *et al.*, 2010**).

V.5 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des échantillons du miel est déterminé selon une méthode qui est basée sur la réduction de chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) par les antioxydants en donnant une couleur verte, dans un milieu acide en présence de l'acide trichloracétique (TCA) et un agent chromogène (hexanocyanoferrate de potassium) (**Gulcin *et al.*, 2005**).

Le protocole de Li et lin (**2010**) est utilisé pour évaluer le pouvoir réducteur des échantillons du miel. Un volume de 500 μl de la solution du miel (2,5 %, m/v) est ajouté et homogénéisé avec un volume de 500 μl de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) et 500 μl de potassium hexanocyanoferrate (1%, p/v).

L'ensemble est incubé au bain marie à 50 °C pendant 20 min. Ensuite 500 µl de trichloroacetate (10 %, p/v) sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 5 min de repos, un prélèvement d'un volume de 500 µl de ce mélange est fait, puis un volume de 800 µl d'eau distillée et 100 µl de chlorure ferrique (0,1 %, p/v) sont additionnés. Après 10 min, la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 700 nm contre un blanc préparé en remplaçant le miel par de l'eau distillée. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 1,682x - 0,034$; $R^2 = 0,990$) (Annexe 3, figure 7).

V.6 Pouvoir chélateur de fer

La capacité chélatrice des miels est déterminée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe²⁺ ferrozine après leur incubation avec le fer divalent. Les molécules de ferrozine forment des complexes avec le Fe²⁺ donnant une coloration violette foncée. Cependant, en présence d'autres agents chélateurs, la formation de ces complexes est atténuée donc l'intensité de la couleur diminue. La mesure de la réduction de la couleur permet l'estimation de la capacité chélatrice des agents chélateurs coexistants (**Ebrahimzadeh *et al.*, 2007**).

Le pouvoir chélateur du fer est déterminé suivant la méthode de Wang *et al.* (**2008**). Un volume de 500 µl de la solution de miel (2,5 %, m/v) est additionné de 900 µl de méthanol et 500 µl de dichlorure de fer (0,6 mM). Après 5 min, 100 µl de la solution de ferrozine (10 mM) sont ajoutés au mélange réactionnel. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 562 nm.

L'effet séquestrant des échantillons de miel vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage (\%)} \text{ de chélation du fer} = [1 - [(A_1 - A_2) / A_0]] \times 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle (1 ml de la solution ferrozine). **A₁** : Absorbance sans la solution de ferrozine. **A₂** : Absorbance de l'échantillon.

VI. Étude de l'activité anti-inflammatoire

VI.1 Inhibition de la dénaturation de BSA (Bovin Serum Albumin)

La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. Sous l'action d'un traitement thermique, l'albumine peut subir des changements de conformation associés à un mauvais repliement de la structure tridimensionnelle. La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation et conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Militello *et al.*, 2003).

L'activité anti-inflammatoire est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation de la protéine albumine décrite par Kandikattu *et al.* (2013). Un mélange réactionnel de la solution du miel à différentes concentrations (0.125 ; 0.25 et 0.5 mg /ml) est préparé, un volume de 0,5 ml de chaque concentration est additionné à 0,5 ml de solution de BSA préparée dans le Tris-HCl. Après incubation à 37° C pendant 15 min puis à 70° pendant 5 min et après refroidissement du mélange réactionnel, l'absorbance est lue à 660 nm. Un blanc est préparé pour chaque concentration, le contrôle contient 1ml de BSA avec 1ml de Tris-HCl.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage (\%)} \text{ d'inhibition} = [(A_e - A_b) / A_c] \times 100$$

Où :

A_e : l'absorbance de l'échantillon. A_b : l'absorbance du blanc. A_c : l'absorbance du contrôle.

VII. Étude de l'activité anti brunissement enzymatique

La capacité de miel à réduire le brunissement enzymatique est déterminé par une méthode de dosage spectrophotométrique décrite par Chen *et al.* (2000). Des bananes fraîches sont coupées et immédiatement trempées dans une solution de miel à 10 %, d'autres bananes complètes non pelées sont immergées aussi dans la même solution de miel. Après 30 minutes, les bananes sont essuyées et placées dans des boîtes de Pétri. Toutes ces opérations sont réalisées à deux températures différentes, une température ambiante et température de réfrigérateur ($T < 6$ °C).

Après incubation sans et avec du miel, 2 g de chaque échantillon sont pesés et homogénéisés puis transférés dans des tubes à essai et 3 ml de l'eau distillée y sont ajoutés.

L'absorbance du mélange est déterminée à 420 nm après centrifugation à 1200 tours pendant 5 min, et répétés trois fois par jour pendant trois jours successifs.

L'activité anti brunissement enzymatique est présentée en unité de brunissement où une différence de 0,01 unité d'absorbance par rapport au témoin équivalant à 1 unité de brunissement. Par conséquent, les échantillons avec les nombres les plus élevés indiquent la plus grande réduction du brunissement enzymatique. Cette dernière étape est répétée trois fois par jour pendant 3 jours successifs.

VIII. Analyses statistiques

Trois répétitions sont effectuées pour tous les échantillons et les résultats sont présentés en moyenne \pm l'écart-type. Le programme Microsoft Office Excel 2007 est utilisé pour calculer les moyennes et les écart-types ainsi que pour tracer les histogrammes.

Le test ANOVA et la matrice de corrélation sont appliquées sur les résultats de cette étude à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1.2. Ces résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f$.

L'analyse en composantes principales (ACP) est réalisée pour étudier, dans un espace de dimensions plus petites, la similitude entre les différents échantillons de miel ainsi que les liens existants entre les paramètres étudiés.

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Analyses polliniques

La méliissopalynologie est une branche de la palynologie qui étudie les grains de pollen présents dans le miel (**Von Der Ohe et al., 2004**). Un miel naturel contient plusieurs types de grains de pollen qui permettent d'identifier l'origine botanique et géographique du miel et leurs absences permettent de suspecter la présence de sucre inverti ou une falsification (**Reille et Pons, 1990**). Les échantillons de miel sont analysés pour leur donner une appellation en effectuant une étude qualitative et quantitative de leurs grains.

Les résultats des analyses polliniques sont présentés dans le tableau II. Ils montrent que les miels M1 et M2 sont des miels monofloraux. Ces miels sont de familles *Fagaceae* et *Liliaceae*, respectivement. 11 familles de grains de pollens sont identifiées et illustrées dans le tableau II. Les miels M3 et M4 ne possèdent aucun type de pollen. Ces résultats confirment que les miels M1 et M2 sont naturels fabriqués par les abeilles. Par contre, les miels M3, M4 et M5 sont des miels falsifiés.

Le pollen présent dans le miel est incorporé par l'abeille qui s'approvisionne en pollen au cours du butinage des fleurs. La densité botanique, la force de la colonie d'abeille, la variabilité géographique, la zone de butinage, les conditions climatiques et environnementales sont des critères sur lesquels la richesse du miel en pollen y dépend (**Feás et al., 2012 ; Makhloufi et al., 2010**).

Fagaceae est le type de pollen le plus abondant dans les échantillons de miels analysés ce qui indique que la région de Bejaia est riche en cette famille de plantes. Le miel M2 possède le pollen d'Asteraceae comme pollen minoritaire contrairement au miel M1 qui contient le pollen d'Apiaceae comme pollen minoritaire, ce résultat est différent des travaux de Avila et al. (2019) sur les miels Brésiliens dont l'analyse révèle la présence de 9 familles de pollens dominées par les Asteraceae.

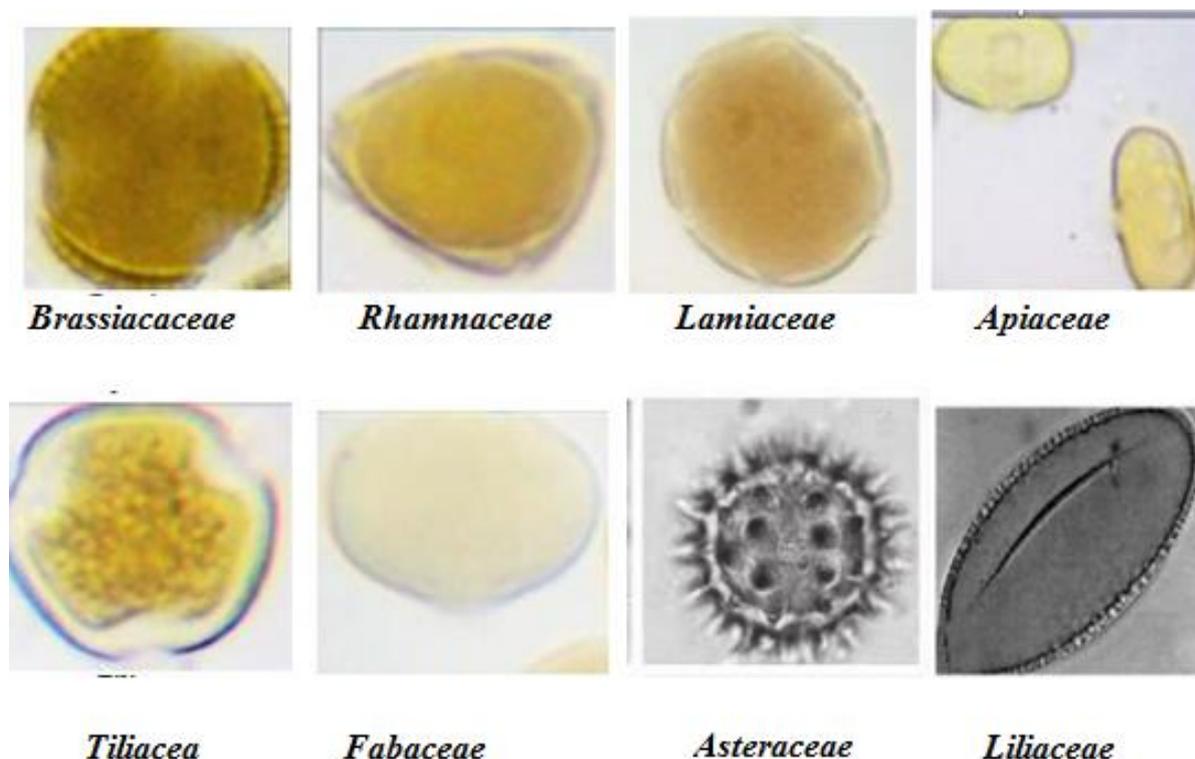


Figure 3 : Photographies des grains de pollen des miels analysés (Ozler et al., 2007 ; Stanski et al., 2013)

Tableau II : Spectres polliniques et pourcentages de pollens de miels analysés.

Miels	Origine botanique	Pollens dominants (≥45 %)	Pollens d'accompagnements (16 – 44 %)	Pollens minoritaires (15 – 3 %)	Pollens très minoritaires ou isolés (< 3 %)
M1	Monofloral	<i>Fagaceae</i> (72 %)	<i>Liliaceae</i> (18 %)	<i>Apiaceae</i> (6 %) <i>Tiliaceae</i> (3 %)	<i>Rhamnaceae</i> (1 %)
M2	Monofloral	<i>Liliaceae</i> (52 %)	<i>Fabaceae</i> (16 %) <i>Tiliaceae</i> (18 %)	<i>Asteraceae</i> (4 %) <i>Flatidae</i> (3 %) <i>Brassicaceae</i> (3 %)	<i>Rutaceae</i> (1 %) <i>Fagaceae</i> (2 %) <i>Ericaceae</i> (1 %)
M3	Dépourvu de pollen	Absence	Absence	Absence	Absence
M4	Dépourvu de pollen	Absence	Absence	Absence	Absence
M5	Dépourvu de pollen	Absence	Absence	Absence	Absence

II. Analyses physicochimiques

II.1 Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est un nombre sans unité qui permet de quantifier le caractère acide ou basique d'une solution. C'est un critère de qualité qui influe sur la stabilité du miel et ses conditions de conservation, notamment sur la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes et sur la composition et la stabilité du produit (Terrab *et al.*, 2004). Le pH du miel permet de séparer les miels de nectar des miels de miellat, il varie de 3,5 à 4,5 pour les miels de nectar et de 4,5 à 5,5 pour les miels de miellat (Bogdanov *et al.*, 1999). Les valeurs de pH des miels analysés varient entre 4,52 (M2) à 7,08 (M5) (Figure 3).

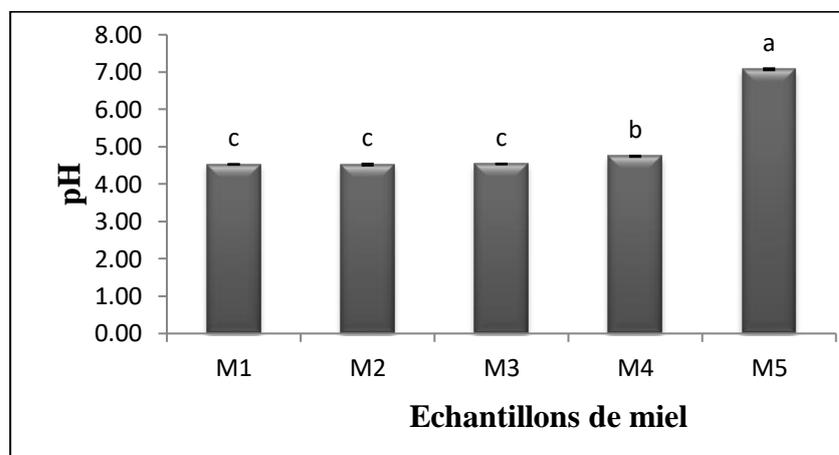


Figure 4: pH des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Ces résultats sont dans l'intervalle rapporté par Al-Farsi *et al.* (2018) dans les miels de Sultanat d'Oman (3,46 à 4,90) et différents de ceux des miels Brésiliens (3,21 et 3,62) (Ávila *et al.*, 2019). Les résultats de la présente étude indiquent que les miels M1, M2, M3 et M4 sont des miels de nectar ($\text{pH} > 4,5$). Le test ANOVA indique l'existence d'un groupe homogène qui correspond aux miels M1, M2 et M3. Ces derniers ne présentent aucune différence significative dans leurs valeurs de pH. Le miel d'importation M5 présente le pH plus élevé ($7,08 \pm 0,03$) qui est supérieur à la norme, cela témoigne que ce miel est falsifié.

La variation du pH des miels analysés serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille, aux processus enzymatiques fermentatifs pendant la transformation de la matière première ainsi qu'à la composition en acides organiques (acides gluconique, acétique, benzoïque et citrique) et en ions inorganiques (phosphate, chlorure).

II.2 Humidité

La teneur en eau est le seul critère de composition qui, dans le cadre de la norme miel, doit être respecté dans le commerce mondial du miel. C'est un excellent critère de qualité qui intervient dans sa viscosité, sa cristallisation, sa saveur et son degré de fermentation (**De Almeida-Muradian et al., 2013**). La norme du Codex Alimentarius et de l'Union Européenne ont fixée une teneur en eau maximale de 18 % (**Codex Alimentarius, 2001**).

Les échantillons de miel analysés présentent une teneur en eau inférieure à la limite maximale fixée par la Commission Européenne (2002), à savoir 20 %. Les valeurs enregistrées varient de 15% pour le miel de Timezrit (M2) à 17,13 % pour le miel M5 (Figure 5), correspondant à un indice de réfraction entre 1,4934 et 1,4985.

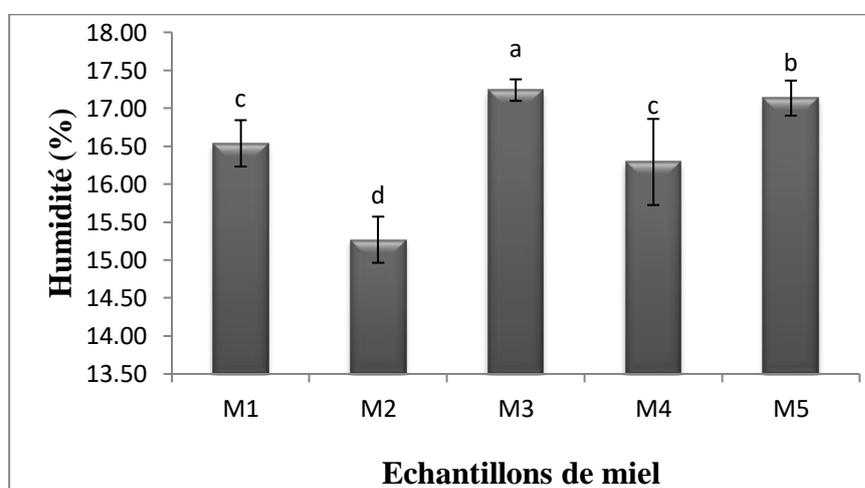


Figure 5: Humidité des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Des résultats similaires sont rapportés par Baloš *et al.* (2021) dans les miels de Serbie (14,6 à 18,60 %), et ils sont dans l'intervalle rapporté par Moumeh *et al.* (2020) (10,50 % – 20,50 %). Ces résultats indiquent que les miels analysés sont mûrs et ils ne présentent pas un risque de fermentation s'ils sont bien stockés. Les miels M1 et M4 ne présentent aucune différence significative. Par conséquent, ils forment un groupe homogène pour ce paramètre.

La variation d'humidité est liée aux conditions climatiques, la saison de récolte, le degré de maturité et la teneur en eau du nectar et/ou le miellat (**Adenekan, 2010**).

II.3 Brix

Le miel en grande partie est composé de glucides qui sont exprimés par le degré de Brix (Conti *et al.*, 2014). Les valeurs obtenues sont largement supérieures à limite minimale des miels de nectar (> 60 %) et à la norme fixée par le Codex Alimentarius (2001).

Le miel de Timezrit M2 montre le brix le plus élevé avec une valeur de 82,97%, ce qui indique la richesse en sucres de cet échantillon. Par contre, les échantillons M3 et M5 sont moins riches en glucides avec une valeur de (81,10 %) (Figure 5) et ils ne présentent aucune différence significative. Le miel local M1 et le miel d'importation M4 ne représentent aussi aucune différence significative et ils montrent des valeurs de Brix élevées (81,73 % et 81,80 %, respectivement). Les résultats de ce paramètre pour les cinq miels étudiés sont supérieurs à la limite minimale des miels de nectar (> 65 %) fixée par le Codex alimentaire (2001).

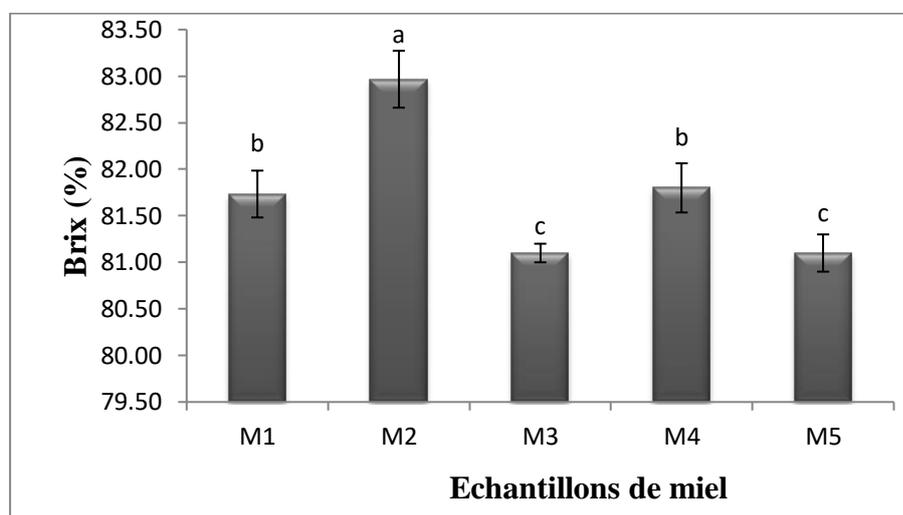


Figure 6: Brix des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les résultats obtenus sont supérieurs aux valeurs rapportées par Izzah *et al.* (2021) dans les miels de Malaisie (56,20 à 84 %) mais proche des résultats rapportés par Otmani (2021) dans les miels monofloraux d'Algérie (81,28 %).

Ces variations de degré de brix peuvent être dues à plusieurs paramètres tels que l'origine botanique des plantes sur lesquelles le miellat et/ou le nectar est prélevé, l'environnement, le climat et les conditions de stockage du miel (Ouchemoukh *et al.*, 2007).

II.4 Conductivité électrique

La conductivité électrique est la capacité de miel à transmettre un flux Électrique. Elle présente un bon critère pour la détermination de l'origine du miel. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées plus la conductivité électrique est élevée (Amellal, 2008).

D'après le Codex Alimentaire (2001), la conductivité électrique (CE) est un paramètre de qualité qui permet d'estimer la richesse du miel en minéraux et de différencier entre les miels de miellat ($CE > 800 \mu\text{S/cm}$) et celui des nectars ($CE < 800 \mu\text{S/cm}$). Les miels étudiés présentent des conductivités électriques variant entre 144 et 687 $\mu\text{S/cm}$ (Figure 7).

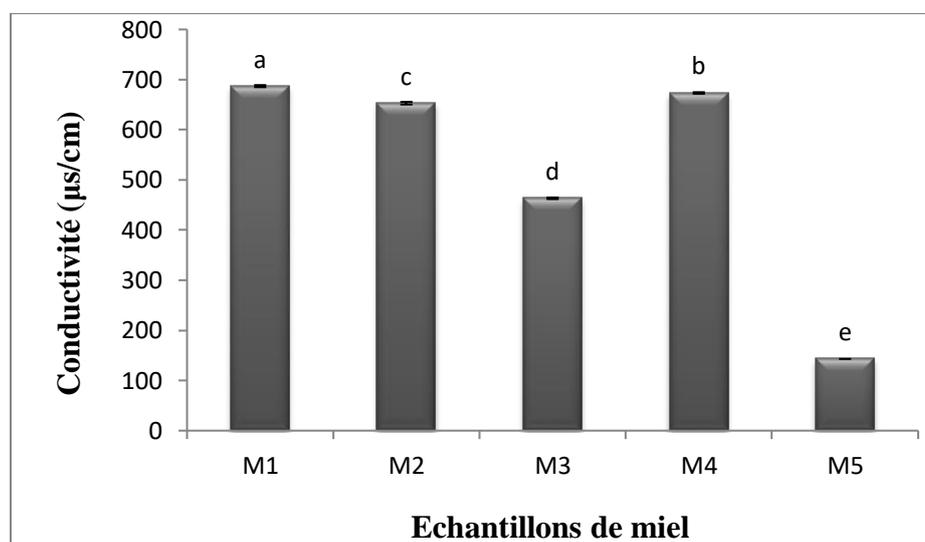


Figure 7: Conductivités électriques des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

L'échantillon de miel M5 possède la valeur la plus faible (144 $\mu\text{S/cm}$) par rapport aux autres variétés de miel étudiées, cela est peut-être expliqué par l'absence de sources florales qui ont servi à sa fabrication. Par conséquent, il est falsifié.

Les valeurs de conductivité électrique enregistrées pour les miels locaux (M1 et M2) et les deux miels d'importation (M3 et M4) sont dans l'intervalle rapporté par Rajindran *et al.* (2022) (430 à 1930 $\mu\text{S/cm}$) et par Boussaid A. *et al.* (2018) qui varient de 390 à 890 $\mu\text{S/cm}$.

Le miel foncé M1 de Beni Maouche présente la conductivité électrique la plus élevée (687 $\mu\text{S/cm}$). Ceci est en accord avec les résultats de Yadata (2014) qui a trouvé que la conductivité du miel plus foncé est légèrement plus grande que le miel clair, ce qui indique que le miel plus foncé a plus de contenu minéral.

La conductivité électrique est influencée par le pH de la solution, la valence des ions, le degré d'ionisation et la quantité de pollen végétal. C'est un bon critère lié à l'origine botanique du miel, et elle est désignée aujourd'hui lors des routines de contrôle du miel au lieu de la teneur en cendres (Terrab *et al.*, 2003).

II.5 Couleur

La coloration du miel est l'une des caractéristiques physiques très importantes car elle est en rapport avec leur origine florale et leur composition (minéral, pollen, pigments...) (Amiot *et al.*, 1989). Elle joue un rôle essentiel dans la détermination de la capacité antioxydante du miel. Un miel foncé indique une forte activité antioxydante et la présence des pigments (caroténoïdes, flavonoïdes) (Beretta *et al.*, 2005).

Les valeurs de la couleur obtenues des échantillons de miel sont dans la gamme 0,24 (M5) à 0,85 (M1) qui correspond à la couleur marron et marron foncé respectivement (Figure 8). Ces résultats sont dans l'intervalle rapporté par Das *et al.* (2017).

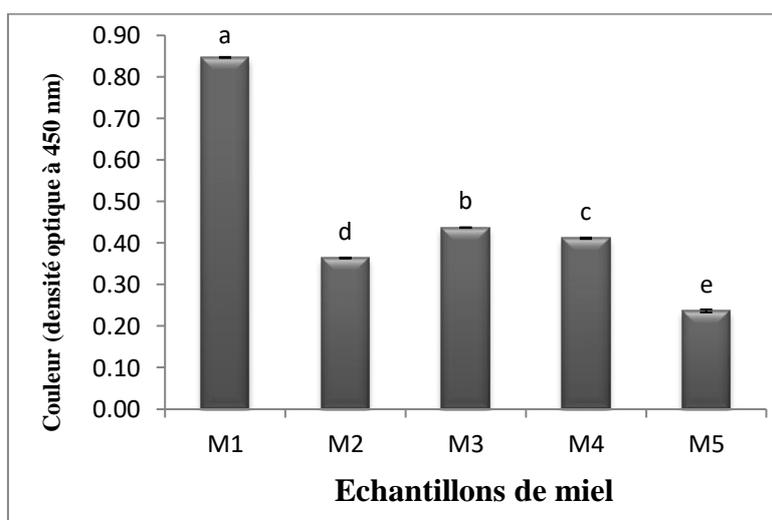


Figure 7: Densités optiques des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Le miel local M1 possède la densité optique la plus élevée (0,85) et donc la couleur la plus foncée, cela est peut-être dû à sa richesse en flavonoïdes et caroténoïdes. Le miel M5 présente une couleur marron mais il possède la densité optique la plus faible donc sa couleur foncée n'est peut-être pas due à sa composition chimique mais à une caramélisation due au chauffage.

Ce paramètre représente un indicateur de la richesse de miel local M1 en acides phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes (carotènes, xanthophylles), minéraux (fer, cuivre) et en acides aminés (tyrosine, tryptophane). Cette différence de couleur pourrait être due aux teneurs distinctes de ces miels en minéraux, en caroténoïdes et en flavonoïdes. En effet, Isla *et al.* (2011) ont rapporté que les miels de couleur foncée possèdent une teneur élevée en cendres par rapport aux miels clairs.

II.6 Teneur en HMF

L'hydroxyméthylfurfural est un composé chimique issu de la dégradation des monosaccharides. Le miel brut ne contient pratiquement pas ce produit. La teneur en HMF augmente au cours du stockage en fonction du pH et du chauffage prolongé des miels (Khalil *et al.*, 2012).

Les recommandations de l'Union Européenne fixent un maximum de quarante mg d'HMF/kg de miel. Les valeurs obtenues pour l'HMF se situent entre 16,62 et 75.20 mg/kg (Figure 9).

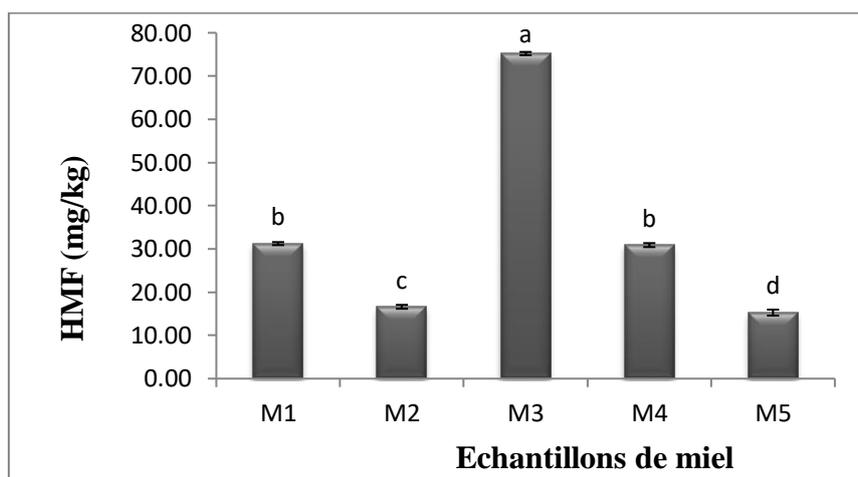


Figure 9: Teneurs en HMF des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

La majorité de nos résultats se situent dans les normes ($31,24 \pm 0,35$; $16,62 \pm 0,45$; $30,89 \pm 0,46$ et $15,27 \pm 0,69$ mg/kg pour les miels M1, M2, M4 et M5 respectivement) témoignant qu'ils n'ont pas subi de chauffage. Ces valeurs sont dans l'intervalle rapporté par Achour *et al.* (2019) dans les miels algériens et supérieures à ceux rapportés par Larsen *et al.* (2022) et par Trinh *et al.* (2022) (0,049 à 2,933 mg/kg) dans les miels de Vietnam. Le miel d'importation M3 possède un taux d'HMF de 75 mg/kg qui dépasse la norme autorisée par le Codex Alimentarius qui est de 40 mg/kg. Cela est peut être dû au chauffage de miel ou à son stockage à des températures élevées.

La teneur en HMF n'est pas une propriété intrinsèque de miel donc on ne peut pas l'utiliser pour la détermination de l'origine botanique mais elle permet de détecter certaines adultérations : l'adjonction de sucres invertis par la chaleur en milieu acide se traduit par des teneurs en HMF très élevées (Schweitzer, 2004).

II.7 Teneur en protéines

Les protéines du miel pourraient provenir du nectar végétal, de l'abeille ou du pollen. Elles jouent un rôle important dans la formation du miel (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

Les miels analysés présentent des concentrations en protéines allant de 6,82 (M5) à 174,79 (M2) mg EBSA par 100 g (Figure 10). Les valeurs obtenues sont incluses dans l'intervalle rapporté par de Zaidi *et al.* (2019) (4,98 à 181,43 mg EBSA / 100 g) dans les miels Algériens.

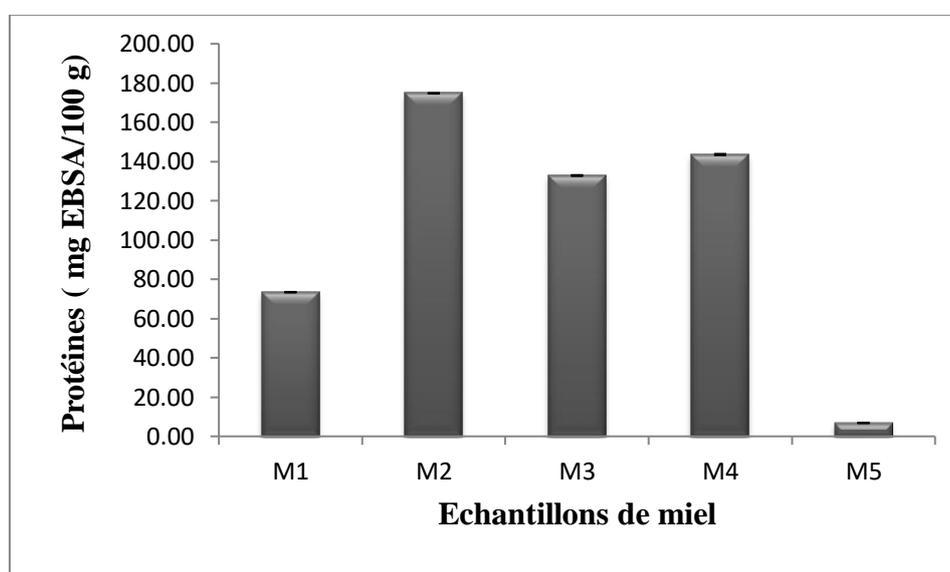


Figure 8: Teneurs en protéines des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Le miel de Timezrit (M2) est le plus riche en protéines parmi les miels locaux ($174,79 \pm 0,15$ mg EBSA / 100 g), Cette variation peut être attribuée au type de flore et de l'alimentation des abeilles. Parmi les miels importées, les miels M3 et M4 ont des concentrations voisines en protéines ($132,88 \pm 0,25$ et $143,6 \pm 0,31$ mg EBSA / 100 g, respectivement), le miel M5 présente une très faible concentration en protéines ($6,82 \pm 0,10$ mg EBSA / 100 g) cela est peut-être dû à l'absence des grains de pollen et à sa faible teneur en enzymes ajoutés par les abeilles.

La variabilité de la concentration en protéines peut s'expliquer par les origines géographiques et botaniques, l'alimentation des abeilles, le temps et les conditions de leur entreposage, la présence des enzymes ajoutées par des abeilles pendant le processus de d'élaboration et à la quantité de grains de pollen présents dans le miel (**Alvarez-Suarez et al., 2010 ; ElSohaimy et al., 2015**).

II.8 Teneur en proline

La proline représente l'acide aminé le plus abondant dans le miel. Elle est incorporée par l'abeille à partir de ses sécrétions salivaires au cours de l'élaboration du miel et également à partir du pollen et du nectar des fleurs. Sa concentration est un indicateur de maturité et de conformité du miel. En effet, la norme internationale fixe le taux en proline dans le miel à un seuil minimal de 180 mg / Kg (**Belay et al., 2016**).

La concentration en proline dans les différents miels analysés varie de 5 (M5) à 661,6 (M1) mg/ kg (Figure 11).

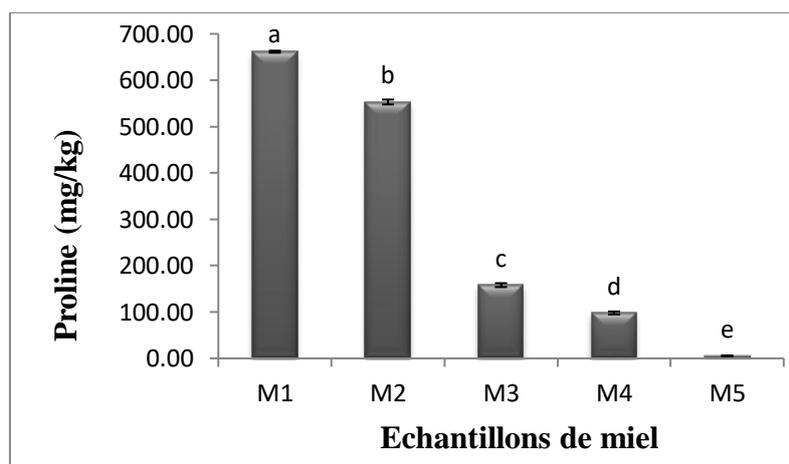


Figure 9: Teneurs en proline des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les analyses statistiques montrent que les 5 miels sont statistiquement différents pour la concentration en proline. Les miels locaux M1 et M2 présentent les teneurs en proline les plus élevées $661,6 \pm 2,11$ et $553,09 \pm 5,27$ mg/kg, respectivement. Elles sont supérieures à la limite minimale fixée par le Codex Alimentarius (**2001**) (>180 mg/kg). Ces résultats indiquent la maturité de ces miels et l'absence d'adultération. ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Al-Farsi *et al.* (**2018**) sur les miels d'Oman (299 et 683 mg/kg) et par Wen *et al.* (**2017**) sur les miels monofloraux de *Codonopsis* (380,37 à 699,53 mg/kg).

La teneur en proline des miels importés M3, M4 et M5 est inférieure à la norme ($158,02 \pm 4,21$, $97,98 \pm 3,16$ et $5,27 \pm 1,05$ mg / Kg respectivement), ce qui indique que ces miels ne sont pas authentiques (Bogdanov *et al*, 1999).

III. Teneurs en antioxydants

III.1 Polyphénols

La détermination de la teneur en composés phénoliques totaux est également considérée comme une méthode permettant d'étudier les origines florales du miel. Il est recueilli à partir de l'origine botanique et géographique qui affecte la concentration en composés phénoliques, la distribution de pollen et l'activité antioxydante du miel (Doukani *et al.*, 2014).

Les résultats obtenus montrent que la concentration en polyphénols enregistrée dans les miels analysés varie considérablement de 4,40 (M5) à 48,79 mg d'EAG / 100 g de miel (M1) (Figure 12).

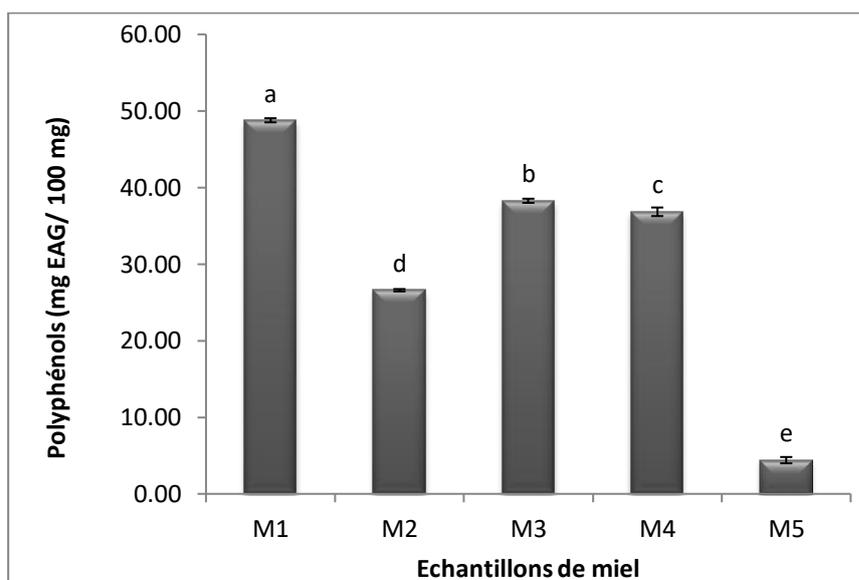


Figure 10: Teneurs en polyphénols des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les résultats des miels M1, M2, M3 et M4 sont dans l'intervalle rapporté par Boussaid *et al.* (2018) sur les miels Tunisiens (32,17 à 119,42 mg EAG / 100 g) et proche de résultats rapportés par Yayinie *et al.* (2022) (17,03 à 42,04 mg EAG / 100 g).

Généralement, la concentration en composés phénoliques des miels clairs est inférieure à celle des miels foncés (Berreta *et al.*, 2005). En effet, ceci est constaté dans la présente étude, parmi les miels locaux, la valeur la plus élevée est enregistrée dans le miel foncé M1

(48,79 mg EAG / 100 g). Par conséquent, il possède une capacité antioxydante élevée et la plus faible concentration de polyphénols est enregistrée par le miel clair M2.

Les deux échantillons de miel d'importation M3 et M4 ne présentent aucune différence significative (38,27 et 36,84 mg EAG / 100 g, respectivement). Le miel d'importation M5 présente une très faible concentration en polyphénols ($4,40 \pm 0,41$ mg EAG / 100 g). Les analyses polliniques de ces échantillons ont montré qu'ils sont très pauvres ou dépourvus de pollen ce qui peut expliquer leur faible teneur en ces composés.

Ouchemoukh *et al.* (2017) ont identifié plusieurs acides phénoliques (acides 4-hydroxybenzoïque, 4-hydroxyphénylacétique, gallique, gentisque, homovanillique, caféique, férulique, syringique, hydroxycinnamiques, vanillique.) dans des échantillons de miels Algériens. En effet le miel M1 pourrait être riche en ces composés.

Les résultats obtenus soulignent des teneurs variables en polyphénols des miels suivant leur origine, qui se traduisent par des différences marquées de leurs couleurs. Cette composition dépend de la zone géographique, de la source végétale et même des facteurs saisonnière et environnementaux (Habib *et al.*, 2014).

III.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont reconnus par leurs hautes activités pharmacologiques comme piègeurs de radicaux. L'intérêt récent pour ces substances est stimulé par les avantages potentiels pour la santé découlant de leurs activités antioxydantes (Saba *et al.*, 2011).

Les teneurs des miels en flavonoïdes varient de 15,40 à 67,93 mg EQ /100 g (Figure 13).

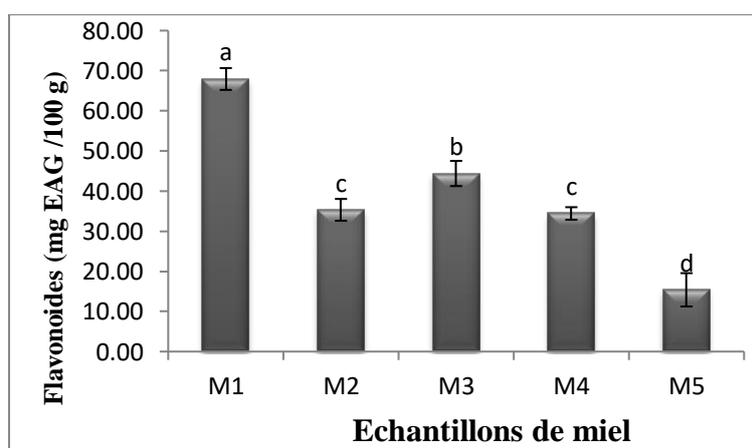


Figure 11: Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Ces résultats sont proches de résultats obtenus par Bouyahya et al. (2017) (19,64 et 43,24 mg / 100 g) et différents de ceux obtenus par Zaidi et al. (2019) pour les miels Algériens.

Les valeurs obtenues pour les miels M2 et M4 n'enregistrent aucune différence significative dans leur teneur en flavonoïdes et forment un groupe homogène. Le miel foncé M1 est le plus riche en flavonoïdes (67,93 mg EQ /100 g) ceci peut s'expliquer par son origine botanique et ça explique sa couleur foncé, et le miel d'importation M5 possède un taux faible en ces composés (16,30 mg/100 g).

La variabilité des concentrations en flavonoïdes des miels tels que les flavonols (quercétine, kaemferol, isorhmmetine), les flavones (galangine, chrisine,...), les flavonones (isosakurametine, pinobanksin,...) et les isoflavonones (génistéine et diadzéine) dépend principalement de ses origines florale et géographique (Sousa *et al.*, 2016). En effet, Ouchemoukh *et al.* (2017) ont identifié ces flavonoïdes dans des miels Algériens. Par conséquent, les miels locaux analysés pourraient avoir certains de ces flavonoïdes dans leur composition chimique.

IV. Etude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des miels est évaluée *in vitro* avec plusieurs méthodes (piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, tests au phosphomolybdate, CUPRAC ,FRAP, pouvoir réducteur et pouvoir chélateur de fer).

IV.1 Activités anti-radicalaires

IV.1.1 Activité anti-radicalaire par le DPPH

Les échantillons de miels analysés ont montré un effet significatif sur le piégeage du radical DPPH. Le pourcentage de la réduction du radical libre varie de 0,48 (M5) à 70,95 % (M1) (Figure 14). Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Sousa *et al.* (2016) (11 à 46 %). Les résultats obtenus par Zaidi *et al.* (2019) (4,41 à 83,93 %) sont supérieurs à ceux obtenus dans cette étude.

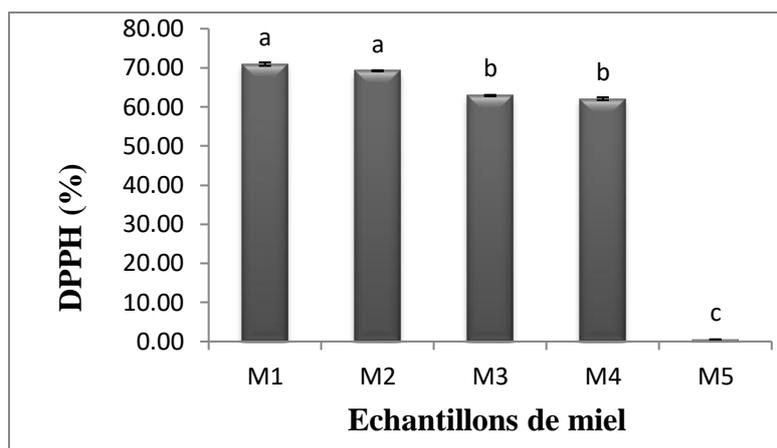


Figure 12: Activité anti-radicalaire avec le radical DPPH des échantillons de miels.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les miels M1 et M2 ont une meilleure activité de piégeage du radical DPPH (70,95 %) cela est due peut être à la présence d'antioxydants tels que les composés phénoliques qui ont un pouvoir réducteur important. Les miels M3 et M4 présentent un potentiel anti-radicalaire de 62,90 et 62,10 %, respectivement. Le miel M5 montre le pourcentage le plus faible (0,48 %) ce qui confirme son faible contenu en antioxydants. Le miel M5 présente une différence significative ($p < 0,05$) par rapport aux autres échantillons. Par contre, les miels M1 et M2 et M3 M4 forment deux groupes homogènes.

Les variations observées entre ces miels sont dus aux types des antioxydants et leurs quantités pour chaque miel ainsi leurs pouvoirs à stabiliser les radicaux phénoxyles (**Lewoyehu et Amare, 2019**). L'activité anti-radicalaire par le DPPH dépend essentiellement de la composition chimique du miel en substances antioxydantes (polyphénols, caroténoïdes, ...) (**Flores et al., 2015 ; Tahir et al., 2017**).

IV.1.2 Pouvoir anti-radicalaire par ABTS

L'activité anti-radicalaire par l'ABTS des différents miels étudiés varie de 2 (M5) à 33,62 % (M1) (Figure 15). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Zaidi et al. (2019)** (2,52 à 63,24 %) sur les miels Algériens. Les résultats rapportés par **Rabha et al. (2021)** (8,90 à 18,21 %) sont inférieurs à ceux obtenus dans ce test.

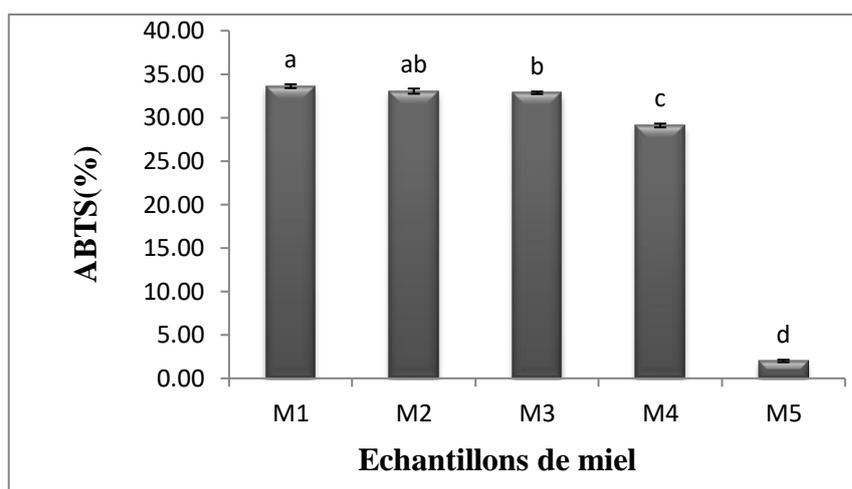


Figure 13: Activité anti-radicalaire avec le radical ABTS des échantillons de miels.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les miels M1, M2 et M3 montrent des activités proches de piégeage du radical ABTS (33,62; 33,05 et 32,86 %, respectivement). L'échantillon M5 enregistre le plus faible potentiel anti-radicalaire (2 %) ce qui est expliqué par sa faible teneur en polyphénols (**Gasparrini et al., 2018**). Les miels M4 et M5 montrent une différence significative pour ce pouvoir ($p < 0,05$) par rapport aux autres échantillons à l'exception de M3 et M4 qui présentent un groupe homogène.

L'activité anti-radicalaire du miel est liée aux types des antioxydants et leurs quantités présents dans le miel. Le type et la quantité des antioxydants dépendent largement de la variété de miel qui dépend à son tour de la source florale du miel (**Khalil et al., 2012**). La neutralisation des radicaux libres par les polyphénols dépend de leur teneur et leur structure moléculaire, ainsi le nombre et la position des groupes hydroxyles dans ces composés (**El-Seedi et al., 2012 ; Kolayli, 2016**).

IV.2 Test au phosphomolybdate

La capacité de réduction de molybdate (VI) en molybdate (V) par les miels analysés varie de 35,58 (M5) à 103,20 (M1) mg EAG / 100 g de miel (Figure 16).

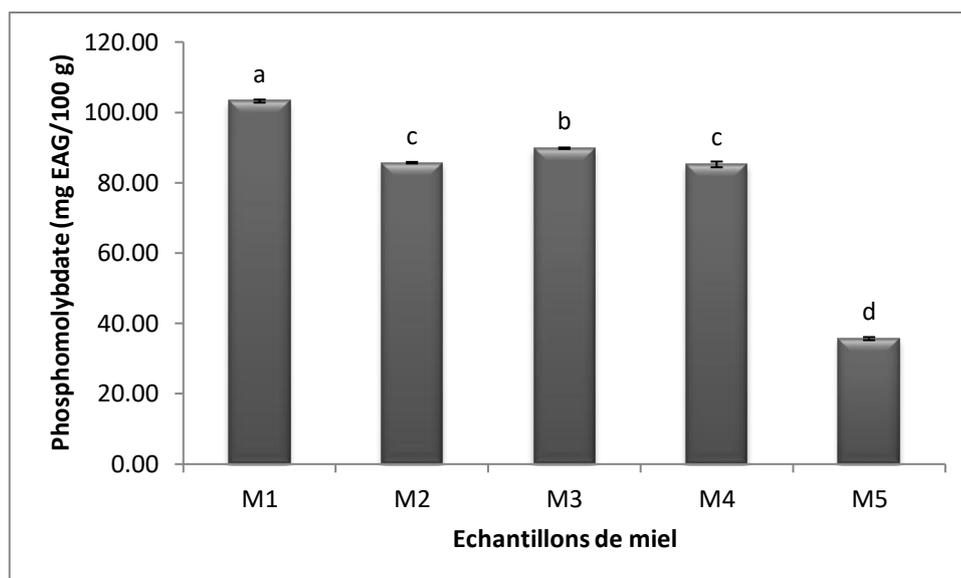


Figure 16: Résultats du test au phosphomolybdate des échantillons de miel.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les résultats rapportés par Imatra *et al.* (2018) (87,29 à 102,66 mg AAE/g) sur les miels Palestiniens sont supérieurs à ceux obtenus par ce test mais ils sont inférieurs à ceux obtenus par Ayad *et al.* (2021) (87 à 104 mg EAG/ g) dans les miels Algériens. Le miel *Fagaceae* de Beni-Maouche (M1) enregistre le potentiel antioxydant le plus élevé (103,20 mg EAG / 100 g de miel) tandis que le plus faible est celui de M5 (35,58 mg EAG / 100 g de miel) (Figure 16). Ces valeurs sont proportionnelles aux taux en acides phénoliques qui peuvent provoquer la réaction de réduction de molybdate (VI) en molybdate (V) sur laquelle ce test est basé. La variabilité des capacités réductrices dépend de la composition chimique et la teneur en composés phénoliques.

Les miels M1, M3 et M5 présentent une différence significative par rapport aux autres échantillons concernant ce test ($p < 0,05$) sauf les miels M2 et M4 qui forment un groupe homogène (85,70 et 85,21 mg EAG / 100 g, respectivement).

IV.3 Test de CUPRAC

L'activité antioxydante déterminée par ce test varie de 1 (M5) à 53 mg EAG /100 g (M1) (Figure 17). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Ayad *et al.* (2021) dans les miels de Jijel (12 à 49 mg EAG /100 g).

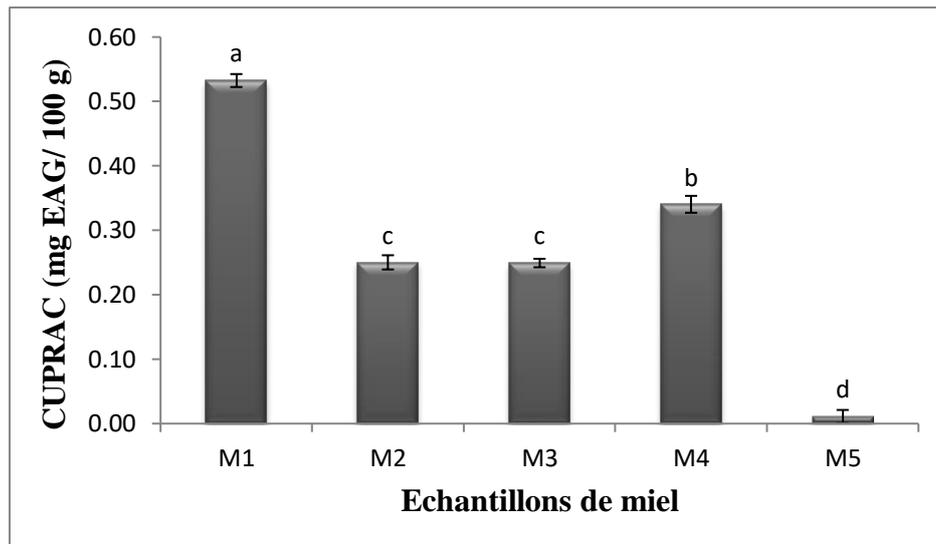


Figure17: Résultats du test CUPRAC des différents échantillons de miels.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Le miel *Fagaceae* M1 montre la plus grande activité anti-radicalaire. Cette activité peut s'expliquer par la richesse en flavonoïdes et acides phénoliques par rapport aux autres échantillons. L'échantillon M5 présente une activité réductrice du cuivre très faible ce qui est justifié par sa faible teneur en composés phénoliques et ce qui confirme sa falsification.

Les valeurs enregistrées des miels M3 et M4 indiquent un groupe homogène qui présente une différence significative par rapport aux autres échantillons de miel concernant ce test ($p < 0,05$). La variabilité du pouvoir réducteur de cuivre des miels analysés dépend de leur composition en composés phénoliques et en sels minéraux.

IV.4 Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Les résultats de l'activité antioxydante évaluée par ce test montrent une capacité de réduction de fer ferrique en fer ferreux (Fe^{3+} / Fe^{2+}) qui varie de 1,48 (M5) à 120,25 mg EAG / 100 g (M1) (Figure 18). Cependant, Özkök et Silici (2017) ont rapporté une moyenne inférieure (58,89 mg EAG/100) pour cette activité antioxydante. Les résultats obtenus par ce test sont supérieurs à ceux rapportés par Otmani (2022) (6,47 à 56,76 mg EAG/100 g).

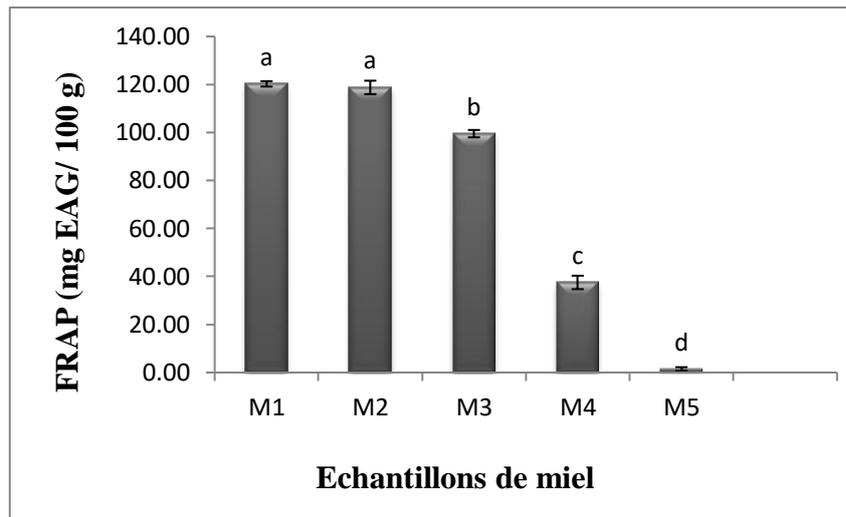


Figure18: Résultats du test FRAP des différents échantillons de miels.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Le miel M1 présente le potentiel antioxydant le plus élevé (120,25 mg EAG / 100 g) d'où la confirmation de la richesse en antioxydants (acides phénoliques et flavonoïdes) pour ce miel. Les échantillons M1, M2 et M3 montrent des potentiels antioxydants très proches (120,25 ; 99,51 et 118,77 mg EAG / 100 g, respectivement). Le miel M5 présente une capacité de réduction la plus faible (1,48 mg EAG / 100 g) ce qui signifie sa pauvreté en composés antioxydants.

Les résultats des miels analysés M3, M4 et M5 montrent une différence significative ($p < 0,05$) à l'exception de M1 et M2 qui ne montrent pas une différence significative (120,25 ; 118,77 mg EAG / 100 g, respectivement) pour ce test et ils forment un groupe homogène. La variation des résultats de pouvoir antioxydant des miels analysés peut être expliquée par la nature et la teneur en antioxydants contenus dans ces miels.

L'étude faite par Özkök et Silici (2017) a montré une corrélation significative entre l'effet antioxydant par la réduction du fer ferrique et la teneur totale en composés phénoliques du miel.

Selon Doukani *et al.* (2014), les espèces du miel provenant de différentes sources florales possèdent des activités antioxydantes différentes. En outre, l'origine botanique du miel, le traitement pendant la manipulation et le stockage sont les causes des variations de l'activité antioxydante (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

IV.5 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité de céder un électron en réduisant de ce fait le fer ferrique en fer ferreux (**Ouchemoukh, 2012**). Les échantillons analysés ont une gamme de valeurs qui varie de 47,56 (M5) à 595,32 mg EAG / 100 g (M1) (Figure 19). Ces résultats sont très supérieurs à ceux rapportés par Zaidi *et al.* (2019) (6,10 à 54,96 mg EAG/100 g) sur les miels Algériens. Les résultats rapportés par Otmani *et al.* (2022) (50,70 à 146,83 mg EAG/100 g) sont inférieurs à ceux obtenus dans la présente étude, ainsi à ceux obtenus par Rabha *et al.*, (2021) (12,54 à 24,97 mg EAG/100 g).

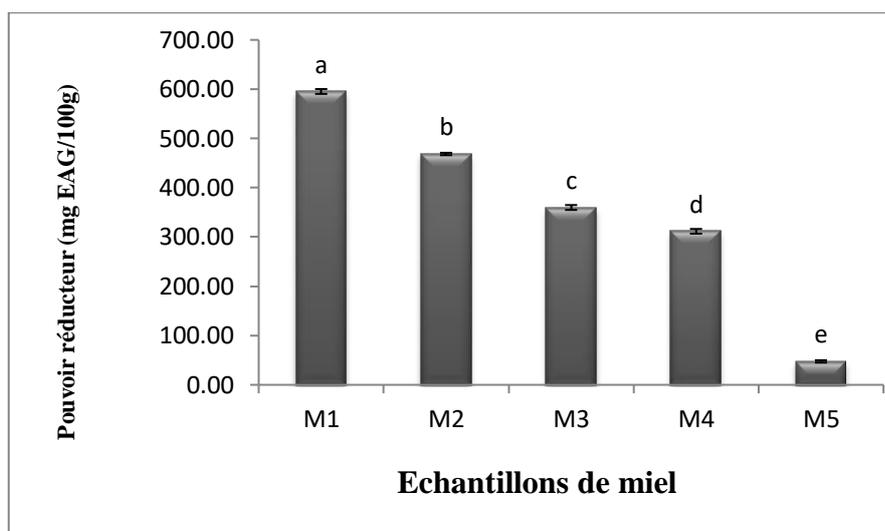


Figure19: Pouvoir réducteur des échantillons de miel.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les composés phénoliques totaux du miel est un facteur principale responsable de son pouvoir réducteur. Généralement, l'activité antioxydante importante et la teneur élevée en composés phénoliques sont deux caractéristiques du miel foncé (**Doukani et al., 2014; Khalil et al., 2012**). Cela est démontré par le miel M1 (595,32 mg EAG / 100 g) qui présente une teneur en acides phénoliques et flavonoïdes significativement plus élevée que les autres miels ce qui lui confère l'activité réductrice la plus puissante.

La capacité réductrice des miels d'importation M3 et M4 peut être expliquée par l'ajout d'antioxydants synthétiques lors de la fabrication de ces miels. En outre, le miel M5 (47,56 mg EAG / 100 g) montre le pouvoir réducteur le plus faible ce qui confirme sa pauvreté en phénols et sa falsification. Les valeurs enregistrées présentent une différence significative entre les miels analysés et aucun groupe homogène n'est distingué ($p < 0,05$).

Les pouvoirs réducteurs des échantillons de miel pourraient s'expliquer par la présence des antioxydants tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes (Küçük *et al.*, 2007). Le pouvoir réducteur du miel est lié à la somme des activités réductrices des antioxydants. Les travaux de Bueno-Costa *et al.* (2016) ont révélé que les composés phénoliques sont les principaux composants responsables de l'activité antioxydante du miel.

IV.6 Pouvoir chélateur de fer

La capacité de chélater les métaux de transition par les miels analysés varie de 2,43 (M5) à 78,71 % (M1). Les miels M1, M2, M3 et M4 montrent une activité réductrice de fer très importante alors que l'échantillon M5 présente une activité réductrice très faible. Les résultats illustrés dans la figure 20 ci-dessous indiquent que la formation du complexe Fe^{2+} ferrozine n'est pas complète en présence des miels analysés. Ces résultats montrent une activité chélatrice de fer supérieure à celle rapportée par Temizer *et al.* (2018) (36 à 37 %). Ces valeurs sont incluses dans l'intervalle rapporté par Tahir *et al.* (2017) (52 à 88 %).

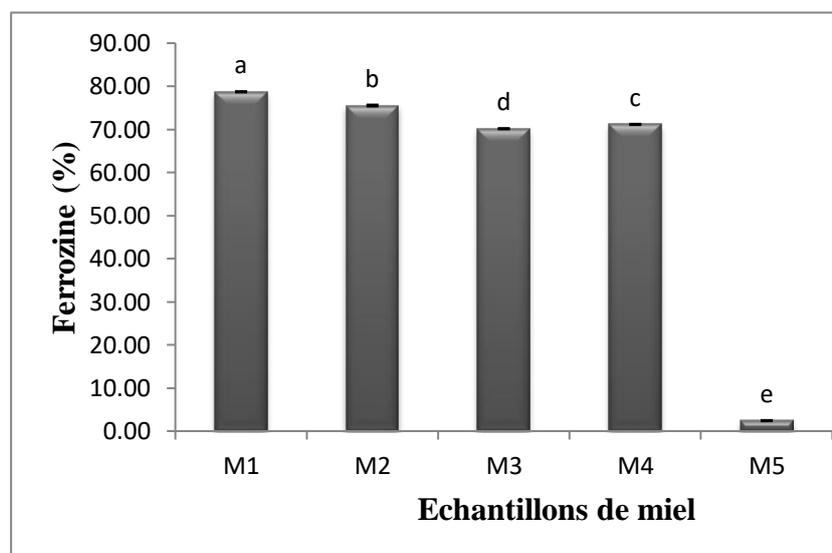


Figure 20: Résultats du test ferrozine des échantillons de miels.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les antioxydants du miel tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes agissent comme des chélateurs qui captent les ions ferreux avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine (Amessis-Ouchemoukh, 2014). Les miels *Fabaceae* (M1) et *Liliaceae* (M2) contiennent des concentrations élevées en composés phénoliques d'où leur pouvoir chélateur élevé.

Ainsi les miels d'importation M3 et M4 présentent des activités chélatrices importantes de fer qui s'explique par l'ajout de composés chélateurs synthétiques à ces miels. Par contre, le miel M5 se compose de très faible concentration de ces composés, ce qui permet de suspecter que ce miel est falsifié. Les analyses de ces miels présentent une différence significative avec les autres échantillons concernant ce test ($p < 0,05$). Ils ne révèlent aucun groupe homogène.

Les composés phénoliques du miel sont capables de complexer et de stabiliser les ions métalliques de transition, ce qui peut être expliqué par le pouvoir nucléophile de leurs cycles aromatiques et leurs groupements catéchol responsables de la formation des chélates avec le Fe^{3+} . Les chélateurs de métaux réduisent le potentiel redox de manière à stabiliser la forme oxydée des ions métalliques (Amessis-Ouchemoukh, 2014). Les pouvoirs chélateurs de miels se diffèrent par rapport à la nature complexe des chélateurs présents dans le miel et des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la ferrozine (Ouchemoukh, 2012).

V. Etude de l'effet anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du miel est déterminée par l'inhibition de la dénaturation de la BSA induite par la chaleur. Les résultats montrent que les échantillons de miel à différentes concentrations présentent une activité inhibitrice significative de la dénaturation de la BSA induite par la chaleur.

Le tableau ci-dessous présente les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA en fonction des différentes concentrations des miels analysés. Cette inhibition varie de 52,79 à 86,89 % avec un minimum d'activité à la concentration 0,5 mg/ ml et un maximum de cette activité à la concentration 0,125 mg/ ml. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Zaidi *et al.* (2019) (2,48 à 85,33 %) pour les miels Algériens.

Tableau III : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par les échantillons de miel.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type.

% d'inhibition par concentration de miel	0,5 mg/ ml	0,25 mg/ ml	0,125 mg/ ml
M1	76,04 \pm 1,17 ^a	83,02 \pm 1,14 ^a	86,89 \pm 0,67 ^a
M2	74,88 \pm 1,16 ^a	76,43 \pm 0,67 ^b	79,53 \pm 2,01 ^b
M3	61,31 \pm 0,65 ^b	66,74 \pm 1,12 ^c	69,84 \pm 1,78 ^c
M4	58,6 \pm 2,33 ^c	66,74 \pm 2,01 ^c	71,00 \pm 2,47 ^c
M5	52,79 \pm 1,16 ^d	57,44 \pm 2,33 ^d	61,70 \pm 0,67 ^d

Les miels monofloraux M1 et M2 présentent les potentiels inhibiteurs les plus élevés en comparant avec les autres échantillons. Cette capacité inhibitrice de la dénaturation de la BSA peut être expliquée par la richesse de ces deux miels en acides phénoliques et en flavonoïdes qui sont capables de réduire la formation des radicaux libres. En revanche, le miel d'importation M5 enregistre la plus faible activité protectrice de la BSA ce qui est dû à la pauvreté de ce miel en antioxydants.

Les échantillons de miel importés M3 et M4 présentent des activités inhibitrices importantes à la concentration 0,125 mg/ ml (69,84 et 71,00 %). Cette activité est peut être due à l'ajout des antioxydants synthétiques pour ces miels.

L'analyse statistique révèle plusieurs groupes homogènes : M1 et M2 à la concentration 0,5 mg/ ml, M3 et M4 à la concentration 0,25 et 0,125 mg/ ml.

L'effet de la variation de concentration de miel sur le potentiel inhibiteur de la dégradation de la BSA induite par la chaleur peut être due à la variabilité des teneurs en acides phénoliques et en flavonoïdes. Ces derniers sont responsables de l'activité anti-inflammatoire par la réduction de l'expression des médiateurs inflammatoires (TNF-alpha, COX-2 et les interleukines) en modulant la prolifération des cellules inflammatoires tels que les neutrophiles et les macrophages. Le miel est capable aussi de réduire la concentration des prostaglandines (PGE₂) et les thromboxanes B₂ responsables des symptômes de l'inflammation (**Kamruzzaman et al., 2019 ; Kassim et al., 2010**). Les antioxydants exercent un effet inhibiteur sur la dégradation de la BSA grâce à leur capacité d'interagir avec les différents sites de la BSA (**Liu et al., 2013**).

VI. Etude de l'activité anti-brunissement enzymatique

Les miels locaux M1 et M2 sont sélectionnés pour l'étude de l'activité anti-brunissement enzymatique sur des bananes complètes et en tranches fraîchement coupées durant une période de 3 jours. Les miels d'importation M3, M4 et M5 ne sont pas utilisés dans cette analyse puisque ils sont falsifiés.

Les résultats de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels de Beni-Maouche (M1) et de Timezrit (M2) testés sur des tranches de bananes varient de 1,4 (M2 dilué à 10 %) à 22,8 UB (unité de brunissement) (M1 non dilué) après incubation à 30°C (Figure 21).

Plus les valeurs de l'unité de brunissement sont élevées, plus l'effet inhibiteur de brunissement est plus important (Jeon et Zhao, 2005).

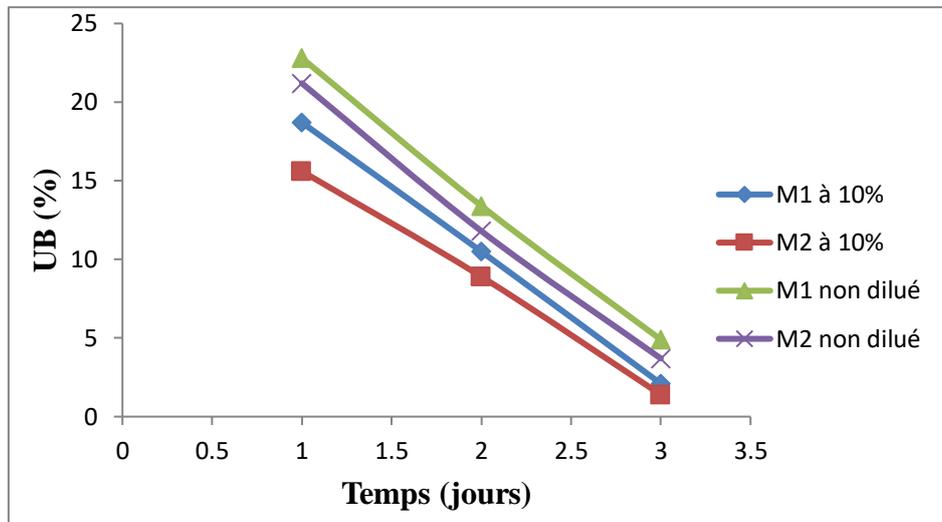


Figure 14: Unités de brunissement des tranches de bananes traitées par des solutions de miel dilué à 10 % et celles de miels non diluées à 30 °C.

Les résultats de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels locaux M1 et M2 testés sur des tranches de bananes varient de 9,1 (M2 dilué à 10 %) à 42,3 UB (unité de brunissement) (M1 non dilué) après incubation à 4 °C (Figure 22).

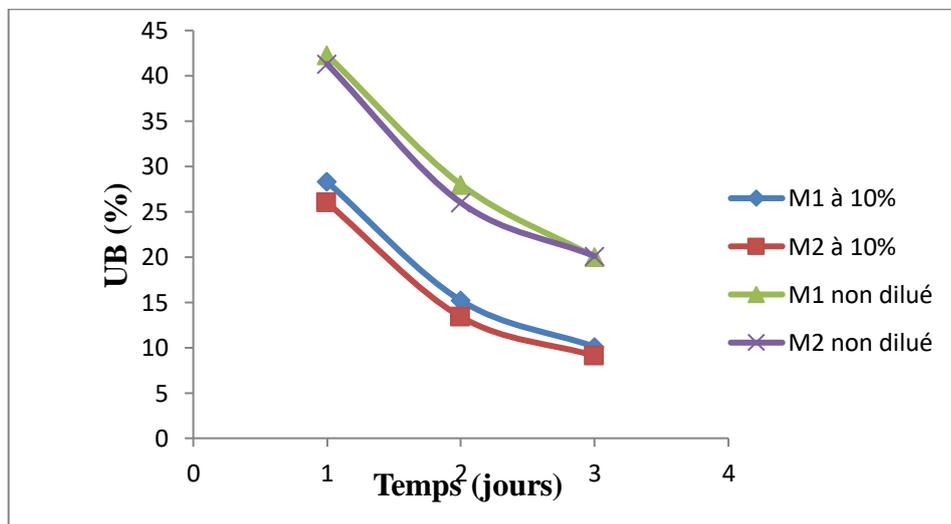


Figure 15: Unité de brunissement des tranches de bananes traitées par des solutions de miel dilués à 10 % et celles de miels non diluées à 4 °C.

Les résultats obtenus (Figure 21 et 22) montrent que les miels monofloraux M1 et M2 dilués à 10 % présentent des unités de brunissement plus basses par rapport aux mêmes miels non dilués. Les miels dilués à 10 % de Beni-Maouche (M1) et de Timezrit (M2) possèdent une faible capacité inhibitrice de brunissement en comparant avec ceux non dilués. Cette constatation peut être expliquée par la richesse des miels M1 et M2 non dilués en composés phénoliques

Les figures 21 et 22 montrent des courbes décroissantes en unités de brunissement en fonction du temps ce qui veut dire une réduction de la capacité inhibitrice de l'enzyme PPO exercée par les miels au cours des trois jours. Les tranches de bananes traitées avec le miel M1 présentent des unités de brunissement plus élevées par rapport à celles traitées avec le miel M2. Ces résultats montrent que le miel de Timezrit (M2) possède un effet inhibiteur de brunissement plus faible que celui de miel de Beni-Maouche (M1). Ce qui est dû peut être à la variation de quantité en composés phénoliques dont le miel M1 est plus riche en ces composés par rapport au miel M2. Les traitements à 30 °C et à 4 °C montrent les mêmes constatations précédentes.

Les tranches de bananes traitées à 4 °C présentent des unités de brunissement supérieures à celles stockées au réfrigérateur. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Olusesan *et al.* (1996) dont l'activité des PPO et le brunissement enzymatique diminuent à des basses températures.

Les résultats trouvés par comparaison entre les miels M1 et M2 sont cohérents avec les précédentes constatations de Chen *et al.* (2000) qui indiquent que l'efficacité du miel pour réduire le brunissement enzymatique suit la teneur en antioxydants d'une manière proportionnelle. Bien que les miels M1 et M2 ont montré un effet inhibiteur sur le brunissement enzymatique des bananes, ces miels n'ont pas complètement arrêté la décoloration par brunissement enzymatique.

La figure 23 montre une augmentation de l'intensité de couleur marron des tranches de bananes et les bananes complètes au cours du temps. Cette observation est en accord avec les résultats précédents. Le miel M1 non dilué possède la meilleure activité anti-brunissement enzymatique puisque la couleur brune des tranches de bananes commence à apparaître après la détection de brunissement enzymatique chez les autres échantillons.

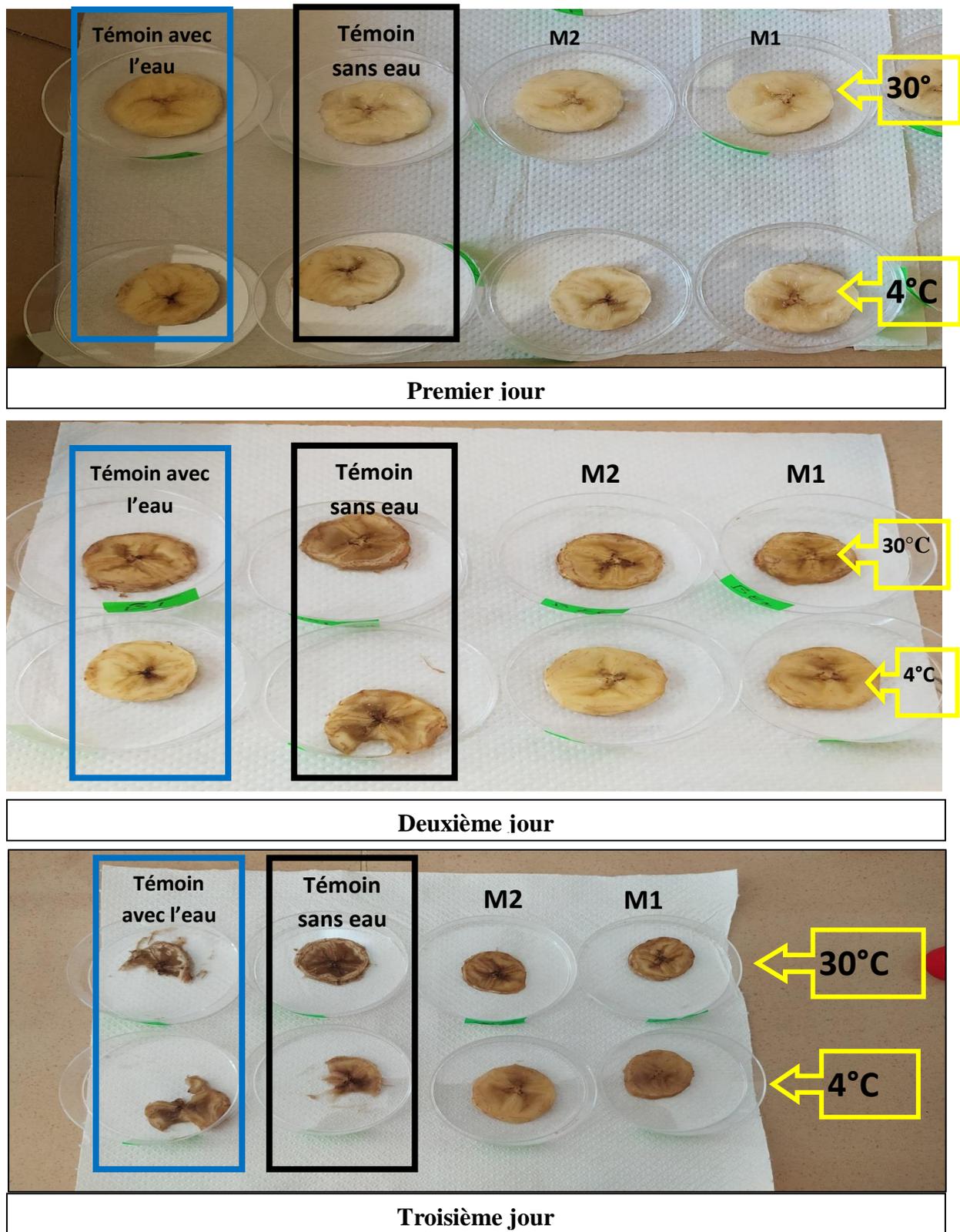


Figure 16 : Photographies de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels locaux M1 et M2 à 30 °C et à 4 °C pour des tranches de bananes. **Couleur brune** : brunissement enzymatique.

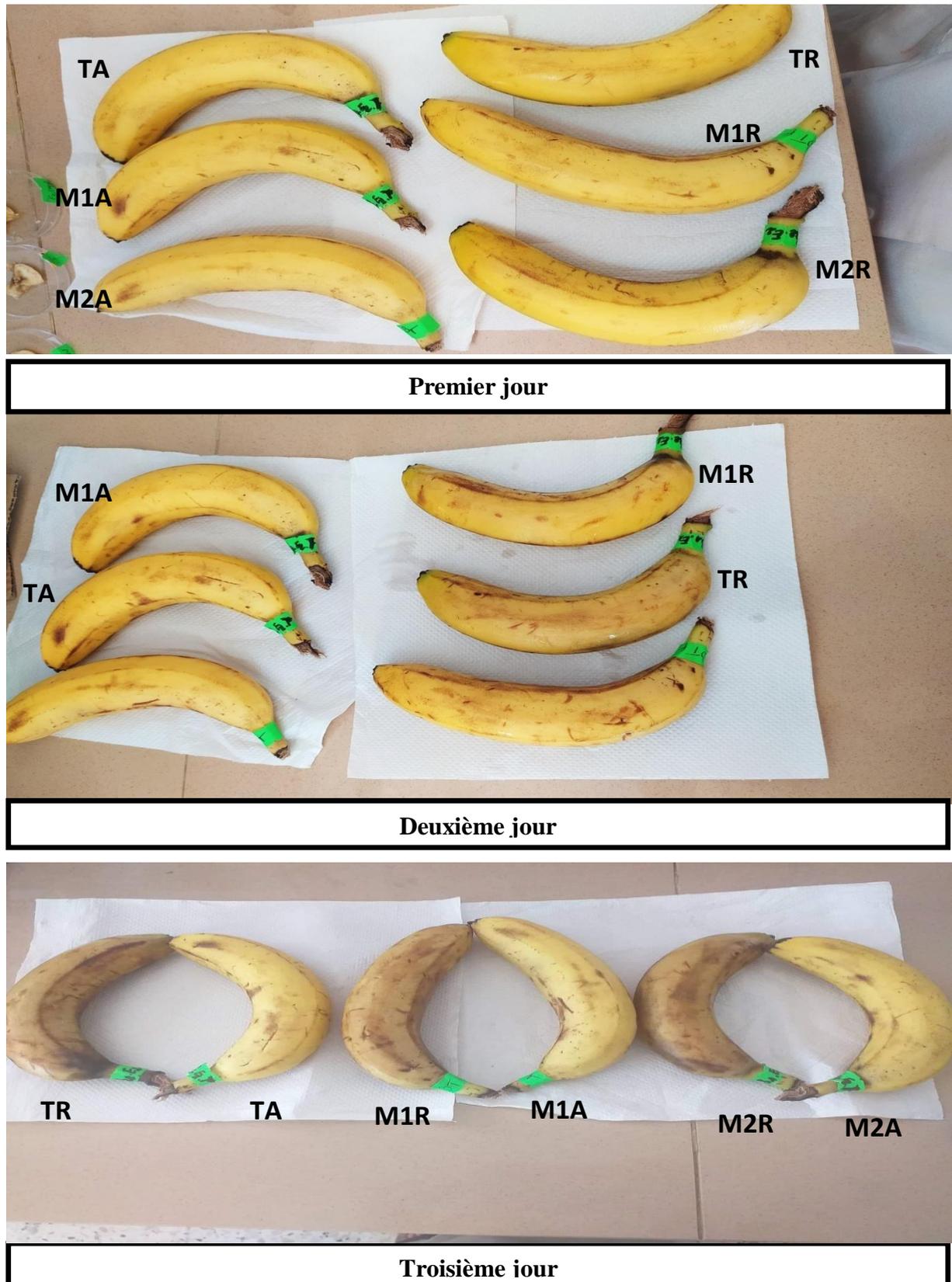


Figure 17: Photographies de l'activité anti-brunissement enzymatique des miels M1 et M2 dilués à 10 % à 30 °C et à 4 °C pour des bananes complètes. **Couleur brune** : brunissement enzymatique. **TA** : Témoin à 30 °C. **TR** : Témoin à 4 °C. **A** : 30 °C. **R** : 4 °C.

La figure 24 montre que le brunissement enzymatique est nettement clair en premier jour. Les bananes complètes traitées avec le miel M2 à 10 % présentent une coloration brune plus foncée que ceux traitées avec le miel M1 à 10 %. Ceci peut être expliqué par la richesse de miel de Beni Maouche (M1) en composés phénoliques, ces derniers sont les responsables de l'effet inhibiteur de brunissement. Le miel M1 pourrait avoir une concentration importante en peptide 660 Da par rapport à M2. En effet, les études effectuées par Oszmianski et Lee (1990) montrent que le miel possède un peptide de 600 Da qui joue un rôle très important dans le ralentissement du brunissement enzymatique en formant un complexe stable avec le cuivre de l'enzyme PPO.

Les bananes traitées avec les miels M1 et M2 indiquent une couleur brune moins intense que les témoins. Cela veut dire que les bananes traitées avec du miel sont plus protégées que celles non traitées avec du miel. L'intensité de la couleur brune augmente au cours du temps jusqu'à le brunissement total de la banane (figure 24).

Les résultats des bananes complètes traitées à 4 °C présentent un brunissement enzymatique plus important par rapport à ceux des bananes traitées à 30 °C. Ceci veut dire que la température basse n'a pas d'effet inhibiteur sur le brunissement enzymatique de la peau de la banane. L'étude des bananes complètes montre des résultats opposés par rapport à ceux des tranches de bananes. Cela peut être expliqué par la composition de la peau qui est différente de celle des tranches de la banane.

VII. Analyses Statistiques

VII.1 Corrélations

VII.1.1 Corrélations couleur, paramètres physicochimiques, teneur en antioxydants et activité antioxydante

Les analyses statistiques révèlent une corrélation hautement significative entre la couleur et la teneur en antioxydants (flavonoïdes et polyphénols) d'une part, et entre la couleur et la proline, la conductivité électrique, l'activité antioxydante (sauf le test DPPH) et pH d'une autre part. Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux enregistrés par **Ayad *et al.* (2021)**.

La teneur en eau est fortement corrélée au Brix et faiblement corrélée à la conductivité électrique. Les résultats montrent aussi une corrélation entre la conductivité électrique et la

teneur en antioxydants, l'activité antioxydante et tous les paramètres physicochimiques sauf l'HMF (Tableau IV).

Les résultats révèlent une corrélation significative entre la teneur en flavonoïdes et polyphénols. Une corrélation significative est également observée entre l'activité anti-radicalaire et la teneur en protéines, la conductivité électrique, le pH et les activités antioxydantes (tests CUPRAC, ferrozine, FRAP, phosphomolybdate et pouvoir réducteur). La teneur en protéines et proline est corrélée aux paramètres physicochimiques : conductivité électrique, humidité, pH et brix. La proline est liée avec les activités antioxydantes (Tests ABTS, CUPRAC, ferrozine, phosphomolybdate, pouvoir réducteur) et les protéines sont fortement liées avec les tests ABTS, ferrozine et phosphomolybdate (Tableau V).

Tableau VI : Corrélations couleur, paramètres physicochimiques, teneur en antioxydants et activité antioxydante.

	DH	PRL	PRT	AS	CP	F	FL	PLP	HF	FP	PM	PR	CL	CE	TE	ph	B
DH	1																
PRL	0,44	1															
PRT	0,85***	0,3	1														
AS	0,99***	0,52*	0,77***	1													
CP	0,76***	0,71**	0,38	0,84***	1												
F	0,97***	0,64*	0,80***	0,98***	0,84***	1											
FL	0,64**	0,74**	0,22	0,75**	0,91***	0,75**	1										
PLP	0,87***	0,56*	0,48	0,93***	0,94***	0,90***	0,90***	1									
HF	0,48	-0,18	0,27	0,49	0,19	0,36	0,35	0,49	1								
FP	0,80***	0,26	0,39	0,85***	0,85***	0,76***	0,75**	0,94***	0,53*	1							
PM	0,83***	0,68**	0,65**	0,97***	0,92***	0,97***	0,87***	0,96***	0,42	0,83***	1						
PR	0,77***	0,90***	0,53*	0,84***	0,90***	0,90***	0,89***	0,85***	0,17	0,63*	0,93***	1					
CL	0,48	0,73**	0,01	0,61*	0,91***	0,61*	0,95***	0,83***	0,18	0,71**	0,75**	0,82***	1				
CE	0,89***	0,67**	0,73**	0,90***	0,87***	0,94***	0,69**	0,83***	0,06	0,72**	0,90***	0,87***	0,61*	1			
TE	-0,36	-0,55*	-0,61*	-0,31	-0,26	-0,45	-0,06	-0,12	0,49	0,06	-0,32	-0,45	-0,03	-0,60*	1		
Ph	-0,98***	-0,60*	-0,82***	-0,99***	-0,90***	-1,00***	-0,72**	-0,88***	-0,44	-0,75**	-0,97***	-0,87***	-0,56*	-0,91***	0,42	1	
B	0,39	0,62*	0,63*	0,34	0,27	0,49	0,11	0,14	-0,46	-0,07	0,36	0,51	0,05	0,61*	-0,98***	-0,46	1

Chiffre en rouge : Corrélacion. *** : Corrélacion très hautement significative. ** : Corrélacion hautement significative. * : Corrélacion significative. **DH:** DPPH. **PRL:** Proline. **PRT:** Protéine. **AS:** ABTS. **CP:** Cuprac. **F:** Ferrozine. **FL:** Flavonoïdes. **PLP:** Polyphénols. **HF:** HMF. **FP:** FRAP. **PM:** Phosphomolybdate. **PR:** Pouvoir Réducteur. **CL:** Couleur. **CE:** Conductivité électrique. **TE:** Teneur en eau. **B:** Brix.

VII.1.2 Corrélations teneurs en antioxydants, activités antioxydante et anti-inflammatoire

L'analyse statistique des résultats (Tableau V) indique des corrélations hautement significatives entre la teneur en antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) et l'activité anti-inflammatoire aux différentes concentrations (0,5 ; 0,25 et 0,125 mg/ml). Ces résultats corroborent à ceux obtenus par Liu *et al.* (2013) qui ont rapporté que l'activité inflammatoire du miel est vraisemblablement liée aux composés phénoliques.

La matrice de corrélation révèle des corrélations hautement significatives entre les activités antioxydantes (tests ABTS, ferrozine et FRAP) et l'activité anti-inflammatoire à 0,5 mg/ml. Egalement, cette matrice indique un lien entre l'activité anti-inflammatoire (0,25 mg/ml) et le test au Phosphomolybdate ($r = 0,53$).

A la lumière des résultats obtenus, le miel M1 confirme les corrélations précédentes. En effet, ce miel enregistre une teneur élevée en antioxydants (polyphénols et en flavonoïdes). En outre, il manifeste une meilleure activité inflammatoire.

Tableau V : Corrélations activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires.

	DPP H	PRL	ABTS	CP	F	FL	PLP	FRA P	PHM	PR	A. inf 0,5 mg/ml	A. inf 0,25 mg/ml	A. inf 0,125 mg/ml
DPPH	1												
PRL	-0,02	1											
ABTS	0,29	0,65**	1										
CP	0,34	0,61*	0,82** *	1									
F	0,08	0,88** *	0,58*	0,78** *	1								
FL	0,18	0,80** *	0,87** *	0,65**	0,65**	1							
PLP	0,29	0,67**	0,93** *	0,78** *	0,57*	0,89** *	1						
FRAP	0,48	0,47	0,85** *	0,88** *	0,58*	0,62*	0,79** *	1					
PHM	0,17	0,78** *	0,88** *	0,68**	0,62*	0,92** *	0,91** *	0,63*	1				
PR	0	0,96** *	0,64**	0,63*	0,86** *	0,76** *	0,69**	0,46	0,78** *	1			
A. inf 0,5 mg/ml	-0,3	-0,16	0,65**	0,48	0,52*	0,75**	0,67**	0,61*	0,12	- 0,16	1		
A. inf 0,25 mg/ml	-0,3	-0,08	0,12	-0,29	-0,44	0,61*	0,21	-0,17	0,17	- 0,08	0,98***	1	
A. inf 0,125 mg/ml	-0,22	0,29	0,48	0,08	-0,03	0,53*	0,54*	0,19	0,53*	0,3	0,80***	0,86***	1

Chiffre en rouge : Corrélation. *** : Corrélation très hautement significative. ** : Corrélation hautement significative. * : Corrélation significative. PRL: Proline. CP: Cuprac. F: Ferrozine. FL: Flavonoïdes. PLP: Polyphénols. PHM: Phosphomolybdate. PR: Pouvoir Réducteur. A. inf 0,5 mg/ml: Activité anti-inflammatoire à une concentration de miel de 0,5 mg/ ml . A. inf 0,25 mg/ml: Activité anti-inflammatoire à une concentration de miel de 0,25 mg/ ml. A. inf 0,125 mg/ml: Activité anti-inflammatoire à une concentration de miel de 0,125 mg/ ml.

VII.1.3 **Corrélations entre les antioxydants et les activités antioxydante et anti-brunissement enzymatique**

La matrice de corrélation (tableau VI) montre des corrélations très hautement significatives entre l'activité anti-brunissement enzymatique et les antioxydants (polyphénols et flavonoïdes). Par conséquent, l'activité anti-brunissement enzymatique est liée à la couleur de miel. En effet, le miel M1 le plus riche en ces composés présente la meilleure capacité inhibitrice du brunissement enzymatique de la banane. Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux enregistrés par Nyawali *et al.* (2015).

L'activité anti-brunissement enzymatique est fortement corrélée aux activités antioxydantes (Tests ABTS, CUPRAC, FRAP, ferrozine, phosphomolybdate, pouvoir réducteur).

Tableau VI : Corrélations des activités anti-oxydantes et anti-brunissement enzymatique.

	DH	PRL	AS	CP	F	FL	PLP	FP	PM	PR	A.B 10% J1	A.B 100% J1	A.B 10% J2	A.B 100% J2	A.B 10% J3	A.B 100% J3
DH	1															
PRL	-0,88*	1														
AS	-0,89*	1,00***	1													
CP	-0,86*	1,00***	0,99***	1												
F	-0,90*	1,00***	1,00***	1,00***	1											
FL	-0,87*	0,99***	0,99***	0,98***	0,99***	1										
PLP	-0,87*	1,00***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	1									
FP	-0,87*	1,00***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	1,00***	1								
PM	-0,87*	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	0,99***	1,00***	1,00***	1							
PR	-0,88*	1,00***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	1,00***	1,00***	1,00***	1						
A.B 10% J1	-0,89*	0,98***	0,98***	0,98***	0,98***	0,99***	0,99***	0,98***	0,99***	0,99***	1					
A.B 100% J1	-0,8	0,98***	0,98***	0,98***	0,97***	0,98***	0,99***	0,98***	0,99***	0,98***	0,98***	1				
A.B 10% J2	-0,86*	0,99***	0,99***	0,98***	0,99***	0,97***	0,98***	0,99***	0,99***	0,98***	0,95***	0,95***	1			
A.B 100% J2	-0,81	0,98***	0,98***	0,97***	0,97***	0,99***	0,98***	0,98***	0,99***	0,98***	0,98***	0,99***	0,97***	1		
A.B 10% J3	-0,87*	1,00***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	0,98***	0,98***	0,99***	0,98***	1	
A.B 100% J3	-0,85*	0,99***	0,99***	0,99***	0,99***	0,99***	1,00***	1,00***	1,00***	0,99***	0,99***	0,99***	0,98***	0,99***	0,99***	1

Chiffre en rouge : Corrélations. *** : Corrélations très hautement significatives. ** : Corrélations hautement significatives. * : Corrélations significatives. **DH:** DPPH. **PRL:** Proline. **AS:** ABTS. **CP:** Cuprac. **F:** Ferrozine. **FL:** Flavonoïdes. **PLP:** Polyphénols. **FP:** FRAP. **PM:** Phosphomolybdate. **PR:** Pouvoir Réducteur. **A.B 10% J1 :** Premier jour à Température ambiante avec l'eau. **A.B 100% J1:** Premier jour à Température ambiante sans eau. **A.B 10% J2:** Deuxième jour à Température ambiante avec l'eau. **A.B 100% J1:** Deuxième jour à Température ambiante sans eau. **A.B 10% J3:** Troisième jour à Température ambiante avec l'eau. **A.B 100% J1:** Troisième jour à Température ambiante sans eau.

VII.2 ACP des paramètres physicochimiques, activité antioxydante et activité anti-inflammatoire

L'analyse exploratoire ACP est réalisée pour déterminer les similitudes entre les différents miels et pour montrer les relations entre les variables étudiées dans un espace bidimensionnel.

La figure 30 montre que le taux d'information porté par les 2 composantes principales est approximativement 82% de total des variables. La première composante principale explique 59,83 % des données et représente le pH dans la partie positive et l'activité anti-inflammatoire des deux concentrations (1 et 2 mg/ml respectivement), les teneurs en protéines, en HMF, polyphénols et les tests FRAP, DPPH et ABTS, l'activité anti-inflammatoire de la concentration à 0,5 mg/ml dans la partie négative. La deuxième composante principale explique 22,59 % des données et représente le brix, la teneur en proline, le pouvoir réducteur, la couleur, CUPRAC, la teneur en flavonoïdes, la conductivité électrique, la ferrozine et phosphomolybdate dans la partie positive, cependant la teneur en eau est présentée dans la partie négative.

Le cercle de corrélation montre que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes, les activités antioxydantes (les tests DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, cuprac, ferrozine, phosphomolybdate) et la couleur sont très proches. Ce test statistique confirme la forte corrélation entre l'activité antioxydante, la teneur en antioxydants et la couleur.

L'analyse en composantes principales montre trois groupes d'échantillons (figure 26). Le premier groupe se trouve dans la partie gauche de la figure 26 et contient les miels locaux M1 et M2. Ces miels se distinguent par les teneurs élevées en composés bioactifs, les meilleures valeurs en paramètres physicochimiques et les meilleures activités antioxydante et anti-inflammatoire.

Le deuxième groupe homogène est au milieu, il contient les miels importés M3 et M4 qui sont caractérisés par leur similarité en termes de paramètres étudiés. Il montre des valeurs moyennes en paramètres physicochimiques, en composés bioactifs et en activités biologiques. Cependant, le troisième groupe qui contient le miel M5 se trouve à l'opposé du graphique et il est moins riche en composés bioactifs et il est moins actif en termes d'activités biologiques.

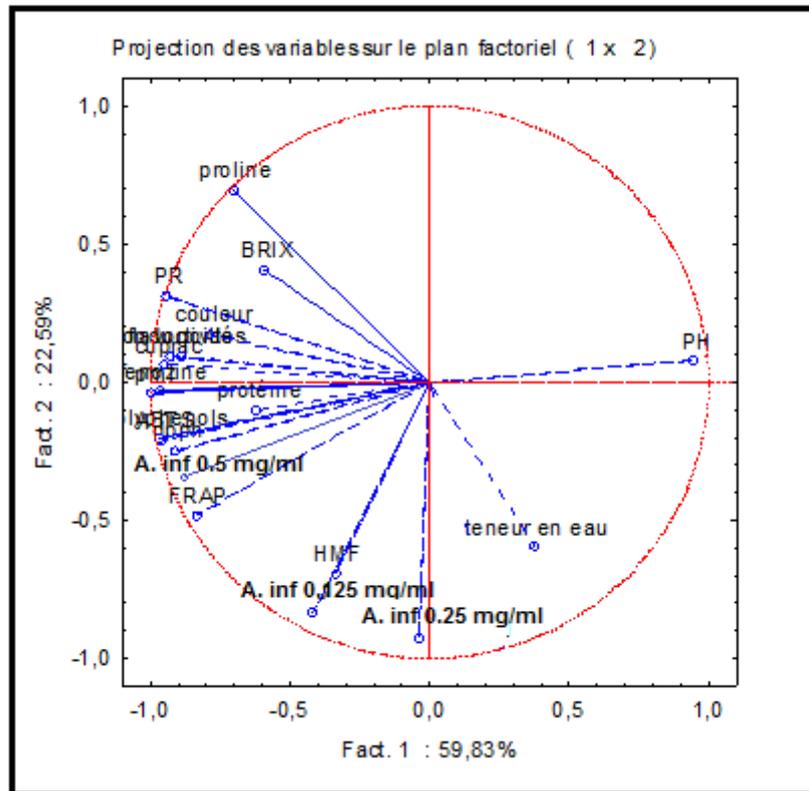


Figure 18: ACP des paramètres physicochimiques, activité antioxydante et activité anti-inflammatoire.

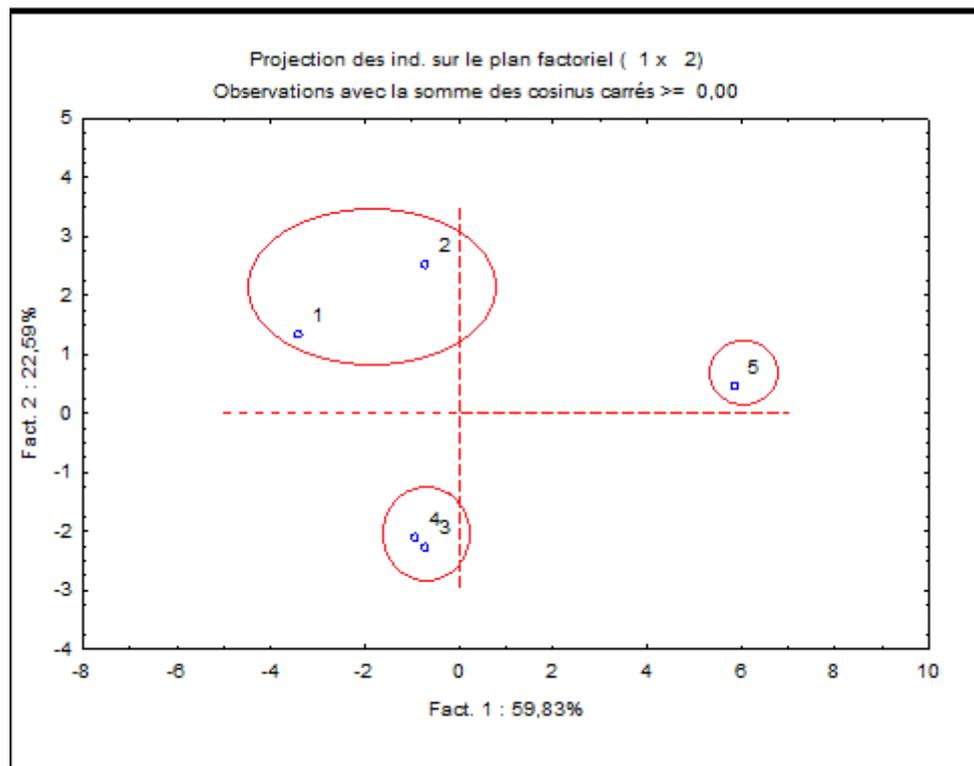


Figure 19: Différents groupes des échantillons de miel.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

La présente étude a évalué la qualité de deux échantillons de miel récoltés dans différentes régions de la wilaya du Bejaia (Timezrit et Beni Maouche), en analysant le profil pollinique et par l'étude des paramètres physico-chimiques ainsi que les activités antioxydante, anti-inflammatoire et anti-brunissement enzymatique, tout en comparant avec des miels d'importation.

Les analyses polliniques montrent que les deux miels locaux sont des miels monofloraux tandis que les miels importés sont dépourvus de pollen.

Les différents paramètres physicochimiques étudiés montrent que les échantillons de miels locaux sont conformes aux normes proposées par la commission du Codex Alimentarius. Les teneurs en HMF montrent qu'ils sont tous des miels frais et la teneur en proline confirme l'absence d'adultération et falsification de ces miels contrairement aux miels importés.

Le dosage des antioxydants et l'étude de l'activité antioxydante montrent que les miels locaux et surtout le miel foncé M1 possèdent la teneur la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes. Par conséquent, ce miel a la meilleure activité antioxydante par rapport aux miels d'importation.

Cette étude montre que tous les échantillons possèdent une activité anti-inflammatoire dont la plus faible est enregistrée par le miel importé M5.

L'étude de l'activité anti-brunissement enzymatique confirme que le miel possède la capacité de réduire le brunissement enzymatique des bananes. La meilleure activité est enregistrée par le miel foncé. Le miel retarde plus efficacement le brunissement dans à une basse température et forte concentration.

Les analyses statistiques révèlent une corrélation hautement significative entre la couleur de miel, sa teneur en antioxydants et ses activités biologiques (l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anti-brunissement enzymatique).

Notre étude indique que les miels Algériens sont de bonne qualité et possèdent la meilleure activité biologique par rapport aux miels d'importations qui sont falsifiés.

En termes de perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- D'étudier d'autres propriétés biologiques (antivirale, antifongique, antibactérienne anticancéreuse ...).
- De suivre cette étude par des applications *in-vivo*.

- D'approfondir l'étude sur l'activité anti-brunissement enzymatique (utiliser des nouvelles techniques et différents échantillons de miel avec plusieurs concentrations).
- D'étudier la capacité de miel à inhiber le brunissement d'autres aliments (fruits, légumes, viande...).
- D'étudier la corrélation entre la couleur de miel et son activité anti-brunissement enzymatique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- ✚ **Adams C.J., Boulton C.H., Deadman B.J., Farr J.M., Grainger M.N.C., Manley-Harris M., Snow M.J. (2008).** Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate Research*, 343, 651–659.
- ✚ **Adenekan M. O., Amusa N. A., Lawal A. O., Okpeze V. E. (2010).** Physico-chemical and microbiological properties of honey samples obtained from Ibadan, *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 2 (8), 100-104.
- ✚ **Al M. L., Danie D., Moise A., Bobis O., Laslo L. Bogdanov S. (2009).** Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112, 863-867.
- ✚ **Al-Farsi M., Al-Amri A., Al-Hadhrami A., Al-Belushi S. (2018).** Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*, 4 (10), 1-14.
- ✚ **Aljadi A. M., Kamaruddin M. Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85, 513-8.
- ✚ **Alvarez-Suarez J. M., Tulipani S., Diaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S., 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, 2490-2499.
- ✚ **Amellal H. (2008).** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en Technologie Alimentaire. *Université M'hamed Bouguera. Boumerdes*. p. 127.
- ✚ **Ames N. B., Shigenaga M. K., Hagen T.M. (1993).** Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 7915-7922.
- ✚ **Amessis-Ouchemoukh N. (2014).** Caractérisation phytochimique par UHPLC-ESI-QTOFMS/MS de quelques extraits de plantes médicinales et la détermination de leurs propriétés biologiques : anti-inflammatoire, anti-acétylcholinestérase et antioxydante. *Thèse Doctorat en Sciences Alimentaires*. Université Abderrahmane Mira-Bejaia, p. 230.
- ✚ **Amessis-Ouchemoukh N., Ouchemoukh S., Benchibane T., Hernanz D., Stinco C., Rodriguez-Pulido F., Heredia F., Madani K., Luis J. (2017).** Valorization of the

- whole grains of *Triticum aestivum* L. and *Triticum vulgare* L. through the investigation of their biochemical composition and *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and anticalpain activities. *Journal of Cereal Science*, 75, 278-85.
- ✚ **Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M., Tacchini M. (1989).** Les composés phénoliques des miels: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20 (2), 115-125.
- ✚ **Andersen Ø. M., Markham K. R. (2006).** Flavonoids chemistry, biochemistry and applications. In Separation and quantification of flavonoids. New York: Taylor & Francis. *Apidologie*, 12 (4), 383-396.
- ✚ **Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S. E. (2004).** New total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reduction capacity in the presence of neocuproin: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
- ✚ **Aurongzeb M., Azim M. K. (2011).** Antimicrobial properties of natural honey: a review of literature. *Pakistan Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, 44, 118-124.
- ✚ **Ávila S., Hornung P. S., Teixeira G. L., Malunga L. N., Apea-Bah F. B., Beux M. R., Beta T., Ribani R. H. (2019).** Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. *Food Research International*, 123, 1–10.
- ✚ **Ayad R., Amessis-Ouchemoukh N., Ouchemoukh S., Madani K., Boulekbache-Makhlouf L. (2021).** Pollen profiles, physicochemical characteristics, and antioxidant activities of two honey samples from Jijel city (Algeria). *Food Technology*, 45 (2), 147-167.
- ✚ **Azeredo, L.C., Azeredo, M.A.A., Souza, S.R., & Dutra, V.M.L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins, *Food Chemistry*, 80 (2), 249–254.
- ✚ **Baloš M. M. Ž., Jakšić S. N., Popov N. S., Polaček A. V. (2021).** Characterization of Serbian sunflower honeys by their physicochemical characteristics. *Food and Feed Research*, 48 (1), 1-8.
- ✚ **Bang L.M., Buntting C., Molan, P.C. (2003).** The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9, 267–273.

- ✚ **Barbara R. (2009).** Le chemin du miel. Atelier de reproduction, *Agridea*, 23.
- ✚ **Bean A. (2012).** Investigating the anti-inflammatory activity of honey. *PhD Thesis*, Biological Sciences. The University of Waikato, p. 353.
- ✚ **Belay A., Dessi H., Guelelat B., Marc B., Admassu B., Melaku S. (2016).** Rheology and botanical origin of Ethiopian monofloral honey. *LWT-Food Science and technology*. 75, 10-1016.
- ✚ **Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533 (2), 185-191.
- ✚ **Biluca F., Da Silva B., Caon T., Mohr E., Vieira G., Gonzaga L., Vitali L., Micke G., Fett R., Dalmarco E., Costa A. (2020).** Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (*Meliponinae*). *Food Research International*, 129, 108756.
- ✚ **Bogdanov S. (2016).** Honey composition. *Bee Product Science*
- ✚ **Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., Iff D., Känzig A., Seiler K., Stöckl H. and Zürcher K. (2004).** Produits apicoles: le Miel. *Produits apicoles*, 1-37.
- ✚ **Bogdanov S., Lullman C., Martin P. (1999).** Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la Commission Internationale du miel. *Bee world*, 80, 61-69.
- ✚ **Bogdanov S., Marttin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl G., Russmann H., Persano-Oddo L., Sabatini A. G., Maecazzan G. L., Marioleas P., Tsigouri A., KerKvliet J., Ortiz A., Ivanov T. (1997).** Harmonised Methods of the uropean honey commission. *Apidologie*, 1-59.
- ✚ **Bonté F., Désmolière A. (2013).** « Le miel, quel intérêt en cicatrisation? ». Le miel origine et composition. *Actualités phamaceutiques*, 18-21.
- ✚ **Boussaid A., Chouaibi M., Rezig L., Hellal R., Donsi` F., Ferrari G., Hamdi S. (2018).** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11, 265-274.
- ✚ **Bouyahya A., Abrini J., Et-Touys A.,Lagrouh F., Dakka N., Bakri Y. (2017).** Phytochemical Analysis and Evaluation of the Antioxidant Activity of Moroccan Honey Samples. *Phytothérapie*, 17, 1122-3.
- ✚ **Bradford M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

- ✚ **Bueno-Costa F., Zambiasi R., Bohmer B., Chaves F., Silva W., Zanusso J., Dutra L. (2016).** Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 333- 340.
- ✚ **Chen L., Mehta A., Berenbaum M., Zangerl A. R., Engeseth N. J. (2000).** Honeys from different sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4997- 5000.
- ✚ **Cho Y., Lee S., Kim S., Ahn C., Je J. (2011).** Aminoethyl-chitosan inhibits LPS-induced inflammatory mediators, iNOS and COX-2 expression in RAW264.7 mouse macrophages. *Process Biochemistry*, 46 (2), 465–470.
- ✚ **Cliver D. O. (2000).** Honey, human pathogens, and HACCP. Dairy, *Food and Environmental Sanitation*, 20 (4), 261-263.
- ✚ **Codex Alimentarius Commission. (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12, 1-7.
- ✚ **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 (44), 2-10.
- ✚ **Das A., Datta S., Mukherjee S., Bose S., Ghosh S., Dhar P. (2017).** Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of Sesamum indicum honey containing phenolic compounds and lignans. *Food Science and Technology*, 61, 244 250.
- ✚ **De Almeida-Muradian L. B., Klaus M. Stramm M. S., Horita A., Barth O. M., Da Silva de Freitas A., Estevinho L. M. (2013).** Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1698–1706.
- ✚ **Doukani K., Tabak S., Derriche A., Hacini Z.. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*, 10, 1112-5888.
- ✚ **Ebrahimzadeh M. A., Pourmorad F., Bekhradnia A. R. (2008).** Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18), 3188-3192.
- ✚ **Echigo T., Takenaka T. (1974).** Production of organic acids in honey by honeybees. *Journal of Agricultural Chemistry Society of Japan*, 48 (4), 225-230.

- ✚ **El Sohaimy S. A., S.H.D. Masry S. H. D. and M.G. Shehata M. G. (2015).** Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Science*, 60 (2), 279-287.
- ✚ **Fautrel B., Cherin, P. (2000).** Intérêt des molécules anti-TNF- α dans les maladies inflammatoires et infectieuses. *La Revue de Médecine Interne*, 21(10), 872–888.
- ✚ **Feás X., Vázquez-Tato M., Estevinho L., Seijas J., Iglesias A. (2012).** Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17 (7), 8359–8377.
- ✚ **Flores M., Escuredo O., Seijo M. (2015).** Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food chemistry*, 166, 101-106.
- ✚ **Franty A. (1984).** L'apiculture aujourd'hui. Edition dunob, Paris, France, 31-222.
- ✚ **Friedman M. (1997).** Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1523-1540.
- ✚ **Gasparrini M., Afrin S., Forbes-Hernández T., Cianciosi D., Reborodo-Rodriguez P., Amici A., Giampieri F. (2018).** Protective effects of Manuka honey on LPS-treated RAW 264.7 macrophages. Part 2: Control of oxidative stress induced damage, increase of antioxidant enzyme activities and attenuation of inflammation. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 578–587.
- ✚ **Geno C., Eymard S., Viau M. (2004).** Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation, Oléagineux, corps gras, lipides, *Food Chemistry* 11 (2), 133-141.
- ✚ **Gheldof N., Wang X., Engeseth N. J. (2002).** Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5870- 5877.
- ✚ **Gonnet M. (1982).** Le miel, composition, propriétés et conservation. Ed. OPIDA.
- ✚ **Gonnet M., Vache G. (1985).** Le goût du miel .Edition U.N.A.F., Paris, p. 146.
- ✚ **Goodarzi B., Khosravi A. (2013).** The Effects of simultaneous 8 weeks *Astragalus* sp/ *Euphorbia cheriradenia* honey supplementation and endurance training on membrane lipid peroxidation of erythrocytes after a bout acute Exhaustive treadmill exercise in rats. *European Academic Research*, 1 (2), 2286- 4822.

- ✚ **Gülçin İ., Alici H. A., Cesur M. (2005).** Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 281-285.
- ✚ **Gulçin I., Oktay M., Kirreçci E., Kufrevioglu O. I. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-381.
- ✚ **Habib H. M., Al Meqbali F. T., Kamal H., Souka U. D., Ibrahim W. H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153, 35–43.
- ✚ **Hossain M., Niloy S., Hosen A., Islam M., Islam Z., Das S., Rana M. (2016).** Antioxidant Activities and HPLC-DAD Based Phenolic Content Determination of *Bauhinia scandens*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (6), 1–9.
- ✚ **Hoyet C. (2005)** Le miel : de la source a la thérapeutique. Thèse.Nancy1 : Université Henri Poincaré.
- ✚ **Hwang K., Hwang Y., Song J. (2016).** Antioxidant activities and oxidative stress inhibitory effects of ethanol extracts from *Cornus officinalis* on raw 264.7 cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16 (1), 196.
- ✚ **Ibrahim Khalil M., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Asiful I., Nazmul I. M., Siti Amrah S., Siew Hua Gan. (2012).** Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules*, 17, 11199-11215
- ✚ **Imtara H., Elamine Y., Lyoussi B. (2018).** Honey antibacterial effect boosting using *Origanum vulgare* L. essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–14.
- ✚ **Isla M I., Craig A., Ordonez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomon V., Maldonado L. (2011).** Physico-chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Science and Technoogy*, 44 (9), 1922-1930.
- ✚ **Izzah N. I., Kadir M. R. A., Zulkifli R. M., Mohamed M. (2021).** Antioxidant profiles between Malaysian *Apis* And *Trigona* honeys. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 25 (2), 243-256.
- ✚ **Jeon M., Zhao Y. (2005).** Honey in combination with vacuum impregnation to prevent enzymatic browning of fresh-cut apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (3), 165-176.

- ✚ **Kähköen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T. S. & Heinonen M. (1999).** Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- ✚ **Kamaruzzaman M.A., Chin K.Y., Mohd-Ramli E.S. (2019).** A Review of potential beneficial effects of honey on bone health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 110.
- ✚ **Kandikattu K., Bharat R. K., Venu P. R., Sunil K. K., Ranjith S. B. R. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1 (5), 729-730.
- ✚ **Kassim M., Achoui M., Mansor M., Yusoff K. (2010).** The inhibitory effects of Gelam honey and its extracts on noucheitric oxide and prostaglandin E2 in inflammatory tissues. *Fitoterapia*, 81 (8), 1196–1201.
- ✚ **Khalil M. I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M. A., Islam M. N., Sulaiman S .A., Gan S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17 (9), 11199–11215.
- ✚ **Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100 (2), 526-534.
- ✚ **Larsen P., Ahmed M. (2022).** Evaluation of antioxidant potential of honey drops and honey lozenges. *Food Chemistry Advances*, 1- 100013.
- ✚ **Lewoyehu M., Amare M. (2019).** Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activities of honey: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 4 (5), 1-24.
- ✚ **Li C., Lin E. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of *Areca catechu* seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), 7831–7836.
- ✚ **Linkon K. M. M. R., Prodhon U. K., Hakim M. A., Md. Abdul Alim, M. A. (2015).** Study on the physicochemical and antioxidant properties of nigella honey. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4 (2), 137-140.
- ✚ **Liu J., Ye Y., Lin T., Wang Y., Peng C. (2013).** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139, 938–943.
- ✚ **Lochhead A. G. (1933).** Factors concerned with the fermentation of honey. *Food Chemistry*, 88, 296-302.

- ✚ **Lokossou, S.C., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H., & Soumanou, M.M. (2017).** Physiochemical characterization and polyphenolic content of Beninese Honeys. *International Scholarly Reasearch Notices*, 1-8.
- ✚ **Louveaux J. (1976).**Caractéristiques et composition du miel. Ed. INRA, pp. 37- 46.
- ✚ **Louveaux J., Maurizio A., Vorwohl G. (1978).**Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, 139– 157.
- ✚ **Machado De-Melo A. A., Almeida-Muradian L. B., Sancho M. T., Pascual-Maté, A. (2018).** Composition and properties of Apis mellifera honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5–37.
- ✚ **Magné N., Didelot C., Toillon R., Van Houtte P., Peyron J. (2004).** Biomodulation du facteur de transcription NF- κ B par les radiations ionisantes. *Cancer/Radiothérapie*, 8(5), 315–321.
- ✚ **Makhloufi C., Kerkvliet D., Ricciardelli-D'albore G., Choukri A., Samar R. (2010).** Characterization of Algeriean honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41, 509-521.
- ✚ **Martinez M., Whitaker J. (1995).** The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Science and Technology*, 6, 195-200.
- ✚ **Mato I., Huidobro J F., Simal-Lozano J., Sancho M. T. (2003).** Significance of nonaromaticorganic acids in honey. *Journal of Food Protection*, 66 (12), 2371-2376.
- ✚ **Mcanalley S., Koepke C.M., Le L., Vennum E., Mcanalley R., Mcanalley B. (2003).** *In vitro* methods for testing antioxidant potential. *GlycoScience and Nutrition*, 4 (42), 1-9.
- ✚ **Meda A. (2005).** Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activités biologiques des miels de Burkina Faso. *Thèse de doctorat*. Université de Ouagadougou, p. 186.
- ✚ **Meda A., Lamien C. E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O. G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577.
- ✚ **Mendes E., Brojo-Proença E., Ferreira I., Ferreira M. (1998).**Quality evaluation of Portuguese honey, Rev. *Carbohydr.Polym*, 03, 219–223.
- ✚ **Militello V., Vetri, V., Leone M. (2003).** Conformational changes involved in thermal aggregation processes of bovine serum albumin. *Biophys. Chem*, 105, 133-141.

- ✚ **Missio da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
- ✚ **Moniruzzaman M., Sulaiman S., Khalil M., Gan S. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7 (1), 138.
- ✚ **Morse R., Lisk D. J. (1980).** Elemental analysis of honeys from several nations. *Annual Bee Journal*, 7, 522-523.
- ✚ **Moumeh B., Garrido M. D., Diaz P., Peñaranda I., Linares M. B. (2020).** Chemical analysis and sensory evaluation of honey produced by honeybee colonies fed with different sugar pastes. *Food Science and Nutrition*, 8, 5823–5831.
- ✚ **Naithani V., Nair S., Kakkar P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39, 176-181.
- ✚ **Nicolas J., Billaud C. (2006).** Prévention du brunissement enzymatique. in *Les polyphénols en agroalimentaire*. P. Sarni-Manchado et V. Cheynier Eds. Paris, Tec et Doc. Lavoisier: 173-210.
- ✚ **Nicolas J., Richard-Forget F., Goupy P., Amiot M., Aubert S. (1994).** Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Crit. Rev. Food Science and Nutrition*, 34, 109-157.
- ✚ **Nyawali B., Chungu D., Chisha-Kasumu E., Vinya R., Chileshe F., Ng'andwe P. (2015).** Enzymatic browning reduction in white cabbage (*Brassica oleracea*) using honey: Does honey color matter?, *Food Science and Technology*, 61, 543-549.
- ✚ **Olusesan O., Okpuzor J. (1996).** Time Course of PPO-Related Browning of Yams, *Food Science and Nutrition*, 70, 190-196.
- ✚ **Oszmianski J., Lee C. (1990).** Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *Journal of Agricultural Food Science*, 38, 1892- 1895.
- ✚ **Otmani A., Amessis-Ouchemoukh N., Birinci C., Yahiaoui S., Kolayli S., Rodriguez-Flores M., Escuredo O., Sejio M C., Ouchemoukh S. (2021).** Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys. *Food Bioscience*, 42, 101070.
- ✚ **Otmani A. (2022).** Paramètres physicochimiques, profils polliniques et phénoliques et propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et inhibitrices

- d'enzymes de miels d'Algérie. Thèse Doctorat en Biochimie Appliquée et Biotechnologies. Université Abderrahmane Mira-Bejaia, p. 259.
- ✚ **Ouchemoukh S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, p. 162.
 - ✚ **Ouchemoukh S., Amessis-Ouchemoukh N., Gómez-Romero M., Aboud F., Giuseppe A., Fernández-Gutiérrez A., Segura-Carretero, A. (2017).** Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 460–469.
 - ✚ **Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18 (1), 52-58.
 - ✚ **Özcan M., Al Juhaimi F. (2016).** Honey as source of natural antioxidants. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 145–154.
 - ✚ **Özkök D., Silici S. (2017).** Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food Science and Biotechnology*, 26 (1), 201–206.
 - ✚ **Ozler H., Pehlivan S. (2007).** Comparaison of pollen morphological structures of some Taxa belonging *Taospargus L.* and *Fritillaria L.* (Lilaceae) from turkey. *Bangladesh Journal of Botanic*, 36(2), 111_120.
 - ✚ **Perez R. A., Iglesias M. T., Pueyo E., Gonzalez M., De Lorenzo C. (2007).** Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55 (2), 360-5.
 - ✚ **Rajindran N., Wahab R. A., Huda N., Julmohammad N., Shariff A. H. M., Ismail N. I., Huyop F. (2022).** Physicochemical Properties of a New Green Honey from Banggi Island, Sabah. *Molecules*, 27, 4164.
 - ✚ **Rao P., Krishnan K., Salleh N., Gan S. (2016).** Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26 (5), 657–664.
 - ✚ **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9–10), 1231–1237
 - ✚ **Reille M., Pons A. (1990).** Leçon de palynologie et d'analyse pollinique. *Ecologia Mediterranea*, 16, 169-193.

- ✚ **Reinhammar B., Malmström B. G. (1981).** "Blue" copper-containing oxidases. *in* Copper Proteins. T G. Spiro (Ed.). New York, John Wiley and Sons, 109-149.
- ✚ **Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudrand P. et Ribéreau-Gayon P (1982).** Composés phénoliques. In «Traité d'oenologie sciences et techniques du vin». Ed. Dunod, p. 477-519.
- ✚ **Robards K., Prenzler P., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. (1999).** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436. *Food Chemistry*, 66, 401- 436.
- ✚ **Saba Z. H., Yusoff K.M., Makpol S., Yusoff M. A. Y. (2011).** Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Journal molecules*, 16, 6378-6395.
- ✚ **Sagdic O., Silici S., Ekici L. (2013).** Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *InternationalJournal of Food Properties*, 16 (3), 658–666.
- ✚ **Schivre E. (2006).** L'abeille, ses produits de sécrétion et leurs utilisations thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Nancy, 169.
- ✚ **Schweitzer P. (2004).** Mauvaise herbe et apiculture, Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole, Rev. *L'abeille de France*. P. 9 -11.
- ✚ **Siddique I. (1970).** The sugars of honey. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry* .25 :285-309.
- ✚ **Solomon W. K., Bultossa G., Adgaba N., Melaku S., (2013).** Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141, 3386-3392.
- ✚ **Sousa J. M., De Souza E. L., Marques G., Meireles B., De Magalhães Cordeiro Â. T., Gullón B., Magnani M. (2016).** Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Meliponini in the Brazilian semiarid region. *Food Research International*, 84, 61–68.
- ✚ **Spignon G., Tramelli L.,De Faveri D. M. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grappe marc phenolics, J. *Journal of Food Engineering*. 81, 200-208.
- ✚ **Stanski C., Luz C., Nogueira A., Nogueira M. (2013).** Palynology of species in the Asteraceae and Heliantheae tribes occurring in the region of Campos Gerais, Parana State, Brazil. *Iheringia Serie Botanica*, 68, 203-214.

- ✚ **Subramanian R., Hebbar H. U., Rastogi N. K. (2007).** processing of honey: a review. *International journal of food properties*, 10 (1), 127-143.
- ✚ **Tahir H., Zou X., Li Z., Shi J., Zhai X., Wang S., Mariod A. (2017).** Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry*, 226, 202–211.
- ✚ **Temizer I., Güder A., Temel F., Cüce H. (2018).** Antioxidant activities and heavy metal contents of *Castanea sativa* honey. *Global NEST Journal*, 20 (3), 541-550.
- ✚ **Terrab A., Díez M., Heredia F. (2002).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79 (3), 373–379.
- ✚ **Terrab A., Díez M.J., Heredia F.J. (2003).** Palynological, Physicochemical and color characterization of Moroccan honeys Orange (*Citrus* sp.) honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 387-394.
- ✚ **Terrab A., Recamales-Angeles F., Hernanz D., Heredia FJ. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honey by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food chemistry*, 88, 537-542.
- ✚ **Trinh N. T. N., Tuan N. N., Thang T. D., Kuo P. C., Thanh N. B., Tam L. N., Tuoi L.H., Nguyen T. H. D., Vu D. C., Ho T. L., Anh L. N., Thuy N. T. T. (2022).** Chemical Composition Analysis and Antioxidant Activity of Coffea robusta Monofloral Honeys from Vietnam. *Foods*, 11, 388.
- ✚ **Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. (2009).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526–534.
- ✚ **Vaughn K., Duke S. (1984).** Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiology of Plant*, 60, 106-112.
- ✚ **Von Der Ohe W., Persano-Oddo L., Piana M., Morlot M., Martin P. (2004).** Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, 18–25.
- ✚ **Wang H., Gao X., Zhou G., Cai L., Yao W. (2008).** *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106 (3), 888 – 895.
- ✚ **Wen Y. Q., Zhang J., Li Y., Chen L., Zhao W., Zhou J., Jin Y. (2017).** Characterization of Chinese Unifloral Honeys Based on Proline and Phenolic Content as Markers of Botanical Origin, Using Multivariate Analysis. *Molecules*, 22, 735.

- ✚ **Weston J.S. (2002).** Treatment of gram-positive infections: past, present, and future. *Critical Care Nursing Clinics North American*, 14 (1), 17–29.
- ✚ **White J. W. (1975).** Composition of honey.,In Crane, E (ed.) Honey, a comprehensive survey, Heinemann Edition. *London*, 157-206.
- ✚ **Woo K.J., Jeong Y.J., Inoue H., Park J.W., Kwon T.K. (2005).** Chitin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of nuclear factor for IL-6 (NF-IL-6) DNA-binding activity. *Food Chemistry*, 579, 705–711.
- ✚ **Yadata D. (2014).** Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. *Food Science and Technology*, 2(5), 59-63.
- ✚ **Yayinie M., Atlabachew M., Tesfaye A., Hilluf W., Reta C., Alemneh T. (2022).** Polyphenols, flavonoids, and antioxidant content of honey coupled with chemometric method: geographical origin classification from Amhara region, Ethiopia. *International Journal of food Properties*, 25(1) 76-92.
- ✚ **Zaidi H. (2019).** Caractéristiques physico-chimiques, profils polliniques et glucidiques et propriétés biologiques des miels Algériens. Thèse Doctorat en Biochimie et Biologie Moléculaire. Université Abderrahmane Mira-Bejaia, p. 173.
- ✚ **Zaidi H., Ouchemoukh S., Amessis-Ouchemoukh N., Debbache N., Pachecoc R., Serralheiroc M.L., Araujo M.E. (2019).** Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys— The inhibition of acetylcholinesterase and α -glucosidase activities. *European Journal of Integrative Medicine*, 25, 77–84.
- ✚ **Zawistowski J., Biliaderis C., Eskin N. (1991).** Polyphenol oxidase. *in* Oxidative enzymes in foods. D. S. R. Robinson, N. A. M. Eskin (Eds.). London, Elsevier. *Applied Science*, 217-273.
- ✚ **Zeghal, K. M., Sahnoun Z. (2013).** La réaction inflammatoire et le stress oxydant. Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes. *MeSédecine d'Asie- Savoirs et Pratiques*, 978 (2), 81-78.

Annexes

Annexe 1 : Les poids des bananes utilisés

Banane	Poids (g)
01	122,41
02	124,73
03	125,30
04	125,98
05	139,11
06	127,26
07	126,52
08	123,47

Annexe 2 : Table de Chataway.

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1,5041	13,0	1,4910	18,2
1,5035	13,2	1,4905	18,4
1,5030	13,4	1,4900	18,6
1,5025	13,6	1,4895	18,8
1,5020	13,8	1,4890	19,0
1,5015	14,0	1,4885	19,2
1,5010	14,2	1,4880	19,4
1,5005	14,4	1,4876	19,6
1,5000	14,6	1,4871	19,8
1,4995	14,8	1,4866	20,0
1,4990	15,0	1,4862	20,2
1,4985	15,2	1,4858	20,4
1,4980	15,4	1,4853	20,6
1,4975	15,6	1,4849	20,8
1,4970	15,8	1,4844	21,0
1,4965	16,0	1,4828	21,5
1,4960	16,2	1,4815	22,0
1,4955	16,4	1,4802	22,5
1,4950	16,6	1,4789	23,0
1,4945	16,8	1,4777	23,5
1,4940	17,0	1,4764	24,0
1,4935	17,2	1,4752	24,5
1,4930	17,4	1,4739	25,0
1,4925	17,6	1,4726	25,5
1,4920	17,8	1,4714	26,0
1,4915	18,0	1,4702	26,5

Annexe 3 : Courbes d'étalonnages

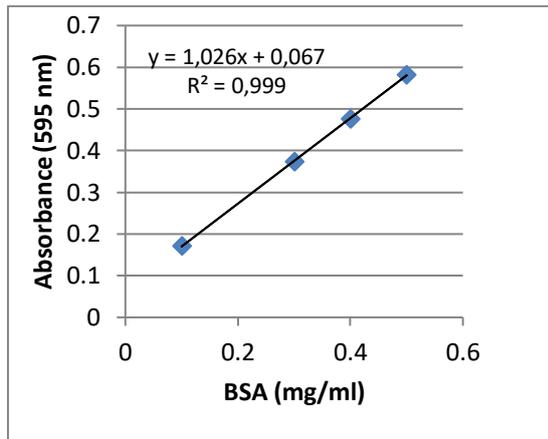


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines.

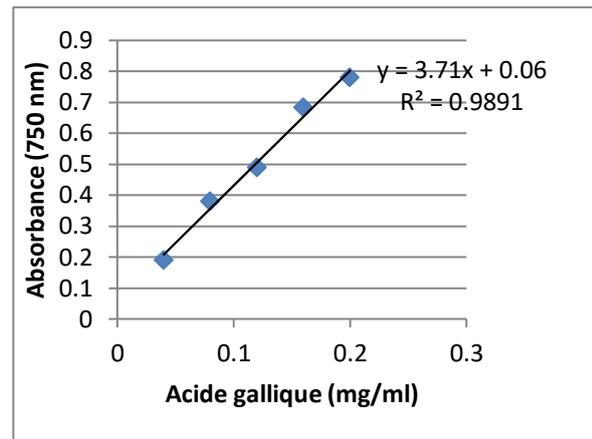


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des polyphénols

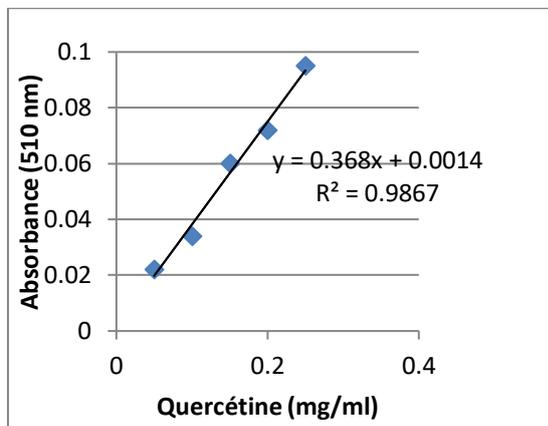


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes. Figure 4: Courbe d'étalonnage du test au phosphomolibdate

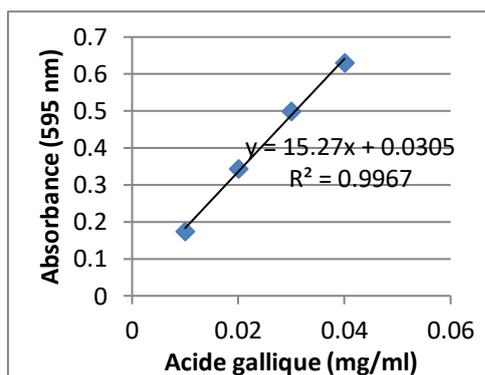
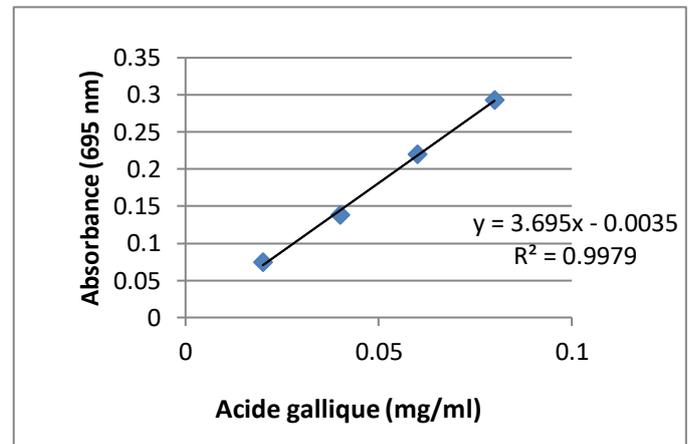


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du test CUPRAC.

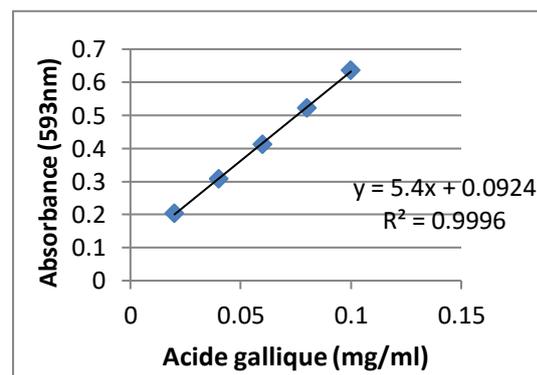


Figure 6 : Courbe d'étalonnage du test FRAP.

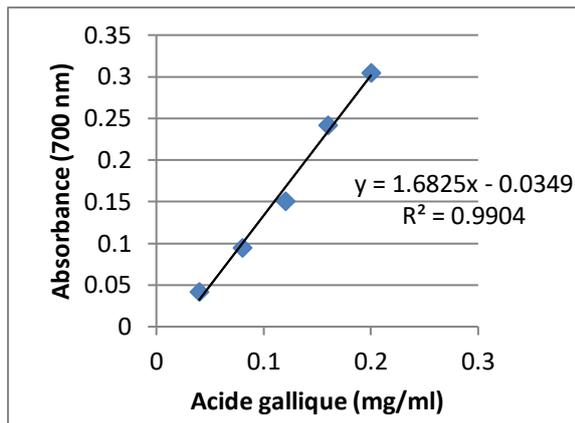


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.

Résumé

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera*. Cette étude consiste à déterminer l'origine botanique, les caractéristiques physico-chimiques et l'évaluation des propriétés biologiques de deux miels Algériens en comparant avec des miels d'importation. Les analyses polliniques montrent que tous les miels locaux sont d'origine monofloral et la majorité des miels importés sont dépourvus de pollen. Selon les paramètres physico-chimiques (pH, humidité, couleur, conductivité électrique, teneur en HMF, proline et protéines), tous les miels locaux sont conformes aux normes internationales, contrairement au miel d'importation. Le taux de polyphénols et en flavonoïdes varient respectivement, de 4.40 à 48.79 mg d'EAG / 100 g et de 15,40 à 67,93 mg EQ /100 g, respectivement. Le miel foncé est le plus riche en antioxydants. L'étude de la capacité antioxydante par 07 méthodes différentes (les activités antiradicalaires contre le DPPH et l'ABTS, le pouvoir réducteur, la réduction au phosphomolybdate, le test de CUPRAC et FRAP) révèlent que les miels analysés possèdent des activités antioxydantes qui diffèrent d'un miel à un autre, dont la meilleure est enregistrée par les miels locaux. Tous les échantillons possèdent une activité anti-inflammatoire, dont la plus faible est enregistrée par le miel importé M5. L'étude de l'activité anti-brunissement enzymatique confirme que le miel possède la capacité de réduire le brunissement enzymatique des bananes, et montre que le miel retarde plus efficacement le brunissement à une basse température et forte concentration. Les analyses statistiques révèlent une corrélation hautement significative entre la couleur de miel, sa teneur en antioxydants et ses activités biologiques.

Mot clés : Miel, propriétés physicochimiques, activité antioxydante, activité anti inflammatoire, activité anti-brunissement, Bananes.

Abstract:

Honey is the natural sweet substance produced by *Apis mellifera* bees. The aim of this study is to determine the botanical origin, the physico-chemical characteristics and the evaluation of the biological properties of two Algerian honeys and comparing them with imported honeys. Pollen analyzes show that all local honeys are of monofloral origin, and the majority of imported honeys are pollen-free. According to the physico-chemical parameters (pH, humidity, HMF content, color, electrical conductivity, proline and protein content), all local honeys comply with international standards, unlike imported honeys. The rate of total polyphenols and flavonoids vary respectively, from 4.40 to 48.79 mg of EAG / 100 g and from 15.40 to 67.93 mg / 100 g respectively, dark honey is the richest in antioxidants. The study of the antioxidant capacity by 07 different methods (scavenging activities against DPPH and ABTS, reducing power, phosphomolybdate reduction, CUPRAC and FRAP test) reveal that the honeys analyzed have antioxidant activities that differ from one honey to another, the best of which is recorded by local honeys. All samples have anti-inflammatory activity, the weakest of which is recorded by the imported M5 honey. The study of enzymatic anti-browning activity confirms that honey has the ability to reduce enzymatic browning of bananas, and shows that honey retards browning more effectively at low temperatures and high concentrations. Statistical analyzes reveal a highly significant correlation between the color of honey, its antioxidant content and its biological activities.

Keywords: Honey, physicochemical properties, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anti-browning activity, bananas.

ملخص:

العسل هو المادة الطبيعية الحلوة التي ينتجها نحل *Apis mellifera*. الهدف من هذه الدراسة إلى تحديد الأصل النباتي والخصائص الفيزيوكيميائية وكذا دراسة الخواص البيولوجية لعسلين محليين ومقارنتها بأعسال مستوردة، تظهر تحليلات حبوب اللقاح أن جميع أنواع العسل المحلي من أصل أحادي الزهرة ، وأن أغلبية الأعسال المستوردة خالية من حبوب اللقاح. وفقاً للمعايير الفيزيائية والكيميائية (درجة الحموضة والرطوبة ومحتوى الهيدروكسيميثيل-فورفورال واللون والناقلية الكهربائية ومحتوى البرولين والبروتين) فإن جميع أنواع العسل المحلي تتوافق مع المعايير الدولية ، على عكس العسل المستورد. يختلف معدل إجمالي متعددات الفينول والفلافونويد على التوالي ، من 4.40 إلى 48.79 مع مكافئ حمض الغاليك/ 100 مغ ومن 15.40 إلى 67.93 مغ مكافئ الكرسيتين/ 100 مغ على التوالي ، والعسل الداكن هو الأغنى بمضادات الأكسدة. تكشف دراسة قدرة العسل كمضاد للأكسدة عن طريق 07 طرق مختلفة (DPPH و ABTS ، القدرة الإرجاعية، الفوسفوموليبيدات ، اختبار CUPRAC و FRAP) أن عينات العسل التي تم تحليلها له أنشطة مضادة للأكسدة تختلف من عسل إلى آخر ، وأفضلها سجلها العسل المحلي. جميع العينات لها نشاط مضاد للالتهابات، أضعفها سجله عسل م5 المستورد. تؤكد دراسة النشاط الأنزيمي المضاد للاسمرار أن العسل لديه القدرة على تقليل الاسمرار الإنزيمي للموز ، وأنه يؤخر هذا الاسمرار بشكل أكثر فاعلية في درجات الحرارة المنخفضة والتركيز العالية للعسل. تكشف التحليلات الإحصائية عن وجود علاقة ارتباط ذات دلالة إحصائية بين لون العسل ومحتواه من مضادات الأكسدة وأنشطته البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: العسل ، الخواص الفيزيائية والكيميائية ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للالتهابات ، النشاط المضاد للاسمرار ، الموز