

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Abderrahmane Mira de Bejaia*



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**

## *Mémoire de fin de cycle*

*En vue de l'obtention du diplôme Master II en Biotechnologie*  
*Agro-ressources Aliment et Nutrition*

### *Thème*

**Optimisation de la formulation d'un mélange Figue sèche-Miel  
par la méthode de surface de réponse et étude de  
quelques activités biologiques.**

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> BENMALEK Samira.

M<sup>elle</sup> BENMECHTA Karima.

**Membres de jury :**

**Président : M<sup>r</sup> MADANI K.**

**Examinatrices : M<sup>elle</sup> TOUATI N.**

**M<sup>me</sup> IKHNECHE F.**

**Encadreur : M<sup>r</sup> BOUKHALFA F.**

**2012 / 2013**



## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a procuré de la volonté, de la santé et du courage pour mener à terme ce modeste travail ;*

*Nous tenons à remercier très vivement notre promoteur M<sup>r</sup> BOUKHALFA d'avoir accepté de nous encadré et par sa bonne humeur et son sourire nous a épaulé et a toujours été présent à nos sollicitations;*

*Nous adressons nos profonds remerciements à M<sup>r</sup> MADANI d'avoir accepté de présider le jury ;*

*Nous remercions également M<sup>lle</sup> TOUATI et M<sup>me</sup> IKHNACHE pour l'honneur qu'elles nous ont fait d'avoir examinée et évaluée notre travail ;*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de nos sincères reconnaissances.*



* Karima & Samira*



# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à tous ce que j'aime :*

*A mes chers parents pour leur soutien, encouragement, sacrifice, et surtout leur amour, qui m'ont conduit au chemin de la réussite.*

*A mes deux adorables sœurs Souad et Samra à qui sont dignes De mon amour à qui je souhaite une belle vie*

*A mon cher frère Samir pour son aide précieuse ; que dieu le bénisse.*

*A la mémoire de mes grands parents paternels et maternels.*

*A ma chère copine Nesrine qui a été toujours à mes cotés*

*A tous mes oncles et tantes chacun son nom*

*A tous mes cousins et cousines*

*A Toute la famille BENMALEK et HAOUCHINE*

*A mes très chères amies en particuliers : Sara, Nacira, ALdjia, Wassila Kheira, Dalia, Houa,*

*Asma , Lamia et Saïda. ET a toute les autres que je m'excuse de ne pas les avoir citées.*

*A tous ceux qui ont de près ou de loin participé à la réalisation de ce travail surtout :*

*Lila, Rima et Kenza.*

*A ma chère binôme, amie Karima pour les bons moments qu'on a partagé et qui ma supporté durant cinq ans ainsi que toute sa famille.*

*Je dédie ce mémoire à toute la promotion sciences alimentaires 2012/2013.*

*A tout, je vous souhaite tous le bonheur du monde et que votre soleil*

*éclaircisse tant et brille d'amour au quotidien.*

*Samira*



# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui me sont chères et à qui je leurs serai éternellement reconnaissante :*

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance et qui m'ont soutenu nuits et jours pendant tous mon parcours ; à vous mes chers parents, les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous porte et je remercie dieu de vous avoir protégé pour être témoin de ma réussite.*

*A ma chère grande mère que Dieu la protège et la garde.*

*A mes très chers frères : Abderrahmane et Abdénour et leurs épouses Ghania et Kahina, pour leurs aide et sympathie.*

*A mes chers frères : Fatah et Bachir, pour leurs aide, conseils, et leurs soutien tout au long de mon cursus universitaire.*

*Pour toi mon coté gauche Menad; qui a été toujours à mes cotés ainsi qu'à toute sa famille.*

*A ma nièce et adorable : Melina.*

*A tous mes oncles et tantes chacun son nom ; A mes cousins et cousines et à toute ma famille sans exception ;*

*A celle qui s'est soucis toujours de moi, qui a été à mes cotés, ma très chère Célia et à toute sa famille.*

*A mon binôme, ma copine **Samira** pour les bons moments qu'on a partagé et qui ma supporté durant cinq ans ainsi qu'à toute sa famille.*

*A tous ceux qui ont de prés ou de loin participé à la réalisation de ce travail surtout : Lila, Rima et Kenza.*

*A ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans les moments les plus difficiles.  
A toutes mes amies : Nésrine, Djidji, Nacira, Fouzia, Lila, Houa, Sara. Et toutes les autres que je m'excuse de ne pas les avoir citées. Ainsi qu'à toute la promotion de Biotechnologie (2012-2013).*

*A tous, je vous souhaite tous le bonheur du monde et que votre soleil éclaire tant et brille d'amour au quotidien.*

*Karima*

**Liste des abréviations****Liste des figures****Liste des tableaux****Liste des annexes**

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
---------------------------	----------

**Partie bibliographique****I. Généralités sur la figue et le miel ..... 3**

I-1 Figue .....	3
-----------------	---

I-1.1 Historique .....	3
------------------------	---

I-1.2 Description botanique.....	3
----------------------------------	---

I-1.3 Composition et valeur nutritive de la figue .....	4
---	---

I-1.4 Utilisation de la figue .....	4
-------------------------------------	---

I-1.5 Données économiques sur la figue .....	4
--	---

I-1.5.1 Production mondiale .....	4
-----------------------------------	---

I-1.5.2 Commerce mondial de la figue sèche.....	5
---	---

I-1.5.3 Production nationale et régionale .....	5
---	---

I-2 Miel.....	6
---------------	---

I-2.1 Définition.....	6
-----------------------	---

I-2.2 Origine du Miel .....	6
-----------------------------	---

I-2.2.1 Miel de nectar .....	6
------------------------------	---

I-2.2.2 Miel de miellat.....	6
------------------------------	---

I-2.3 Composition de miel.....	6
--------------------------------	---

I-2.4 Propriétés thérapeutique de miel .....	7
--	---

I-2.5 Données économiques sur le miel .....	8
---	---

I-2.5.1 Production mondiale.....	8
----------------------------------	---

I-2.5.2 Commerce mondial.....	8
-------------------------------	---

I-2.5.3 Production nationale et régionale.....	8
--	---

**II. Généralités sur les plans d'expériences..... 9**

II-1 Définition d'un plan d'expérience.....	9
---	---

II-2 Principe.....	9
--------------------	---

II-3 Terminologie .....	10
-------------------------	----

II-4 Plans de surface de réponse.....	10
---------------------------------------	----

II-5 Les plans de mélanges.....	11
II-5.1 Principe.....	11
II-5.2 Modèles représentatifs d'un mélange.....	11
a) Modèle linéaire.....	12
b) Modèle quadratique.....	12
c) Modèle cubique.....	12

### Partie expérimentale

<b>I. Matériels et méthodes.....</b>	<b>13</b>
I-1 Matériel végétal.....	13
I-2 Application du plan de mélange.....	13
I-3 Extraction des antioxydants.....	14
I-4 Dosage des antioxydants.....	15
I-4.1 Dosage des polyphénols.....	15
I-4.2 Dosage des flavonoïdes.....	15
I-4.3 Dosage des anthocyanines.....	15
I-4.4 Dosage des caroténoïdes.....	16
I-4.5 Dosage de l'acide ascorbique (Vitamine C).....	17
I-5 Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire.....	17
I-5.1 Pouvoir réducteur.....	17
I-5.1.1 Réduction du chlorure ferrique.....	17
I-5.1.2 Réduction du phosphomolybdate.....	18
I-5.2 Neutralisation des radicaux libres.....	18
I-5.2.1 Inhibition du radical DPPH <sup>•</sup> .....	18
I-5.2.2 Inhibition du radical ABTS <sup>•+</sup> .....	18
I-5.2.3 Neutralisation du radical H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	19
I-6 Détermination de l'activité antibactérienne.....	19
I-6.1 Standardisation des souches.....	20
I-6.2 Test de l'activité antibactérienne.....	20

I-7 Analyse statistique .....	20
<b>II. Résultats et discussions .....</b>	<b>21</b>
II-1 Optimisation de l'extraction des antioxydants .....	21
II-1.1 Choix du solvant d'extraction .....	21
II-1.2 Choix du temps d'extraction .....	21
II-1.3 Choix de la température d'extraction .....	22
II-2 Plan de mélange .....	22
II-2.1 Validation du model .....	23
II-2.1.1 Coefficient de corrélation .....	23
II-2.1.2 Effet des facteurs .....	24
II-2.2 Modèle mathématique .....	25
II-3 Dosage des antioxydants .....	26
II-3.1 Polyphénols totaux .....	26
II-3.2 Flavonoïdes .....	27
II-3.3 Anthocyanines .....	28
II-3.4 Caroténoïdes .....	29
II-3.5 Acide ascorbique .....	30
II-4 Activités antioxydantes et anti-radicalaires .....	31
II-4.1 Pouvoir réducteur .....	31
II-4.1.1 Réduction du chlorure ferrique .....	31
II-4.1.2 Réduction du phosphomolybdate .....	32
II-4.2 Pouvoir anti-radicalaire .....	33
II-4.2.1 Pouvoir anti- radicalaire DPPH <sup>•</sup> .....	33
II-4.2.2 Pouvoir anti- radicalaire ABTS <sup>•+</sup> .....	35
II-4.2.3 Pouvoir anti-radicalaire H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	36
II-5 Activité antibactérienne .....	36
<b>Conclusion .....</b>	<b>39</b>

## Références bibliographiques

## Annexes

**ABTS<sup>\*+</sup>** : 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid.

**DCPIP** : 2,6 dichlorophenol-indophénol.

**DPPH\*** : 2,2-diphényl-1-pyridyl-hydrazyl.

**DSA** : Direction de service agricole

**E.A.A** : Equivalent d'Acide Ascorbique.

**E.A.G** : Equivalent d'Acide Gallique.

**E. .C** : Equivalent de Carotène.

**EOR** : Espèces Oxygénées réactivées.

**E.Q** : Equivalent de Quercétine.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène.

**LMA** : Laboratoire de Microbiologie Appliquée.

**Mo**: Molybdate.

**Nm** : nanomètre.

**P**: Probabilité.

**rpm** : rotation par minute.

<b>Figure N°1</b> : Caractéristiques morphologiques de la figue.....	3
<b>Figure N°2</b> : Production mondiale de la Figue en 2011.....	5
<b>Figure N°3</b> : Composition moyenne du miel.....	7
<b>Figure N°4</b> : Production mondiale du miel en 2011.....	8
<b>Figure N°5</b> : Représentation géométrique d'un mélange à trois constituants.....	12
<b>Figure N°6</b> : Plan de prédiction réelle du mélange étudié.....	24
<b>Figure N°7</b> : Surface de réponse du mélange étudié en fonction des proportions de figue noire, figue verte et du miel.....	25
<b>Figure N°8</b> : Teneur moyenne en polyphénols totaux du mélange étudié.....	27
<b>Figure N°9</b> : Teneur moyenne en flavonoïdes du mélange étudié.....	28
<b>Figure N°10</b> : Teneur moyenne en anthocyanines du mélange étudié.....	29
<b>Figure N°11</b> : Teneur moyenne en caroténoïdes du mélange étudié.....	30
<b>Figure N°12</b> : Teneur moyenne en acide ascorbique du mélange étudié.....	31
<b>Figure N°13</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait étudié vis-à-vis le chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> ).....	32
<b>Figure N°14</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait étudié vis-à-vis le molybdate .....	33
<b>Figure N°15</b> : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis -a- vis le radical DPPH <sup>•</sup> .....	34
<b>Figure N°16</b> : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis-à-vis le radical ABTS <sup>•+</sup> .....	35
<b>Figure N°17</b> : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis-à-vis le radical H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	36
<b>Figure N°18</b> : Activité antibactérienne des échantillons étudiés vis-à-vis trois souches bactérienne .....	37

---



<b>Tableau I</b> : Production de la figue de la wilaya de Bejaia de la compagne 2010 /2011 .....	5
<b>Tableau II</b> : Des variables choisies pour les essais .....	14
<b>Tableau III</b> : Le Modèle expérimental utilisé .....	14
<b>Tableau IV</b> : Optimisation de la formulation d'un mélange Figue sèche-Miel par le plan de mélange .....	23
<b>Tableau V</b> : Estimation des coefficients de régression du model de premier degré du mélange Figue sèche-Miel.....	24
<b>Tableau VI</b> : Formulation optimale du mélange étudié.....	26

---

Radicaux libres, espèces oxygénées réactivées (EOR), stress oxydant et antioxydants sont actuellement devenus des termes familiers dans le monde.

Au début des années 50, les études ont montré que l'oxygène, l'élément le plus important pour la vie aérobie, mais aussi à l'origine de la production des radicaux libres. Ces derniers sont produits par divers mécanismes physiologiques ; mais peuvent devenir excessifs ou résulter de phénomènes toxiques exogènes, notamment l'oxydation cellulaire accélérant ainsi le vieillissement cellulaire (**Defraigne et Pincemail, 2007**).

Le stress oxydant est définie comme étant l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactivées, suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue de ces molécules, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (**Sies, 1991**). Plusieurs études ont montré qu'une consommation de fruit et légumes est un excellent moyen de prévenir contre cette situation de disfonctionnement cellulaire, qui entraîne plusieurs maladies telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires, les troubles neuro-dégénératifs et différents types de cancers (**Ramos et al., 2003**).

Des études épidémiologiques ont montré une faible incidence chez les populations des régions méditerranéennes. Cette protection apparaît reliée aux régimes alimentaires de ces populations basées essentiellement sur la consommation, de l'huile d'olive, du miel et des fruits et légumes de la région, l'effet préventif de ces produits due à la présence des molécules antioxydantes telles que les polyphénols, les caroténoïdes et certaines vitamines.

L'Algérie, pays du bassin méditerranéen, est parmi les producteurs de figues et du miel naturel, un patrimoine qui est représenté par de nombreuses variétés, et afin de tirer bénéfice de l'aspect thérapeutique de ces deux produits et pour une meilleure valorisation, des efforts considérables, lors de ces dernières années, se sont orientés vers l'identification des substances anti-oxydantes naturelles par des processus spécifiques optimisés désignés pour leurs extraction, qui sont non seulement influencés par le choix du solvant mais aussi bien par d'autres paramètres à savoir le temps et la température (**Ju et al., 2004**).

Plusieurs modèles mathématiques ont été élaborés pour mieux gérer les interdépendances de ses variables (**Derkyi et al., 2011**), parmi ces modèles ; la méthode de surface de réponse (RMS) est largement utilisée dans les études d'optimisation des multi variables dans différents processus chimiques et biotechnologiques (**Chang et al., 2006**).

Le présent travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale d'un mélange Figue sèche-Miel afin d'arriver à avoir la meilleure teneur en antioxydants, qui est réalisée en mettant en œuvre un plan d'expérience de type «**Plan de mélange**» et également à étudier sa composition en antioxydants, entre autres les composés phénoliques, acide ascorbique, caroténoïdes, pour mieux évaluer ses capacités antioxydantes et antibactériennes.

## I-1 Figue

### I-1.1 Historique

Le figuier (*Ficus carica*, L.), espèce fruitière cultivée pour la production de la figue fraîche ou sèche, est l'une des premières cultures de l'Homme connu depuis l'antiquité, dont la culture remonte à plus de 5 000 ans, avant notre ère (Lim, 2012). Il est passé, à travers les âges, d'une plante sauvage à un arbre cultivé très apprécié pour sa rusticité et les propriétés thérapeutiques et nutritives de son fruit. Sa citation dans le coran « Sourat Attine » lui a conféré un caractère sacré dans la civilisation arabo musulmane (El Asri et al., 2008).

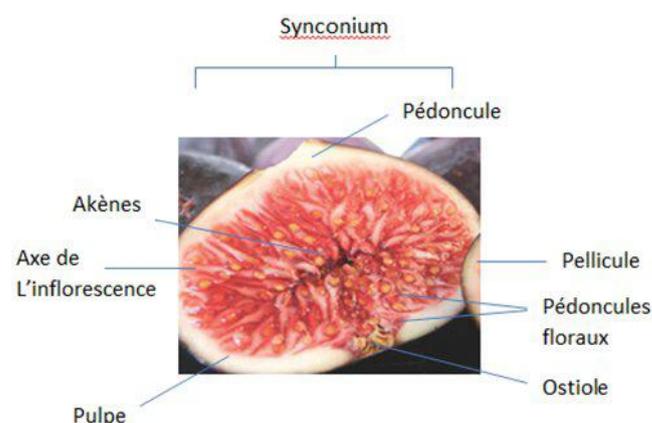
Cet arbre est probablement originaire du moyen orient et naturalisé dans plusieurs régions, surtout celle du pourtour du bassin méditerranéen (Oukabli, 2003), au point d'être considéré comme une plante indigène.

La dénomination *Ficus carica* L, donne un qualificatif générique qui signifie verrue pour *Ficus* (le lait du figuier pour soigner la verrue) et *carica* fait allusion à une région en Turquie (Oukabli, 2003).

### I-1.2 Description botanique

Le figuier est un petit arbre, en moyenne de trois à quatre mètres de haut, et peut atteindre 12 m pour certaines variétés, avec une durée de vie allant jusqu'à 300 ans, sous des conditions climatiques ou d'environnements adaptées notamment près des sources d'eau (Meslay, 2007). Le genre *Ficus* possède un certain nombre d'espèce estimé à 700 (Lansky et Paavilainen, 2011).

La figue est un faux fruit, composé d'une pellicule (épiderme), une pulpe composée d'un réceptacle charnu (le synconium) contenant les graines (akènes), un ostiole (œil) et un pédoncule (Figure N°1) (Haesslein et Oreiller, 2008).



**Figure N°1** : Caractéristiques morphologiques de la figue (Haesslein et Oreiller, 2008).

### I-1.3 Composition et valeur nutritive de la figue

La figue, fraîche ou séchée, est un fruit à valeur nutritionnelle élevée selon sa composition riche en nutriments divers (**Annexe I**). Elle représente une grande richesse en glucides, un faible apport en lipides et une absence de cholestérol (**Solomon et al., 2006**). C'est un fruit très riche en minéraux qui rétablit efficacement l'équilibre alimentaire. C'est aussi une très bonne source d'oligo-élément et de vitamines surtout celles du groupe B (**Infanger, 2004**).

Les fibres contenues dans la figue fraîche ont la capacité de retenir l'eau, favorisant ainsi l'élimination régulière des selles en augmentant leur volume et en modifiant leur consistance. Une fois séchée, la figue contient encore plus de fibres car ses éléments nutritifs sont concentrés.

La figue est également une source riche en flavonoïdes, en polyphénols et d'autres antioxydants. Elle peut contenir environ 1.090-1.110 mg/100 g de matière fraîche en polyphénols totaux (**Vinson, 1999**).

### I-1.4 Utilisation de la figue

La figue peut être consommée à l'état frais, comme aliment très nourrissant, ou servie comme produit industriel (**Oukabli, 2003**).

En médecine, ce fruit est très conseillé car il fournit de précieux antioxydants ayant la capacité de neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme humain, il est également utilisé pour ses vertus médicinales dans les traitements contre les affections pulmonaires, la toux, les troubles de la circulation sanguine et les varices.

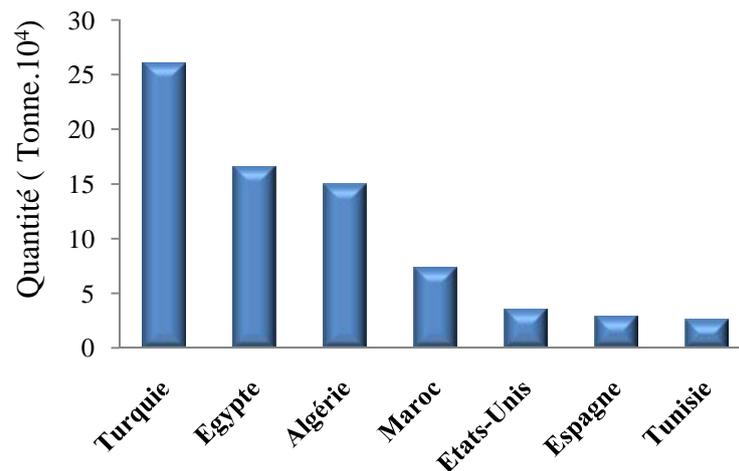
Les feuilles du figuier ont des qualités antidiabétiques ; en effet elles réduisent la quantité d'insuline que les diabétiques doivent s'injecter comme elles freinent aussi la croissance de certain type de cellules cancéreuses (**Jeddi, 2009**).

Le latex (un lait blanc) séché et poudré, est utilisé pour la coagulation du lait, et sert aussi pour l'isolation d'une protéase nommée la ficine utilisée par l'industrie agroalimentaire dans l'attendrissement des viandes (**Bruneton, 1999**). Le latex sert également à la fabrication du caoutchouc, ainsi que pour des applications comme lotion contre les piqûres d'insectes, les morsures et les verrues, et même contre les vers intestinaux (**Oukabli, 2003**).

### I-1.5 Données économiques sur la figue

#### I-1.5.1 Production mondiale

La production mondiale est en augmentation d'une année à une autre. Environ, 1091813 tonnes sont produites en 2011, la Turquie est en première position avec près du quart de la production mondiale (31,9 %) suivie de l'Égypte et l'Algérie (**FAO, 2011**). Les quatre plus grands pays producteurs représentent plus de 70% de la récolte totale.



**Figure N°2 : Production des figes dans le monde en 2011 (F.A.O, 2011).**

### I-1.5.2 Commerce mondial de la figue sèche

Les principaux pays producteurs sont également les principaux exportateurs. La Turquie, en tant que plus grand producteur, fournit plus de la moitié des exportations en figes séchées (73,4% en 2011) (F.A.O, 2011) (Annexe II). La France, l'Allemagne, les Etats-Unis et l'Italie sont les principaux pays consommateurs (F.A.O, 2011).

### I-1.5.3 Production nationale et régionale

La production nationale est en augmentation continue avec une production de 60000 tonnes en 2003, de 63000 tonnes en 2004 et elle est estimée à 63883 tonnes en 2006 (F.A.O, 2007). Selon le Ministre de l'Agriculture (2006), la production de cette année est répartit respectivement dans les wilayas de ; Bejaia (174 600 qx), Tizi-Ouzou (117 530qx), Blida (59 948qx) et Bouira (38 712qx) etc., et la région de Kabylie est de loin la plus dominante dans le territoire national.

La production régionale de la campagne 2010/2011 est représentée dans le tableau I.

**Tableau I : Production de la figue de la wilaya de Bejaia de la campagne 2010/2011 (DSA, 2012)**

Commune Subdivision Wilaya	Superficie occupées (ha)	Nombre de figiers total	Production(QX)	
			Consommation à l'état frais	Soumise au séchage
Bejaïa	85.5	11185	1270	20
Aokas	920	99450	17360	10650
Kherrata	405	44500	12060	140
El-Kseur	632	80600	17750	1255
Amizour	4530	294600	88000	95400
Timezrit	113	8400	1100	475
Akbou	1222	8847	29900	7200
Tazmalt	257	22180	3220	1850
Total de la Wilaya	11603.5	1042473	181310	138690

## I-2 Miel

### I-2.1 Définition

Selon le **Codex Alimentarius (2001)**, le miel est défini comme étant « la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissés sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche».

### I-2.2 Origine du miel

L'origine du miel, est importante vis-à-vis de l'évaluation de sa qualité par les consommateurs. Son origine botanique influence sur ses caractéristiques organoleptiques ainsi que son origine géographique (**Baroni et al., 2009**). Il existe donc deux grandes variétés de miel selon l'origine sécrétoire, soit à partir du nectar ou à partir du miellat recueilli sur les plantes (**Meda, 2005**).

#### II-2.2.1 Miel de nectar

Le nectar est un liquide sucré et mielleux, produit à la surface des parties spéciales appelées nectaires, situés soit sur les feuilles, appelés nectaires Extrafloraux, soit sur les fleurs, appelés nectaires Floraux (**Rossant, 2011**).

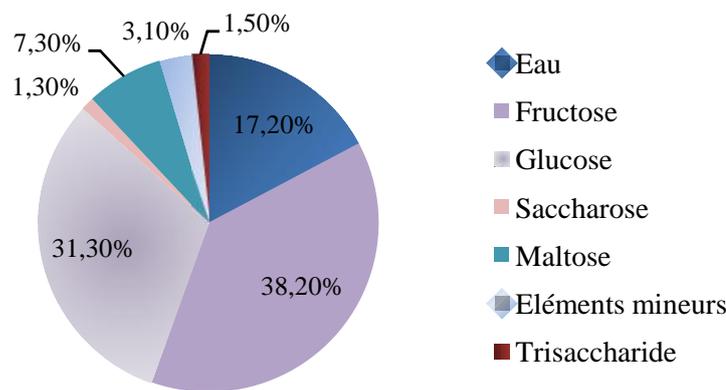
Le nectar des plantes est une source d'énergie pour l'abeille vu sa richesse, principalement en sucres simples mais aussi en acides aminés, en vitamines, en sels minéraux, en protéines, en lipides, en pigments et en enzymes (**Blanc, 2010**).

#### I-2.2.2 Miel de miellat

Le miellat provient d'une substance rejetée par les insectes piqueurs et suceurs de la famille des homoptères, qui absorbent la sève des plantes et rejettent les matières sucrées sous forme de gouttelettes, que les abeilles récupèrent sur les feuilles des plantes (**Lequet, 2010**).

### I-2.3 Composition du miel

La composition du miel dépend principalement de la source florale. Cependant, certains facteurs peuvent influencer la composition du miel tels que ; la nature du sol et du végétal, le mode de récolte et d'extraction, et les conditions de conservation (**Merah et al., 2010**). La composition chimique varie d'un échantillon à l'autre, généralement, le miel contient des éléments majeurs et des éléments mineurs (**Figure N°3**).



**Figure N°3** : Composition moyenne du miel (**Rossant, 2011**).

La teneur en eau est une caractéristique importante du miel, et conditionne sa conservation et sa qualité. Elle varie entre 17 et 20%.

La matière sèche du miel est constituée de 95 à 99 % de glucides variés. Plus de 15 sucres différents sont présents, dont le fructose est presque toujours dominant, avec une teneur de 38,2% du poids du miel, tandis que la teneur en glucose est de 31,3% (**Bogdanov, 2009**).

Le miel contient de nombreux acides aminés et des protéines dont la teneur reste faible par rapport aux sucres. Les principaux acides aminés retrouvés sont ; la proline, l'acide aspartique, glutamique et l'asparagine.

Le miel contient divers éléments minéraux dont principalement le fer, le calcium, le potassium et le phosphore. Il contient également des vitamines, notamment les groupes B et C, et renferme des enzymes et des pigments (**Blanc, 2010 ; Bradbear, 2010**).

#### **I-2.4 Propriétés thérapeutiques du miel**

Les nombreux composants du miel lui confèrent plusieurs propriétés intéressantes. Les miels ont une action thérapeutique variable, et considérés comme des agents de prévention de nombreuses maladies. Ils agissent sur la peau comme cicatrisants des plaies normales (**Goetz, 2009**), et utilisés dans la stimulation des blessures, brûlures curatives, traitement d'ulcères gastriques et d'asthme (**Ouchmoukh et al., 2007 ; Aires et al., 2008**).

En plus de leurs propriétés thérapeutiques, le miel favorise l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme. Grâce à ses nombreux enzymes, il facilite également l'assimilation des autres aliments en général, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal (**Awono et al., 2008**).

L'effet antibactérien du miel est dû à sa haute teneur en sucre et à la présence de substances antibactériennes spécifiques (**Nagai et al., 2006**).

## I-2.5 Données économiques sur le miel

### I-2.5.1 Production mondiale

La production mondiale a enregistré une hausse importante, soit une augmentation continue d'une année à une autre. La Chine est en première position avec 46,7% de la production mondiale en 2011 (F.A.O, 2011).

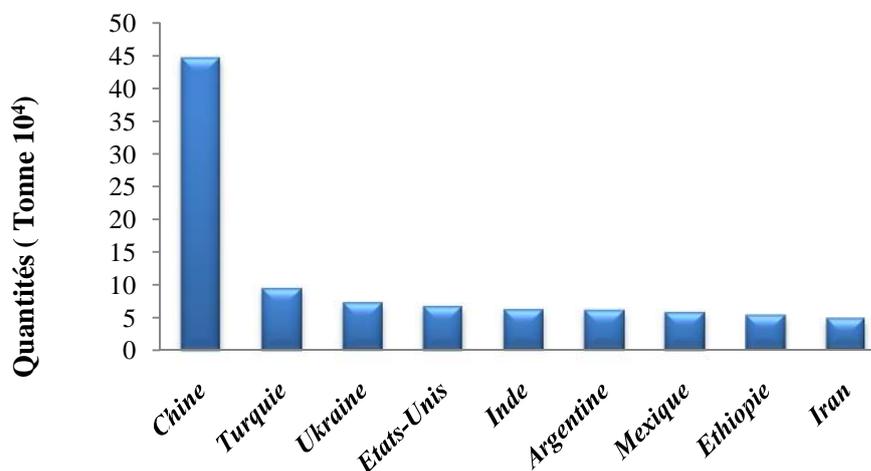


Figure N°4 : Production mondiale du miel en 2011. (F.A.O ,2011)

### I-2.5.2 Commerce mondial

Dans le commerce du miel, la Chine, l'Argentine et le Mexique sont les trois premiers pays exportateurs. La Chine, en tant que plus grand producteur, fournit plus d'un quart de la production mondiale (34,8%) en 2010.

En 2010, la majorité des flux d'importation sont intra européens (Allemagne, France, Belgique, Espagne, Italie), ce qui explique la concentration de la consommation au sein de ces pays. Cependant des flux existent vers des pays à fort pouvoir d'achat tels que les Etats-Unis et le Japon (F.A.O, 2010) (Annexe III).

### I-2.5.3 Production nationale et régionale

La wilaya de Bejaia est parmi les producteurs important du miel en Algérie, avec une production estimé à 85tonnes en 2003. Pour l'année 2008/2009, les estimations selon la direction de l'agriculture de Wilaya de Bejaia est de 123 000 Kg.

## II-1 Définition d'un plan d'expérience

Un plan d'expérience consiste en la mise en œuvre organisée d'un ensemble d'unités expérimentales de manière à révéler les effets de différents traitements, tel que la comparaison des effets de quatre antibiotiques sur une souche bactérienne (**Pierre, 2009**).

La méthode d'expérimentation choisie doit faciliter l'interprétation des résultats, et minimiser le nombre des essais sans toutefois sacrifier la qualité.

La théorie des plans d'expériences assure les conditions pour lesquelles la meilleure précision possible avec le minimum d'essais sont obtenus, afin d'avoir le maximum d'efficacité avec le minimum d'expériences et par conséquent un coût minimum (**Goupy, 2006**).

## II-2 Principe

Il consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou de plusieurs facteurs, qui sont les variables, discrètes ou continues, à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse (**Faucher, 2006**).

L'objectif principal peut être résumé par la devise : « Obtenir un maximum d'information avec un minimum d'expériences » (**Tinsson, 2010**).

Il existe différent type de plans d'expériences, qui peuvent être toutefois regroupés en grandes familles:

1. Les plans factoriels complets ou fractionnaires à deux niveaux ;
2. Les plans factoriels à plus de deux niveaux ;
3. Les plans en blocs complets ou incomplets ;
4. Les plans de surface de réponse ;
5. Les plans de mélange ;
6. Les plans optimaux (**Chagnon, 2005**).

Chacun de ces plans, diffère selon ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers. On peut cependant diviser les plans d'expériences en deux grandes catégories :

- Les plans pour étudier (estimer et comparer) les effets des paramètres ;
- Les plans pour régler les paramètres afin d'atteindre un optimum (**Faucher, 2006**).

### II-3 Terminologie

**Réponse** : c'est la grandeur physique étudiée (**Vivier, 2002**).

**Facteurs** : sont les variables qui peuvent modifier la réponse (**Goupy et Creighton, 2006**).

**Niveau d'un facteur** : est la valeur donnée à un facteur pour réaliser une expérience (**Goupy et Creighton, 2006**).

**Domaine d'étude**: domaine expérimental délimité par les niveaux inférieurs et supérieurs des facteurs étudiés (**Chaabouni et al., 2011**).

**Plan d'expérimentation** : matrice déclinant l'ensemble des conditions expérimentales, imposées aux variables naturelles pour la réalisation des différents essais, dans le cadre du plan d'expériences choisi (**Chaabouni et al., 2011**).

**Matrice d'expériences** : indique les niveaux pris par les variables codées aux différentes expériences (**Chaabouni et al., 2011**).

### II-4 Plans de surface de réponse

La méthodologie de surface de réponse (RMS), décrite par Box et Wilson (1951), vise à déterminer d'une façon quantitative les variations de la réponse vis-à-vis des facteurs d'influence significative. Elle est une collection de techniques statistiques et mathématiques, utilisée pour modeler et optimiser des processus biochimiques et biotechnologiques (**Vasquez et Martin, 1998 ; Senanayake et Shahidi, 2002**), comprenant l'extraction des composés phénoliques (**Cacace et Mazza, 2003<sub>b</sub>**), d'anthocyanines (**Cacace et Mazza, 2003<sub>a</sub>**) et vitamine E (**Ge et al., 2002**).

Ces plans sont les plus employés car ils permettent le criblage des facteurs et conduisent parfois à des modélisations simples mais suffisantes, des modèles polynomiaux du premier ou second degré sont ainsi utilisés dont les plus importants types sont : Les plans de mélange, les plans de Box-Behnken, les plans de Doehlert et les plans composites (**Goupy et Creighton, 2006**).

Ces plans peuvent être classés en deux catégories :

- **Facteurs indépendants** : qui sont des facteurs dont les niveaux sont choisis comme désirés. Le choix de niveau d'un facteur n'entraîne aucune contrainte sur le choix des niveaux des autres facteurs.
- **Facteurs dépendants** : sont des facteurs dont les niveaux sont liés entre eux par une relation. Par exemple les proportions d'un mélange font toujours 100% (**Goupy, 1999**).

## II-5 Les plans de mélange

Les plans de mélange constituent une branche spécifique des plans d'expériences. La réponse dans des expériences de mélange dépend principalement des proportions de mélange. Scheffé (1958) est le premier à présenter les modèles canoniques de différents degrés pour représenter la fonction de réponse en termes de proportions relatives des composants dans le mélange. Il propose ainsi des conceptions appropriées à l'évaluation des coefficients de régression dans différents modèles, et étudie l'optimalité des conceptions de mélange pour l'évaluation des paramètres de la fonction de réponse (**Mandal et al., 2012**).

### II-5.1 Principe

Les plans de mélange, sont des plans particuliers adaptés aux facteurs dépendants, utilisés pour étudier l'influence des proportions des constituants d'un produit sur une réponse donnée.

Les pourcentages des constituants sont les facteurs que l'on prend en compte, le pourcentage de tous les constituants est égale 100%, selon la relation :

$$\sum_{i=1}^{i=1} x_i = 100\% \quad \text{Ou} \quad \sum_{i=1}^{i=1} x_i = 1$$

La modification de la proportion d'un seul constituant, impose de modifier au moins le pourcentage d'un autre constituant. Cette contrainte a des conséquences importantes sur les représentations géométrique et matricielle de ces plans (**Goupy, 2000**).

### II-5.2 Modèles représentatifs d'un mélange

Pour traduire les variations d'une réponse en fonction de la composition du mélange, il existe plusieurs modèles, à savoir le modèle linéaire, le modèle quadratique et le modèle cubique...etc

#### a) Modèle linéaire

C'est un modèle de premier degré, sans interaction entre les facteurs et qui n'a pas de constante (**Nikzade et al., 2012**). Dans le cas des mélanges, la relation suivante :  $\sum_{i=1}^{i=1} x_i = 1$  exprime la notion d'un mélange. De ce fait, le modèle linéaire prend sa formule :

$$Y = \sum a_i X_i$$

Où :

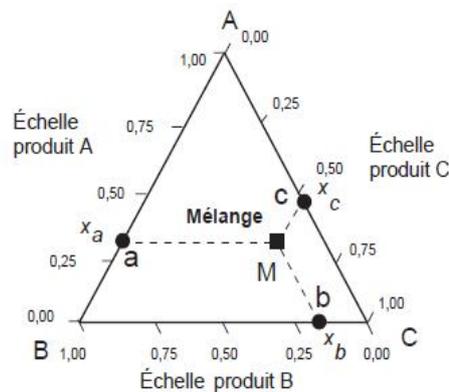
**Y** : La réponse ou la grandeur d'intérêt, mesurée au cours de l'expérimentation et obtenue avec une précision donnée ;

**X<sub>i</sub>** : Le niveau attribué au facteur *i* par l'expérimentateur pour réaliser un essai.

**a<sub>i</sub>** : Coefficient du modèle mathématique adopté à priori, doit être calculé à partir des résultats des expériences (**Goupy, 2000**).

Pour  $k=3$  :  $Y = a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3$ .

La résolution de cette équation nécessite alors trois constituants chacun est situé au sommet du triangle représentatif du domaine expérimental.



**Figure N°5** : Représentation géométrique d'un mélange à trois constituants  
(**Goupy et Creighton, 2006**).

### b) Modèle quadratique

C'est un modèle de deuxième degré, caractérisé par la présence d'interactions entre facteurs. (**Goupy et Creighton, 2006**). Sa formule générale est :

$$Y = a_i X_i + a_{ij} X_i X_j$$

Dans le cas du mélange ternaire :

$$Y = a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3$$

### c) Modèle cubique

Selon **Goupy et Creighton, (2006)** Il s'agit d'un modèle de troisième degré, ayant la formule générale suivante :

$$Y = a_i X_i + a_{ij} X_i X_j + a_{ijh} X_i X_j X_h$$

Dans le cas où  $k=3$ :

$$Y = a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{123} X_1 X_2 X_3 .$$

### I-1 Matériel végétal

Le travail réalisé porte sur l'optimisation du mélange « figes sèches-miel » en utilisant la méthodologie des surfaces de réponse, plus exactement les « plans de mélange ».

Le miel utilisé est de provenance, de la région de Bougàa, situé à 40 Km au sud de la wilaya de Sétif. L'échantillon représentatif, récolté durant le mois de juin 2012, est conditionné dans une boîte en verre et conservé au réfrigérateur jusqu'à l'analyse.

Les figes sont récoltées pendant le mois de septembre de l'année 2012 au niveau de la même région et séchées traditionnellement au soleil.

L'échantillonnage des figes est effectué au hasard à partir de différentes variétés de figes (*Ficus carica*, L.) noires et vertes, choisies sur la base de critères établis ; fruits sains, matures, de taille et de couleur uniformes. Les figes ainsi séchées au soleil, sont découpées en petits morceaux, puis séchées à l'étuve à 40°C pendant 24 heures afin de faciliter leur broyage.

Le mélange Figes sèche – Miel, préparé le 24 Mars 2012, en broyant les figes séchées à l'aide d'un broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic) afin d'obtenir une poudre très fine et d'augmenter l'absorption du miel. Les figes broyées sont mélangées au miel à des proportions différentes de figes noires et vertes selon le plan de mélange.

### I-2 Application du plan de Mélange

La technique des plans d'expériences, basée sur l'élaboration d'une série de tests expérimentaux, consiste à faire varier simultanément les niveaux des facteurs à chaque essai (les proportions des figes noires et vertes et du miel), et fixer les autres (solvant, temps et température).

Outre l'influence de chaque facteur, il est possible d'obtenir des informations sur les interactions entre facteurs étudiés, et sur les paramètres optimaux par rapport à une réponse.

Afin d'évaluer les meilleures proportions du mélange qui donnera le meilleur taux en polyphénols du mélange Figes sèches-Miel, trois paramètres ont été étudiés : proportion de fige noire, de fige verte et de miel désignés par  $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ , respectivement. Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable ont été désignés par -1, 0 et +1, respectivement (Tableau II).

**Tableau II** : Les variables choisies pour les essais (Goupy, 2000).

<b>X<sub>1</sub> Figues noires (g)</b>	<b>X<sub>2</sub> Figues Vertes (g)</b>	<b>X<sub>3</sub> Miel (g)</b>
(-1) 0,300	(-1) 0,300	$X_3 = 1 - (X_1 + X_2)$
(0) 0,325	(0) 0,350	
(+1) 0,350	(+1) 0,400	

La méthode de surface de réponse (RMS), est utilisée, dont le modèle expérimental appliqué est le «Plan de Mélange». L'évaluation a porté sur la teneur en polyphénols totaux (réponse).

Le plan de Mélange comprend huit essais différents en termes de proportions composantes du mélange étudié. Les combinaisons des différents niveaux des facteurs sont données dans le tableau III.

**Tableau III** : Modèle expérimental utilisé.

<b>N° d'essai</b>	<b>Figue noire (g) X<sub>1</sub></b>	<b>Figue verte (g) X<sub>2</sub></b>	<b>Miel (g) X<sub>3</sub></b>
1	0,3	0,3	0,4
2	0,3	0,4	0,3
3	0,325	0,3	0,375
4	0,35	0,4	0,25
5	0,3	0,35	0,35
6	0,35	0,35	0,3
7	0,35	0,3	0,35
8	0,325	0,4	0,275

### I-3 Extraction des antioxydants

L'extraction des antioxydants du mélange étudié est réalisée selon la méthode décrite par **Al-Farsi et al. (2005)** et **Heinonen et al. (1998)**, avec l'acétone (80%) comme solvant d'extraction.

Une prise d'essai du mélange (1g) est mise en contact avec 10 ml de solvant d'extraction (acétone 80%). Après une agitation mécanique pendant 60 minutes à une température de 50°C, à l'abri de la lumière, le mélange est filtré, et le résidu subit deux autres extractions dans les mêmes

conditions jusqu'à l'obtention d'une couleur plus au moins transparente. Les filtrats sont concentrés dans l'étuve à 40°C, jusqu'à l'obtention de volume recherché (**Annexe VII**).

#### **I-4 Dosage des antioxydants**

##### **I-4.1 Dosage des polyphénols**

La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait est estimée selon la méthode décrite par **Barros et al. (2007)**.

200 µl d'extrait sont additionnées à 1.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois), auquel un volume de 1.5 ml de carbonate de sodium (60g/l) est ajouté après cinq minutes. Après une incubation de 90 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 725 nm.

La concentration en composés phénoliques de l'extrait, exprimée en mg équivalent d'acide gallique (E.A.G)/100g d'échantillon, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (**Annexe VIII**).

##### **I-4.2 Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait est évaluée selon la méthode décrite par **Djeridane et al. (2006)**.

Pour 1.5ml d'extrait sont ajoutées 1.5ml de chlorure d'aluminium (2%). Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420nm.

La teneur en flavonoïdes, exprimée en mg d'équivalent de quercétine (E.Q)/100g d'échantillon, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec de la quercétine (**Annexe VIII**).

##### **I-4.3 Dosage des anthocyanines**

La teneur en anthocyanines est déterminée selon la méthode décrite par **Lako et al. (2007)**, légèrement modifiée en utilisant les tampons de chlorure (pH= 1, 0.025 M) et d'acétate (pH=4.5, 0.4M).

Une quantité de fruit (2g) est mélangée avec 10ml d'eau distillée, légèrement acidifiée avec l'acide chlorhydrique (0.1N). Après 15minutes d'agitation, le mélange est filtré, le résidu subit une deuxième extraction dans les mêmes conditions et les filtrats sont centrifugés à 1500g pendant 10minutes.

Dans deux tubes à essai, contenant chacun 1ml d'extrait, sont ajoutés 8ml de tampon (pH=1.0) pour le premier et 8ml de tampon (pH=4.5) pour le deuxième tube, et l'absorbance est mesurée à 510 nm et à 700 nm pour chacun.

La teneur en anthocyanines, exprimée en mg d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100g de fruits, est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Anthocyanines (mg/100g)} = (\text{Abs}/ L) \times M \times DX (V/P) \times 100$$

D' où:

$$\text{Abs} = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 1.0 - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 4.5$$

: Coefficient d'absorbance molaire de la cyanine 3-glucoside (26900).

**L** : Épaisseur de la cuve (1 cm).

**M** : Poids moléculaire de cyanidine 3-glucoside (449.2).

**D** : Facteur de dilution.

**V** : Volume final de l'extrait (ml).

**P** : Masse de l'échantillon (mg).

#### I-4.4 Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes totaux de l'échantillon étudié est déterminée selon la méthode décrite par **Wang et al. (2008)**, qui consiste à extraire les caroténoïdes, à l'abri de la lumière, en homogénéisant 5 ml de l'extrait avec 30 ml d'un mélange de solvants (hexane, acétone, méthanol: 12 : 9: 9 ) pendant 15 minutes.

Deux millilitres d'une solution de KOH (1M) sont additionnés au mélange qui sera gardé à l'abri de la lumière pendant 16 heures. Ensuite, sont ajoutés respectivement, 30 ml d'hexane et après une minute, 30 ml d'une solution de sulfate de sodium (1%). Le mélange est laissé à décanter, à l'abri de la lumière, pendant une heure et la phase supérieure qui représente l'extrait caroténoïde est récupérée.

L'absorbance de l'extrait est mesurée à 450 nm et la concentration en caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant le  $\beta$ -carotène (**Annexe VIII**).

#### I-4.5 Dosage de l'acide ascorbique

La teneur en acide ascorbique du mélange est déterminée selon la méthode de **Klein et Perry, (1982)**, légèrement modifiée où le solvant d'extraction l'acide métaphosphorique (1%) est remplacé par l'acide oxalique (0.4%).

Une quantité de fruit (5g) est mélangée avec 25 ml de solvant d'extraction, l'ensemble est laissé sous agitation pendant 15 minutes à l'abri de la lumière et d'air. Après, le mélange est filtré, l'extraction est refaite pour le retentât dans les mêmes conditions, les deux filtrats sont alors additionnés et centrifugés à 16000g pendant 20 minutes à 4°C.

Pour 500 µl de filtrat, sont ajoutés 2.5 ml du réactif 2.6 dichlorophenol-indophénol (DCPIP), l'absorbance est mesurée à 515 nm.

La teneur en vitamine C de l'extrait, exprimée en mg/100g de fruit, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions avec de l'acide L-ascorbique (**Annexe VIII**).

#### I-5 Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire

L'activité anti-oxydante des extraits a été déterminée selon deux méthodes. La première est l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques par différents tests (réduction de chlorure ferrique, de phosphomolybdate). La deuxième évalue le pouvoir anti-radicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation de différent radical (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par les antioxydants présents dans les extraits.

##### I-5.1 Pouvoir réducteur

###### I-5.1.1 Réduction du chlorure ferrique

La réduction de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) de l'extrait est déterminée selon la méthode décrite par **Akkol et al. (2011)**.

Pour 1ml d'extrait sont ajoutés 1ml de tampon phosphate (0.2M, pH 6.6) et 2.5ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 30minutes dans un Bain Marie, 1.5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés, le mélange est centrifugé à 3000g.

Ensuite, 1.5ml du surnageant sont additionnés de 1.5 ml d'eau distillée et de 0.5 ml de chlorure ferrique (0.1%), l'absorbance est mesurée à 700nm après 10minutes.

L'évaluation du pourcentage de réduction du chlorure ferrique par rapport aux concentrations des standards (Acide gallique, quercétine et vitamine C) est réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe IX**).

### I-5.1.2 Réduction du phosphomolybdate

L'activité antioxydante de l'extrait étudié est évaluée par la méthode décrite par **Karou et al. (2005)**.

Pour 200µl d'extrait sont ajoutées, 2ml de réactif de Molybdate. La lecture de l'absorbance de l'extrait est mesurée à 695 nm, après une incubation à 90°C pendant une heure et demie.

L'évaluation du pourcentage de réduction du phosphomolybdate par rapport aux concentrations des standards (Acide gallique et vitamine C) est réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe IX**).

### I-5.2 Neutralisation des radicaux libres

#### I-5.2.1 Inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>

Le pouvoir anti-radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH<sup>•</sup>, de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par **Ao et al. (2008)**.

Pour 500µl d'extrait, 2ml de DPPH (0.06mg/ml) sont ajoutées. Après une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance de l'extrait est mesuré à 517 nm.

L'évaluation de l'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par rapport aux concentrations des standards (Acide gallique, quercétine, et vitamine C) est réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe X**).

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>:

$$PI \% = [1 - Abs_{Ech} / Abs_T] \times 100$$

D'où :

Abs<sub>Ech</sub> : Absorbance de l'extrait, après 30 minutes, à 517 nm.

Abs<sub>T</sub> : Absorbance de témoin, après 30 minutes, à 517 nm.

#### I-5.2.2 Inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup>

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> est évalué par la méthode de **Zhu et al. (2010)**, qui consiste à additionner 2 ml de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> ( $A_{734nm} = 0.700 \pm 0.020$ ) à 20µl de l'extrait. La lecture de l'absorbance est mesurée, à partir de la première minute pendant 6 minutes, à 734 nm.

L'évolution d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> par rapport aux concentrations des standards (Acide gallique et vitamine C) est réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe X**).

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> :

$$\text{PI \%} = [(\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Extrait}}) / \text{Abs}_{\text{Contrôle}}] \times 100$$

D'où :

Abs<sub>Contrôle</sub> : Absorbance du témoin après 30 minutes à 517 nm.

Abs<sub>Extrait</sub> : Absorbance de l'extrait après 30 minutes à 517 nm.

### I-5.2.3 Neutralisation du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le pouvoir anti-radicalaire, par la neutralisation du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des extraits est déterminé selon la méthode décrite par **Yousfi et al.(2006)**.

Pour 1,5ml de l'extrait 0,02ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50%) sont ajoutés, et l'absorbance est mesurée à 510nm chaque 10min pendant une durée de 50 min.

Le pouvoir anti-radicalaire des extraits est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI \%} = [(\text{Abs}_{\text{C}} - \text{Abs}_{\text{E}}) / \text{Abs}_{\text{C}}] \times 100$$

D'où :

Abs<sub>C</sub> : Absorbance de contrôle.

Abs<sub>E</sub> : Absorbance de l'extrait.

### I-6 Détermination de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits étudiées, vis-à-vis des trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*), la technique des disques en papier est utilisée. Les souches bactériennes sont à l'origine d'une collection du Laboratoire de Microbiologie Appliqué (LMA) de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa (**M<sup>elle</sup> BENDALI F.**).

### I-6.1 Standardisation des souches

Une standardisation des souches est réalisée par dénombrement sur milieu solide pour l'obtention d'une suspension de  $10^6$  UFC/ml.

Le but de la standardisation est d'avoir une charge homogène de toutes les souches étudiées pour pouvoir comparer l'effet antibactérien des extraits des échantillons étudiés.

### I-6.2 Test de l'activité antibactérienne

Selon le **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM)**, Une dilution de  $10^{-6}$  a été préparée à partir des souches mères de  $10^7$  UFC/ml obtenus après standardisation, et un 1 ml de chaque souche a été ensemencé par inondation dans les boîtes de pétri coulées de milieu gélosé MH. Des disques en papier (5 mm de diamètre) stériles sont imprégnés avec un volume de 20  $\mu$ l de l'extrait. Un disque témoin imbibé de l'acétone seul est déposé dans chaque boîte.

Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 72 h. L'activité inhibitrice de l'extrait testé est évaluée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour du disque.

### I-7 Analyse statistique

Les résultats ont été analysés par le logiciel Microsoft Excel, et sont exprimés en moyennes de trois valeurs  $\pm$  écart types.

D'autre part, les résultats expérimentaux du plan d'expérience (**plan de mélange**) ont été analysés par le logiciel JMP (qui est un logiciel de statistiques dans lequel une partie est consacrée aux plans d'expériences).

## II-1 Optimisation de l'extraction des antioxydants

L'extraction, l'étape la plus importante pour extraire des substances bioactives des matières végétales, est un processus conçu pour récupérer les composés phénoliques par diffusion d'une matrice solide (matière végétale) vers une matrice liquide (solvant) (Li *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.*, 2007).

Beaucoup de facteurs influencent l'efficacité de l'extraction tel que ; la nature du solvant, la température, le rapport liquide-solide, la granulométrie du matériel végétal, et le nombre d'étapes d'extraction (Wettasinghe et Shahidi, 1999 ; Pinelo *et al.*, 2005).

### II-1.1 Choix du solvant d'extraction

Le choix du solvant est l'une des plus importantes étapes au cours d'une extraction. Le méthanol, l'éthanol ou l'éther de pétrole et leurs mélanges dans l'eau, aussi bien que l'acétone et éthyle d'acétate sont jusqu'ici les solvants les plus généralement utilisés dans l'extraction des composés phénoliques des matières végétales (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003 ; Naczki et Shahidi, 2006 ; Hayouni *et al.*, 2007). Ces solvants alcooliques donnent des rendements élevés mais s'ils ne sont pas fortement sélectifs (Spigno *et al.*, 2007).

L'addition de l'eau au solvant organique crée habituellement un milieu plus polaire qui facilite l'extraction des polyphénols comme suggérée par Spigno *et al.* (2007). En augmentant la proportion de l'eau à l'acétone, la polarité du solvant augmente également. Quand ceci est réalisé, le système de solvant crée un moyen modérément polaire qui peut extraire les substances phénoliques (Zhang *et al.*, 2007).

Plusieurs études ont indiqué que l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols (Chirinos *et al.*, 2007 ; Chan *et al.*, 2009 ; Uma *et al.* 2010). Ceci justifier le choix de l'acétone (80%) comme solvant d'extraction dans la présente étude.

### II-1.2 Choix du temps d'extraction

Le temps d'extraction est un autre paramètre principale dans la procédure d'extraction des composés phénoliques (Lapornik *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005).

Selon Uma *et al.* (2010), l'augmentation de la durée d'extraction, de 40 à 450 minutes, est accompagnée par une élévation de la teneur en polyphénols totaux de 5167.02 à 7513 mg E.A.G./100g de produit.

D'après Silva *et al.* (2007), un temps d'extraction excessif n'est pas utile pour l'amélioration de la teneur en antioxydants extraite.

Tenir compte de ces résultats, un temps d'extraction de 60 minutes est choisi pour l'extraction des composés phénoliques dans la présente étude.

### II-1.3 Choix de la température d'extraction

Le choix d'une température appropriée à l'extraction est un autre paramètre principal dans la procédure d'extraction. L'augmentation de la température de 25 à 40°C a un effet significatif ( $p < 0.05$ ) sur l'extraction des composés phénoliques, en augmentant la solubilité du corps dissous et le coefficient de diffusion mais au delà d'une certaine température, les composés phénoliques peuvent être dénaturés ( **Juntachote et al., 2006** ; **Al-Farsi et Lee, 2008**)

Selon **Wang et al. (2007)**, les températures élevées favorisent la libération des polyphénols liés aux constituants des cellules qui améliore ainsi la perméabilité des parois cellulaires. D'ailleurs, il est également démontré que le dégagement de ces composés pourrait réduire leurs coagulation avec les lipoprotéines, augmentant de ce fait la solubilité et la diffusion des polyphénols (**Al Farsi et Lee, 2008** ; **Zhang et al., 2007**).

Une température élevée ( 55°C) peut également entraîner la perte de solvant par évaporation puisque le point d'ébullition d'acétone est très proche de 55°C, ce qui explique le choix de la température de l'extraction des composés phénolique à la valeur de 50 °C, dans la présente étude.

### II-2 Plan de mélange

L'optimisation de la formulation du mélange Figue sèche –Miel est réalisée en utilisant le plan de mélange, avec trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) désignant les proportions en figues noires ( $X_1$ ), figues vertes ( $X_2$ ) et miels ( $X_3$ ).

Des proportions composantes sont exprimées comme fractions du mélange avec une somme ( $X_1+X_2+X_3$ ) égale à 1 (**Karaman et al ., 2011**). Ces trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) sont appliqués avec la sélection des niveaux bas et hauts et centrés :

- La proportion en figue noire (30 - 32,5 et 35 %) ;
- La proportion en figue verte (30 - 35 et 40 %) ;
- La proportion en miel dépend de  $X_1$  et  $X_2$  [ $X_3 = 1 - (X_1+X_2)$ ]

Les résultats des expériences du plan de mélange (08 combinaisons) sont représentés dans le tableau IV.

**Tableau IV:** Optimisation de la formulation d'un mélange figue sèche-miel par le plan d'expérience plan de mélange.

N° d'essai	Figue noire (g) $X_1$	Figue verte (g) $X_2$	Miel (g) $X_3$	Valeurs réelles TPC (mg d'EAG/100g)	Valeurs prédites TPC (mg d'EAG/100g)
1	0,3	0,3	0,4	456,524	452,135
2	0,3	0,4	0,3	589,475	592,473
3	0,325	0,3	0,375	522,773	530,16
4	0,35	0,4	0,25	577,556	581,944
5	0,3	0,35	0,35	502,389	503,778
6	0,35	0,35	0,3	561,418	560,028
7	0,35	0,3	0,35	578,165	575,166
8	0,325	0,4	0,275	611,105	603,718

Les résultats de la présente étude montrent que le taux d'extraction des composés phénoliques varie de 456,524 à 611,105 mg/100g. Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés sur le taux d'extraction des polyphénols, ce qui est similaire au résultat retrouvé par plusieurs auteurs (**Karaman et al. , 2011**).

## II-2.1 Validation du modèle

Les expériences conçues permettent d'explorer et de comprendre la relation entre les facteurs et la ou les réponses envisagées. Afin d'avoir une bonne réponse, plusieurs conditions doivent être vérifiées.

### II-2-1.1 Coefficient de corrélation

Le coefficient de détermination  $R^2$  permet de confirmer la qualité de l'ajustement du modèle et la modélisation de la réponse (**Chan et al., 2009**).

Dans la présente étude, la valeur de  $R^2$  est de 0.99, ce qui signifie que uniquement 1% des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté est élevée ( $R^2_{\text{ajusté}} 0.96$ ), ce qui confirme la haute significativité du modèle.

La valeur du  $R^2_{\text{ajusté}}$  (représente la valeur du  $R^2$  après élimination des coefficients inutiles du modèle) sera très inférieure à celle de  $R^2$  si le modèle contient beaucoup de termes inutiles (non significatifs) (**El-Adawi et al., 2011**).

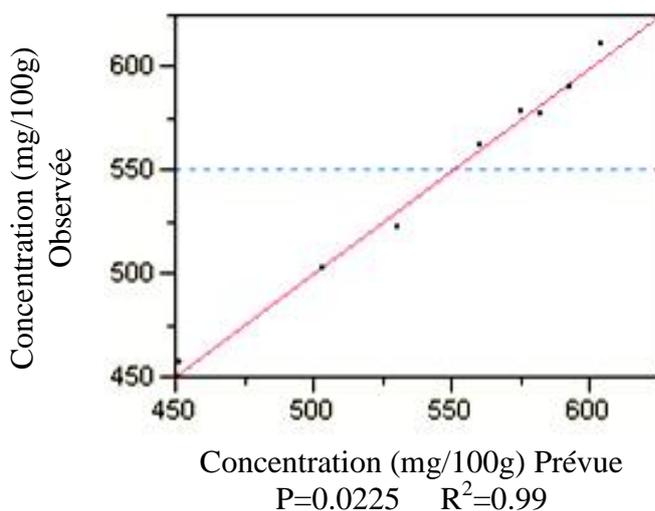


Figure N°6 : Plan de prédiction réelle du mélange étudié.

L'analyse de la variance, montre que le modèle est très significatif, avec une probabilité  $P = 0.0225$  inférieure à 0.05, ce qui confirme que le modèle est satisfaisant (Banik et Pandey, 2007).

### II-2.1.2 Effet des facteurs

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à déterminer le degré d'influence des facteurs sur l'extraction des composés phénoliques. De plus, l'erreur estimée permet d'évaluer l'erreur expérimentale (Goupy, 2000).

Les  $P$ -value sont utilisés comme un moyen pour vérifier la signification de chaque coefficient, ce qui indique aussi l'intensité d'interaction de chaque paramètre. Les plus petites  $P$ -value représentent la plus grande signification du facteur correspondant (Liu et al., 2010). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V.

Tableau V : Estimation des coefficients de régression du modèle de premier degré de mélange

Figue sèche- Miel.

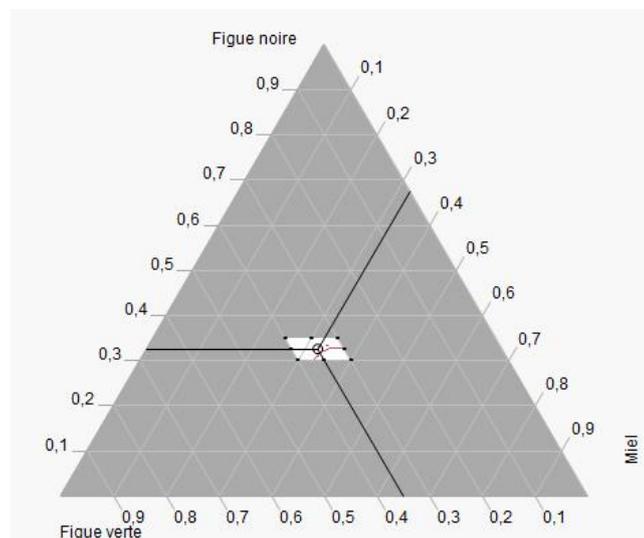
Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P-value
<b>Linéarité</b>				
$X_1$	425,0108	196,3308	2,16	0,1628
$X_2$	718,22233	29,59255	24,27	0,0017*
$X_3$	452,13583	8,403721	53,80	0,0003*
<b>Interaction</b>				
$X_1X_2$	-173,4345	328,81	-0,53	0,6505
$X_1X_3$	594,324	287,0089	2,07	0,1742
$X_2X_3$	-166,7385	71,75222	-2,32	0,1458

➤ **Effet linéaire**

Les résultats de la présente étude montrent que le facteur qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des polyphénols du mélange étudié est la proportion du miel ( $X_3$ ) avec une probabilité  $P=0.0003$  avec un coefficient de l'ordre de (452.1358), suivi de proportion de la figue verte ( $X_2$ ) avec une probabilité  $P=0.0017$ , et un coefficient de l'ordre (718,2223). Cependant, l'impact est non significatif pour le facteur  $X_1$  qui représente la proportion de figue noire.

➤ **Effet d'interaction**

La présente étude montre que les interactions ; figue noire – figue verte, et figue noire – miel et figue verte- miel, sont non significatives avec des probabilités supérieures à 0.05.



**Figure N° 7** : Surface de réponse du mélange étudié en fonction des proportions de figue noire, figue verte et du miel.

## II-2.2 Modèle mathématique

Le modèle mathématique utilisé est un modèle de premier degré classique, qui est volontairement simplifié par élimination des effets d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse, ce qui permet de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire (Tinsson, 2010). Le modèle mathématique opté dans la présente étude est représenté par la relation suivante :

$$Y = 452.13 X_2 + 718.22 X_3$$

### ➤ Solution

Le modèle utilisé pour étudier l'effet des interactions entre le miel, la figue sèche noire et verte sur la composition phénolique du mélange Figue-miel peut modéliser correctement le phénomène étudié. En outre, l'optimisation du mélange effectuée conduisant à déterminer les proportions optimales de mélange basées sur le taux d'extraction des polyphénols.

**Tableau VI:** formulation optimale du mélange étudié.

Variable	Valeur critique
Figue noire (0.30, 0.325 et 0.35)	0,350
Figue verte (0.3, 0.35 et 0.4)	0,344
Miel (1- (X <sub>2</sub> + X <sub>1</sub> ))	0,306
Valeur prévue (mg/100g)	559,90047

Les résultats ont montré que le miel est le composant montrant l'effet le plus élevé sur la teneur en polyphénols extraite.

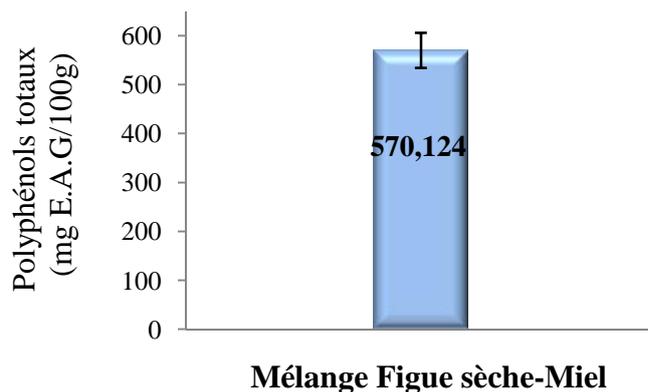
La valeur prédite en composés phénoliques est de l'ordre de 559.90047 mg/100g du mélange ( $\pm 33.53$ ) est obtenue en mélangeant 0.350g de la figue noire, 0.344g de la figue verte et 0.306g du miel.

## II-3 Dosage des antioxydants

### II-3.1 Polyphénols totaux

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène en présence de carbonate de sodium, dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

La teneur en polyphénols du mélange Figue sèche – miel est rapportée en mg d'équivalents d'acide gallique par 100 gramme d'échantillon (mg E.A.G./100g), en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions. Le résultat obtenu est représenté dans la figure N° 8.



**Figure N°8** : Teneur moyenne en polyphénols totaux du mélange étudié.

*La barre verticale représente l'écart-type.*

*La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.*

Le résultat obtenu montre que la teneur en composés phénoliques du mélange étudié est en moyenne de 570,124 mg d'E.A.G/100g de produit. Ce résultat est très proche de celui prédit par le plan d'expérience estimé à 559.9 mg/100g avec une différence d'environ de  $\pm 33,53$ .

**Solomon et al. (2006)** ont rapporté des concentrations en polyphénols totaux comprises entre 49 mg et 281 mg d'E.A.G /100g de quelques variétés de figues sèches de couleur noire et verte.

Selon **Singleton et al. (1999)**, les variétés de figues de couleur noire sont plus riches en polyphénols que les variétés de couleur verte.

D'après les études de **Meda et al. (2005)**, la quantité en composés phénoliques du miel étudiée est comprise entre 110 à 320 mg E.A.G /100g de poids frais.

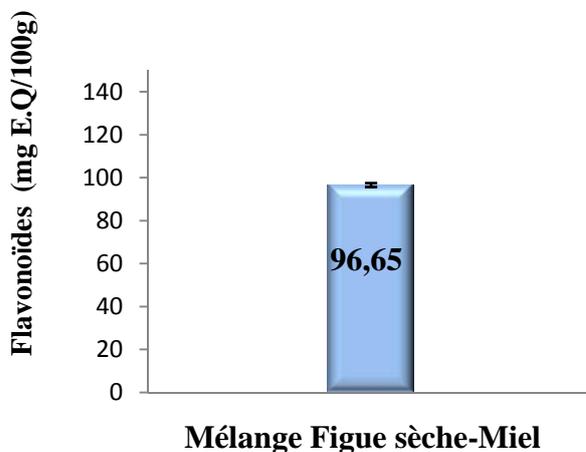
Les résultats de la présente étude sont supérieurs aux valeurs rapportées pour la figue et le miel, ceci peut être attribué à la différence variétale de figues utilisées et également à la composition du miel du mélange.

La composition phénolique des fruits est influencée par les facteurs intrinsèques (espèce, variété) et extrinsèques (conditions de culture) mais peut être également modifiée par le séchage du fruit qui peut détruire ou convertir les polyphénols en une forme non antioxydante (**Manach et al., 2004 ; Vinson et al., 2005**).

D'après l'étude réalisée par **Pyrzynska et Biesaga, (2009)**, la composition phénolique du miel est fortement affectée par l'origine florale, le climat et la zone géographique.

### II-3.2 Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes du mélange Figue sèche – Miel étudié, exprimée par milligramme d'équivalent de quercétine (E.Q.)/100 g de l'échantillon en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, est représentée dans la figure N°9.



**Figure N°9** : Teneur moyenne en flavonoïdes du mélange étudié.

*La barre verticale représente l'écart-type.*

*La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.*

D'après le résultat de la présente étude, la teneur en flavonoïdes du mélange étudié est de l'ordre de 96.65 mg E.Q/100g de produit.

Selon **Solomon et al. (2006)** la teneur en flavonoïdes des figes fraîches varie de 2.1 à 21.5 mg E.Q/100g.

D'après les études de **Socha et al. (2009)**, la quantité en flavonoïdes du miel étudiée est d'environ 6,9 à 28,5 mg E.Q /100g de poids frais.

Les résultats de la présente étude sont supérieurs aux valeurs rapportées pour la figue et le miel, ceci peut être attribué à la différence variétale de figes utilisées et également à la richesse du miel du mélange en flavonoïde.

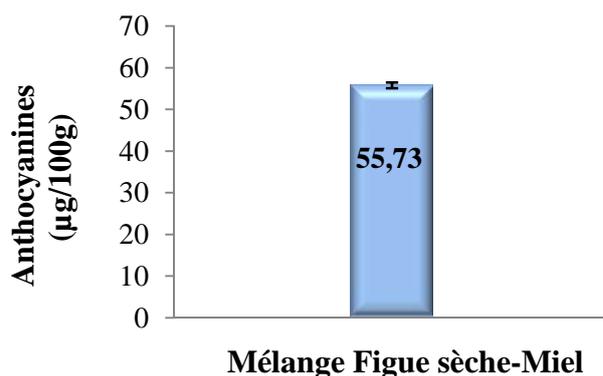
La teneur en flavonoïdes est très influencée par plusieurs facteurs entre autres les conditions de stockage et séchage, les conditions d'environnement et le caractère variétal (**Lapornik, 2005**).

Le taux des flavonoïdes du miel peut être influencé par l'origine florale et géographique aussi bien que par le climat et les caractéristiques de l'emplacement (**Pyrzynska et Biesaga, 2009**). En générale, les miels les plus foncés contiennent un taux plus élevé de flavonoïdes (**Zalibera, 2008**).

### II-3.3 Anthocyanines

La fonction la plus importante des anthocyanes est leurs capacité à conférer de la couleur à plusieurs fruits et légumes et aux végétaux, dont sont responsables de la couleur orange, rose, rouge, violet et bleu (Kořir *et al.*, 2004; Sass-Kiss *et al.*, 2005). Ils peuvent agir en tant qu'antioxydants ou comme agents antibactériens (Kong *et al.*, 2003).

Les teneurs en anthocyanines du mélange Figue sèche-Miel, exprimées en mg d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100g de l'échantillon, sont représentées dans la figure N° 10.



**Figure N°10:** Teneur moyenne en anthocyanines du mélange étudié.

*La barre verticale représente l'écart-type.*

*La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.*

D'après le résultat de la présente étude, la teneur en anthocyanines du mélange étudié est en moyenne de 55.73  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de produit.

Selon Caliskan et Polat , (2011), les teneurs en anthocyanines des figes fraîches sont de l'ordre de  $850 \pm 87\mu\text{g}/100\text{g}$  pour la variété de couleur verte et de l'ordre de  $12840 \pm 904\mu\text{g}/100\text{g}$  pour la variété de couleur noire.

Duenas *et al.* (2007), ont rapporté des teneurs en anthocyanines de différentes variétés de figes fraîches varient de 3200 à 9700  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de poids frais et de 150 $\mu\text{g}$  à 1500 $\mu\text{g}/100\text{g}$  de poids frais pour la peau et la pulpe, respectivement.

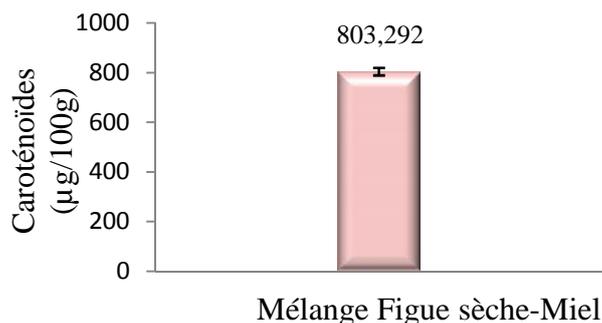
Selon Vallejo *et al.* (2012), le résultat des analyses effectuées sur différentes variétés de figes sèches a révélé l'absence des anthocyanines dans la peau et leur pulpe.

Les teneurs faibles en anthocyanines dans notre étude peuvent être dues soit à la méthode d'analyse utilisée, soit à la destruction de ces pigments au cours du séchage et du stockage des variétés de figes, ainsi que la variété. Les anthocyanines sont des composés très sensibles et plusieurs facteurs (la température élevée, le pH, la lumière, la structure et la concentration des anthocyanines) peuvent les déstabiliser (Laleh *et al.*, 2006).

### II-3.4 Caroténoïdes

Les caroténoïdes, pigments naturels présents dans les aliments d'origine végétale, sont insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques tels que l'acétone, hexane, etc. (Rodriguez-Amaya, 2010).

Les résultats du dosage des caroténoïdes obtenus, exprimé en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de  $\beta$ -carotène/100g du mélange en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure N° 11.



**Figure N°11** : Teneur moyenne en caroténoïdes du mélange étudié.

*La barre verticale représente l'écart-type.*

*La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.*

La présente étude, montre que la teneur en caroténoïdes du mélange étudié est en moyenne de  $803,292 \mu\text{g}/100\text{g}$ .

**Su et al. (2002)**, ont obtenu une teneur en caroténoïdes de quelques variétés de figue sèche de l'ordre de  $40 \mu\text{g E. . C} / 100\text{g}$  de poids frais. En revanche, **Lúcia et al. (2009)**, ont rapporté une faible teneur en caroténoïdes des figues environ de  $14.10\mu\text{g d'E. . C}/100\text{g}$ .

Selon **Ferreira et al. (2009)**, la teneur en caroténoïdes du miel clair est de l'ordre  $932 \pm 1 \mu\text{g} / 100\text{g}$ .

**Aknouche et al. (2008)**, dans leur étude portée sur quatre échantillons de miel de quelques régions de la willaya de Bejaia (Adekar, Bejaia, Oued Ghir et El-Kseur), la teneur en caroténoïdes de ces derniers oscille de  $0,3$  à  $1,2 \mu\text{g d'E. . C}/100 \text{g}$ .

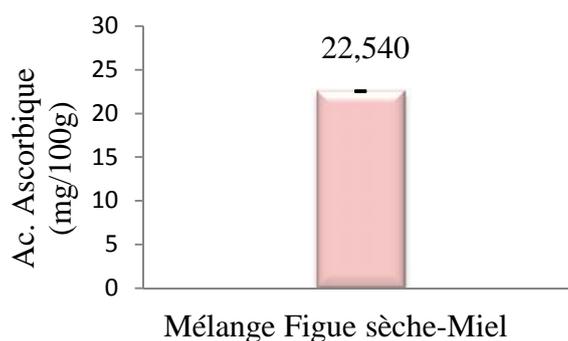
Les résultats de la présente étude sont différents aux valeurs rapportées pour la figue et le miel, ceci peut être attribué à plusieurs facteurs tels que ; la différence variétale de figues utilisées et également à la composition du miel du mélange, à la méthode d'extraction et d'analyse.

D'après **Rodriguez-Amaya, (2010)**, la composition en caroténoïdes varie avec la saison. En effet en saison fraîche et pluvieuse, la teneur en caroténoïdes est plus faible avec une dominance du  $\beta$ -carotène comparés à ceux produits en saison relativement sèche et chaude.

D'autres facteurs peuvent influencer la composition en caroténoïdes : un traitement thermique sévère peut entraîner des pertes et favoriser l'isomérisation trans /cis (**Hornero-Mendez et al., 2000 ; Melendez-Martinez et al., 2013**).

### II-3.5 Acide ascorbique

La teneur en vitamine C du mélange Figue sèche – Miel étudié, exprimé en mg d'équivalent d'acide ascorbique (E.A.A)/100 g de l'échantillon, en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, est représentée dans la figure N°12.



**Figure N°12** : Teneur moyenne en acide ascorbique du mélange étudié.

*La barre verticale représente l'écart-type.*

*La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.*

D'après les résultats obtenus, la teneur en acide ascorbique du mélange étudié est en moyenne de 22,540 mg/100g.

D'après **Lim, (2012)**, la teneur en acide ascorbique de la figue sèche est de l'ordre de 1,2 mg / 100g. Par contre **Oukabli , (2003)**, a révélé une teneur de l'ordre de 3,6mg/100g.

D'après **Ferreira et al. (2009)** la teneur du miel estimé est de l'ordre de 14,001 mg/100g de poids frais.

## II-4 Activités antioxydantes et anti-radicalaires

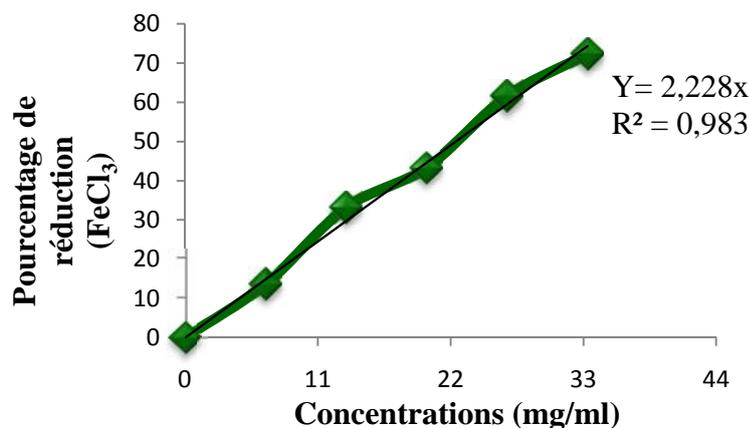
### II-4.1 Pouvoir réducteur

#### II-4.1.1 Réduction du chlorure ferrique

Le pouvoir réducteur est la capacité d'une substance à transférer un électron ou à libérer un atome d'hydrogène (**Sousa et al., 2008 ; Sahreen et al., 2010**).

Le pouvoir réducteur du chlorure ferrique est basé sur la réduction de  $Fe^{3+}$  (fer ferrique) du complexe ferrocyanure de potassium en  $Fe^{2+}$  (fer ferreux) par les antioxydants contenus dans les extraits. La réduction donne une couleur verdâtre dont l'intensité varie en fonction de la concentration des extraits étudiés, confirmant ainsi les propriétés antioxydantes que possède le mélange (**Gulcin et al., 2005 ; Fabri et al., 2009**).

Le résultat de l'évaluation du pouvoir réducteur du mélange étudié à différentes concentrations est représenté dans la figure N°12.



**Figure N°13** : Pouvoir réducteur de l'extrait étudié vis-à-vis le chlorure ferrique.

D'après les résultats obtenus, il semble que le pourcentage de réduction de chlorure ferrique augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

La capacité de réduction de l'extrait étudié est de 74.25% pour une concentration de 33.33mg/ml, équivalant à 0.04 mg/ml d'acide gallique, 0.15 mg/ml de quercétine et 0.65 mg/ml d'acide ascorbique (**Annexe IX**).

L'étude statistique montre l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage de réduction de FeCl<sub>3</sub> avec les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes, en anthocyanines, en caroténoïdes, et en acide ascorbique avec des coefficients de corrélation de l'ordre de  $r = 0.870$ ,  $r = 0.877$  et  $r = 0.98$  et  $r = 0.996$ ,  $r = 0.972$ , respectivement (**Annexe XI**).

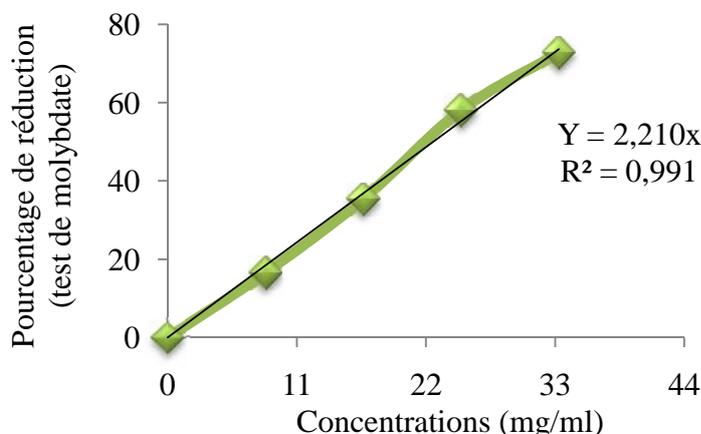
Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> (**Yang et al., 2009**).

D'après les résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, l'extrait est riche en composés phénoliques alors qu'il présente une forte activité réductrice, ceci peut être expliqué par la disponibilité d'un certain nombre de groupements fonctionnels responsables de cette activité (**Wong et al., 2006 ; Saeedeh et Urooj., 2007**).

#### II-4.1.2 Réduction du phosphomolybdate

La capacité antioxydante des extraits a été mesurée en utilisant la méthode au phosphomolybdate, dont le principe est basé sur la réduction du Mo (VI) au Mo(V) par les antioxydants des échantillons et la formation, par la suite, du phosphate Mo(V) de couleur verte, avec un maximum d'absorption à 695 nm (**Ghafour et al., 2010 ; Nagendra et al., 2011**).

Le résultat de l'évaluation du pouvoir réducteur du mélange étudié à différentes concentrations est représenté dans la figure N°14.



**Figure N°14** : Pouvoir réducteur de l'extrait étudié vis-à-vis le molybdate.

La capacité de réduction de l'extrait étudié est de 73.659% pour une concentration de 33.33mg/ml, équivalant à 0.04mg/ml d'acide gallique et à 0.15 mg/ml d'acide ascorbique (**Annexe IX**).

Les études effectuées par **Jayaprakaska et al. (2008)** ont montré que le pouvoir réducteur dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons et de la position et du nombre de groupements hydroxylés.

Plusieurs études ont attribué la capacité réductrice à d'autres molécules non phénoliques telles que les enzymes et les substances non enzymatiques (vitamines et acides aminés) peuvent également intervenir dans l'activité antioxydante (**Al-Mamary et al., 2002 ;Bertoncelj et al., 2007 ; Ferreira et al., 2009**).

L'étude statistique révèle l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pourcentage de réduction du phosphomolybdate et les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en anthocyanines, en caroténoïdes, et en acide ascorbique avec des coefficients de corrélations de l'ordre de  $r = 0.996$ ,  $r = 0.706$ ,  $r = 0.883$ ,  $r = 0.978$  et  $r = 0,998$  respectivement (**Annexe XII**).

## II-4.2 Pouvoir anti-radicalaire

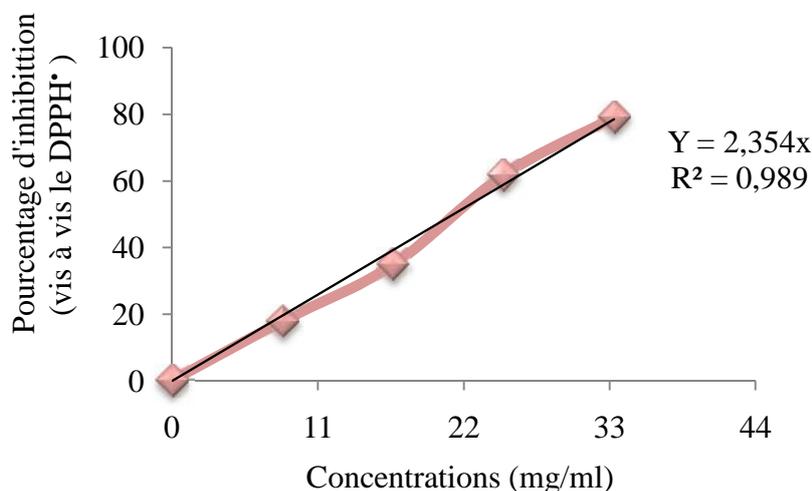
### II-4.2.1 Pouvoir anti-radicalaire DPPH<sup>•</sup>

Le 2,2 Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) est un radical libre stable qui peut être réduit en 1,1 Diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) par un transfert d'hydrogène provenant des antioxydants présents dans le milieu :



Cette réaction conduit à un virage de la couleur violette du réactif au rose et l'absorbance diminuera. Une diminution de l'absorbance indique un important pouvoir antiradicalaire de l'extrait (Molyneux, 2004).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> par le mélange étudié à différentes concentrations est représenté dans la figure N°15.



**Figure N°15** : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis-à-vis le radical DPPH<sup>•</sup>

D'après les résultats obtenus, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

La capacité d'inhibition de l'extrait étudié est de 78.45% pour une concentration de 33.33mg/ml, équivalant à 0.01 mg/ml d'acide gallique, 0.002 mg/ml de quercétine et 0.015 mg/ml d'acide ascorbique (Annexe X).

Carlos et al. (2010), ont rapporté que la figue fraîche présente 38 à 86 % d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup>.

Selon Marrelli et al. (2012), l'activité inhibitrice, vis-à-vis du DPPH<sup>•</sup>, des figues fraîches est d'environ 50% pour une concentration de 1.64 mg/ml. De plus, cette activité est étroitement liée à la concentration de l'extrait.

Les études de Socha et al. (2009), ont révélé un pourcentage d'inhibition de l'échantillon miel de l'ordre de 27,2%. Les résultats obtenus dans notre étude ont montré l'existence d'une différence à la bibliographie donnée due non seulement au mode d'extraction mais à la composition de notre échantillon (figue sèche-miel).

L'étude statistique révèle l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> et les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en anthocyanines, en caroténoïdes, et en acide ascorbique avec des

coefficients de corrélations de l'ordre de  $r = 0.839$ ,  $r = 0.957$ ,  $r = 0.997$ ,  $r = 0.959$  et  $r = 0,903$  respectivement (Annexe XIII).

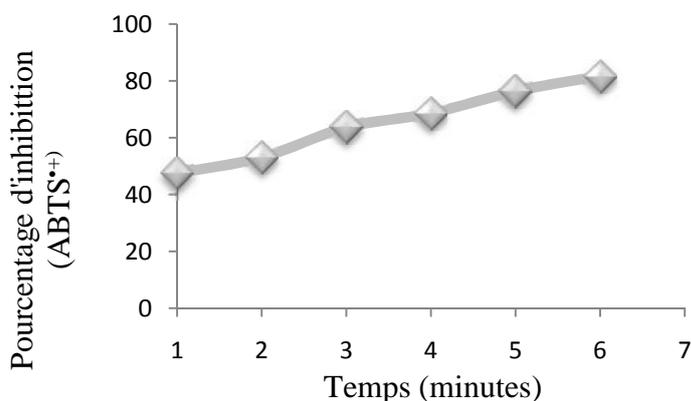
#### II-4.2.2 Pouvoir anti-radicalaire ABTS<sup>•+</sup>

Dans ce test l'ABTS est oxydé par les antioxydants à son radical cationique ABTS<sup>•+</sup>, qui a une couleur intense. La neutralisation de ce dernier, pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire, se traduit par la décoloration de la solution (Lien *et al.*, 1999 ; Gulcin, 2010).

L'activité anti-radicalaire est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS<sup>•+</sup> (Gulcin, 2010).

L'obtention du radical ABTS<sup>•+</sup> résulte du contact du radical avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine ou horseradish peroxydase) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant (oxyde de manganèse ou persulfate de potassium) (Benavente-Garcia *et al.*, 2000 ; Arnao *et al.*, 2001).

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> par le mélange étudié à différentes concentrations est représenté dans la figure N°16.



**Figure N°16** : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis-à-vis le radical ABTS<sup>•+</sup>.

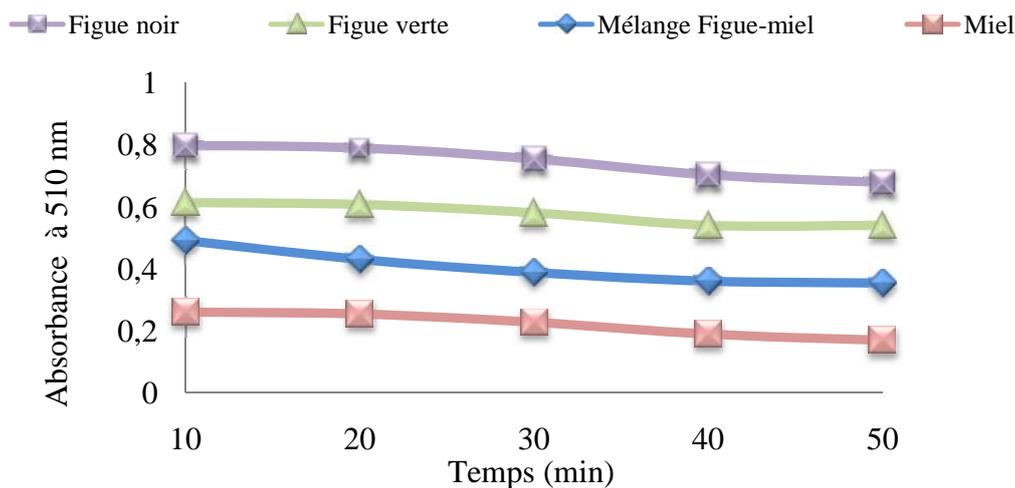
Les résultats de la présente étude, indiquent que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> par l'extrait à une concentration de 33,33mg/ml augmente avec le temps, variant de 47,48% après la 1<sup>ère</sup> minute de réaction à 81,71% à la 6<sup>ème</sup> minute.

Plusieurs études ont montré que l'activité anti-radicalaire est très influencée par le solvant d'extraction (Teow *et al.*, 2007 ; Floegel *et al.*, 2011). Ce qui peut expliquer le pourcentage obtenu dans la présente étude.

**Pérez-Jiménez et Saura-Calixto (2006)** ont démontré que plus le solvant est polaire, plus grand est le pourcentage d'inhibition de l'ABTS<sup>+</sup>.

### II-4.2.3 Pouvoir anti-radicalaire H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le peroxyde d'hydrogène lui-même n'est pas très réactif, mais il peut être parfois toxique, puisqu'il peut provoquer l'hydroxyle des radicaux à l'intérieur de la cellule (**Oszoy et al., 2008**).



**Figure N° 17** : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait étudié vis-à-vis le radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

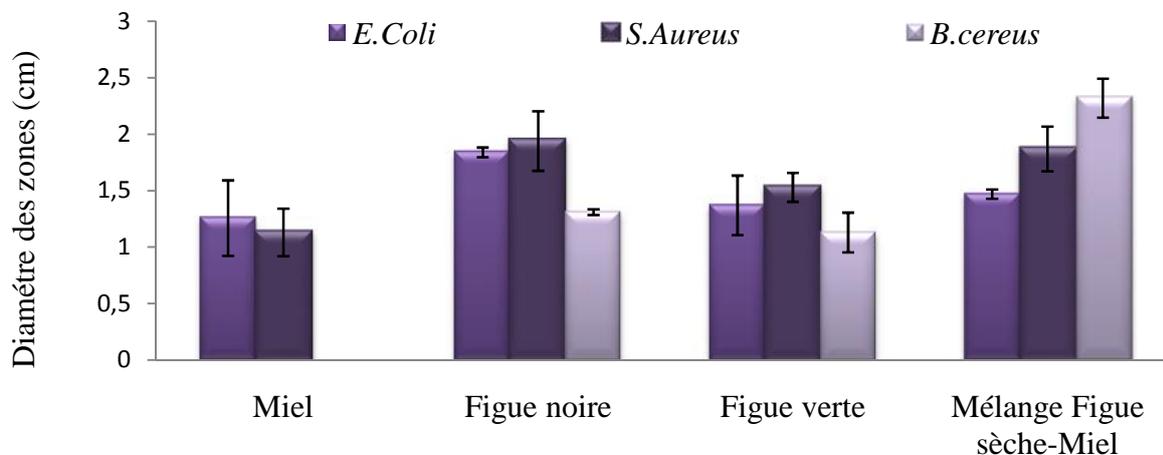
D'après les résultats obtenus, la meilleure activité scavanger du peroxyde d'hydrogène est attribuée à l'échantillon du miel, suivi respectivement par les échantillons mélange Figue-Miel et figue verte.

La neutralisation du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pourrait être due à la présence des composés phénoliques, ces derniers ont l'aptitude à donner des électrons au peroxyde d'hydrogène qui se transforme par la suite en molécules d'eau (**Atmani et al., 2009**).

Des effets synergiques peuvent exister entre les différents antioxydants qui peuvent modifier l'activité antioxydante (**Peschel et al., 2006 ; Lobo et al., 2009**).

### II-5 Activité antibactérienne

Le présent travail a pour objectif l'évaluation du pouvoir antibactérien du mélange Figue sèche-Miel, miel pur, figue noire et verte vis-à-vis de certaines souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*). Les résultats obtenus, exprimés par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, sont représentés dans la figure N°18 :



**Figure N°18** : Activité antibactérienne des échantillons étudiés vis-à-vis trois souches bactériennes.

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.

La sensibilité des bactéries vis-à-vis les extraits étudiés est déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne obtenus, toutes les souches bactériennes testées possèdent une sensibilité à l'action inhibitrice des extraits étudiés, avec des diamètres de la zone d'inhibition qui diffèrent d'une souche à une autre, ce qui indique un large spectre d'action antibactérienne à l'exception de l'extrait de miel vis-à-vis la souche de *Bacillus cereus*.

L'effet inhibiteur le plus élevé est obtenu avec l'extrait du mélange Figue sèche-Miel vis-à-vis la souche *B. cereus*, suivi de l'échantillon figue noire vis-à-vis la souche *S. aureus*.

Les zones d'inhibition mesurées pour la souche *B. cereus* varient de 1,13 à 2,32 cm. La valeur la plus élevée est enregistrée par l'extrait de mélange Figue sèche-Miel avec un diamètre de 2,32 cm, suivie de l'extrait figue noire et figue verte avec des zones d'inhibition de l'ordre 1,31 et 1,13cm, respectivement. L'échantillon miel ne présente aucun effet antibactérien avec une zone d'inhibition nulle.

Pour la souche *Staphylococcus aureus*, une meilleure inhibition est observée par l'extrait figue noire suivi du mélange étudié avec des zones d'inhibition de l'ordre 1,94 et 1,87 cm respectivement.

L'échantillon figue verte présente une zone d'inhibition de l'ordre de 1,53cm. La zone d'inhibition la plus faible vis-à-vis cette souche est enregistrée avec l'extrait de l'échantillon miel pur (1,13cm).

Par contre les zones d'inhibition mesurées pour la souche *Escherichia coli* varient de 1,37 à 1,84 cm. La valeur la plus prononcée est enregistrée avec l'extrait de figue noire avec un diamètre de 1,84 cm, suivie de mélange Figue sèche-Miel avec une zone d'inhibition de l'ordre 1,47 cm. Les échantillons figue verte et miel présentent des zones d'inhibitions les plus faibles avec des diamètres de l'ordre 1,37 et 1,257cm, respectivement.

D'après **Jimoh et al. (2010)**, les bactéries à Gram(-) sont moins sensibles que les bactéries Gram (+) à cause de la composition chimique de la paroi des bactéries à gram (-) qui présente des structures spéciales : Les LPS (lypopolysaccharides), ne permettent pas la pénétration des molécules actives.

Plusieurs études ont démontré que les extraits des plantes sont dotés d'une activité antimicrobienne liée à leurs richesse en composés phénoliques (**Rodriguez-Vaquero et al., 2007**). Dans le cas des extraits de figue cette activité est généralement liée aux flavonoïdes (**Jeong et al., 2009**).

Selon **Merah et al. (2010)**, l'action du miel naturel sur les bactéries dépend de la composition et la nature du miel qui sont influencées par plusieurs facteurs tels que la durée et les conditions de conservation.

D'après **Kerkvliet (1996)**, l'effet antimicrobien du miel peut être expliqué par son contenu important en enzymes, le glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène.

La santé humaine est mise en danger par de nombreuses maladies causées par le stress oxydatif, ce qui réclament la recherche de produits riches en antioxydants naturels réduisant ainsi les risques de ces maladies.

Les figes et le miel, ainsi que leurs dérivés de terroirs, sont une bonne source d'antioxydants naturels, d'où l'intérêt d'étudier leur propriétés anti-oxydantes.

Le présent travail est consacré à l'optimisation de la formulation d'un mélange Figue sèche-Miel. La méthodologie de surface de réponse décrit de manière satisfaisante l'extraction des antioxydants et l'influence des paramètres étudiés sur l'activité antioxydante.

Les valeurs expérimentales obtenues sont très proches aux valeurs prédites, ce qui confirme la validité des modèles mathématiques qui reproduisent bien les résultats expérimentaux.

La proportion optimale qui permet d'obtenir le meilleur taux en composés phénoliques estimé de l'ordre de 570,124 mg E.A.G. / 100g de MS, est obtenue en mélangeant ; 0,350 g de la figue noire, de 0,344 g de la figue verte et 0,306 g de miel.

La présente étude montre que les teneurs en flavonoïdes, en anthocyanines, en caroténoïdes et en acide ascorbique de l'extrait optimal sont de l'ordre de 96,65 mg E.Q /100g, de 55,73 µg d'équivalent de cyanidine-3-glucoside /100g, de 803,292 µg d'E. . C /100g et de 22,540 mg d'E. A. A/100g de produit, respectivement.

Les résultats du pouvoir réducteur de l'extrait étudié à la concentration de 33.33 mg/ml, ont révélé des pourcentages de réductions de l'ordre de 74.25% (test réduction du FeCl<sub>3</sub>) 73.659% (test réduction de molybdate).

Le pouvoir anti radicalaire *vis-à-vis* le DPPH<sup>•</sup> et l'ABTS<sup>•+</sup>, du mélange Figue sèche-Miel étudié à la concentration de 33.33 mg/ml, a révélé des pourcentages d'inhibitions de l'ordre de 78.45% et 81,71%, respectivement.

De bonnes corrélations linéaires sont observées entre les différentes classes d'antioxydants dosés dans le mélange avec le pouvoir réducteur et anti-radicalaire des extraits.

Les résultats de l'activité antibactérienne, ont révélé une sensibilité variable des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* étudiées *vis à vis* les trois échantillons testés, mélange Figue sèche-Miel, Miel, Figue sèche noire et verte. L'effet inhibiteur le plus élevé est obtenu avec l'extrait du mélange Figue sèche-Miel *vis-à-vis* *Bacillus cereus*.

Enfin, sur le plan de perspective, afin de d'approfondir ce travail, il serait souhaitable :

- ❖ D'optimiser d'autres facteurs qui peuvent influencer le taux d'extraction des polyphénols et d'autres réponses telles que les propriétés physicochimiques et même sensorielles du mélange...
- ❖ D'étudier d'autres variétés de figue et de Miel cultivés en Algérie et d'analyser l'effet de l'origine géographique sur la composition en antioxydants, et sur leurs activités biologiques.
- ❖ Utiliser des techniques plus précises pour identifier les antioxydants du miel, des figues en générales et des figues sèches en particuliers par des techniques plus performantes telles que HPLC, RMN,...
- ❖ D'approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur d'autres espèces bactériennes pathogène, et d'élargir cette étude sur d'autres aspects tels que l'activité antifongique, anti-inflammatoire et même anticancéreuse.
- ❖ Déterminer le pouvoir antioxydant du mélange Figue sèche-Miel avec d'autres produits riches en antioxydants (Dattes, l'huile d'olive...)
- ❖ Elargir l'application du model de plan de mélange sur d'autre produits, et d'encourager son utilisation au niveau industriel.
- ❖ Réaliser *in vivo* l'activité antioxydante des composés isolés pour une meilleure compréhension du mode d'action des molécules bioactives.

A

**Aires E., Barreira J.C.M., Ferreira I.C.F. et Estevinho L.M. (2008).** Antioxidant Activity of Portuguese Honey Samples: Different Contributions of the Entire Honey and Phenolic Extract. *Food Chemistry*. pp 1-28.

**Akkol E.K., Suntar I., Sezer Senol F., Keles H . et Orhana I.E. (2011).** Investigating wound healing, tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of the ethanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia cyanescens* using in vivo and in vitro experimental models. *Journal of Ethnopharmacology* .135 : 71–77.

**Aknouche N., Aouat N. et Mouhoubi Z. (2008).** Comparaison entre l'activité antioxydante de miel et de propolis. 2<sup>ème</sup> Forum de Bejaia, L'Université et le monde productif. Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Science Alimentaire. BEJAIA, ALGERIE.

**Al-Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M. et Shahidi F. (2005).** Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 7592-7599.

**Al-Farsi M.A. et Lee C.Y. (2008).** Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*. 108:977–985.

**Al-Mamary M., Al-Meerri A. et Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. 22 :1041–1047.

**Ao C., Li A., Elzaawely A.A., Xuan T.D. et Tawata S. (2008).** Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Ficus microcarpa* L. fil. Extract. *Food Control* . 19 : 940–948.

**Arnao M B., Cano A. et Acosta M. (2001).** The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* .73 : 239-244.

**Atmani D., Chaher N., Berboucha M ., Ayouni K ., Lounis H ., Boudaoud H ., Debbache N. et Atmani D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* .112: 303.

**Awono A., Manirakiza D. et Owona H. (2008).** Etude de base de la filière miel dans les provinces du base congo et de kinshasa (RDC). yaoundi. 28p.

## B

**Banik R. M. et Pandey D. K. (2007).** Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from *Lantana camara* roots using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*. 27: 241-248.

**Baroni M.V., Arrua C., Nores M.L., Fayé P., Díaz M. P., Chiabrando G. A. et Wunderlin D. A. (2009).** Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food Chemistry* . 114:727–733.

**Barros L., Calhella R.C., Vaz J.A., Ferreira I.C.F.R., Baptista P. et Estevinho L.M. (2007).** Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms. *European Food Research and Technology*. 225: 151-156.

**Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A. et Del Rio J.A.(2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *olea europaea* L leaves. *Food Chemistry*. 68 : 457-462.

**Bertoncelj J., Dobersek U., Jamnik M. et Golob T. (2007).** Evaluation of the phenolic content ,antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*.105:822-828.

**Blanc M. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. limoge. 8p.

**Bogdanov S. (2009).** Honey Composition. *Bee Product Science*.1-13.

**Bradbear N. (2010).** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 248p.

**Brunetone J. (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.3éme edition Technique et documentation, Lavoisier.pp.233-447.

## C

**Cacace J.E. et Mazza G. (2003a).** Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science*. 68:240–248.

**Cacace J.E. et Mazza G. (2003b).** Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*.59:379–389.

**Çaliskan O. et Polat A. (2011).** Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of turkey. *Scientia Horticulturae*, 128:473-478.

**Carlos H., Crisosto., Bremer V., Ferguson L. et Crisosto G. M. (2010).** Evaluating Quality Attributes of Four Fresh Fig (*Ficus carica* L.) Cultivars Harvested at Two Maturity Stages. *HortScience*.45: 707–710.

**Chaabouni M.M., Ayedi H.F. et Kamoun A. (2011).** Plans d'expériences et traitements de surface -Etude quantitative des effets et interactions. *Techniques de l'ingénieur*, Paris.

**Chan S.W., Lee C.Y., Yap C.F., Wan Aida W.M. et Ho C.W. (2009).** Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal* .16: 203-213.

**Chang Y.C., Lee C.L. et Pan T.M. (2006)** .Statistical optimization of media components for the production of *Antrodia cinnamomea* AC0623 in submerged cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 72: 654-661.

**Chagnon P. (2005).** Les plans d'expériences (partie 2), Les modèles de régression. Article réalisé par un membre de la Commission de Normalisation AFNOR X06E « Méthodes statistiques». *Avis d'experts statistiques*. 99 pp.

**Chirinos R., Rogez H., Camposa D., Pedreschi R. et Larondelle Y. (2007).** Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz et Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology* .55: 217–225.

**Codex Alimentarius. (2001).** Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981.

## D

**Defraigne J.O. et Pincemail J. (2007).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liege*. 62 : 4.

**Derkyi S.A., Adu-Amankwa B., Sekyere D. et Darkwa A. (2011).** Optimization of Process Parameters Using Response Surface Methodology for the Extraction of Formaldehyde-Condensable Phenolics from Pine Bark. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*. 2: 64-69.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* .97: 654–660.

**Duenas M., Pérez-Alonso J.J., Santos-Buelga C. et Escribano-Bailo T. (2007).** Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica* L.) . *Journal of Food Composition and Analysis* 21:107–115.

## E

**El-Adawi H., Abdel-Fattah Y. et Abd El-Wahab A. (2011).** Application of numerical modeling for optimization of selective hot water extraction of taxifolin from 'milk thistle' seeds. *African Journal of Biotechnology*. 10: 9804-9811.

**El Asri M., Oukabli A., Mamouni A., Ferrahi M., Lahlou M., Bahri N., Kradi C., Boulanoir B., Abbad A.F., Seddik S., Tirazi R. et Haddaskar El.M. (2008).** Journée d'information sur le figuier, des variétés performantes pour le développement de la culture, *Domaine expérimental Ain Taoujdate, Institut national de la recherche agronomique*. E-mail : med.asri@gmail.com - [oukabli2001@yahoo.fr](mailto:oukabli2001@yahoo.fr)

**Escribano-Bailon M.T. et Santos-Buelga C. (2003).** Polyphenol extraction from foods, in: C. Santos-Buelga, G. Williamson (Eds.), *Methods in Polyphenol Analysis*, The Royal Society of Chemistry, United Kingdom. pp. 1–12.

## F

**Fabri R.L., Nogueira M.S., Braga F.G., Coimbra E.S. et Scio E. (2009).** *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*. 100 : 428–433.

**Faucher J. (2006).** Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue. Thèse de Doctorat, *Institut national polytechnique de Toulouse*. 198p.

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

**Floegel A ., Kim D.O ., Sang-Jin Chung S.J., Koo S.I. et Chun O.K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24 : 1043-1048.

**F.A.O. (2011).** (Food and Agriculture Organisation). Database resulte ; FAO-STAT.

**F.A.O. (2007).** (Food and Agriculture Organisation). Database resulte ; FAO-STAT.

## G

**Ge Y., Ni Y., Yan H., Chen Y. et Cai T. (2002).** Optimization of the supercritical fluid extraction of natural vitamin E from wheat germ using response surface methodology. *Journal of Food Science*.67:239–243.

**Ghafoor K., Park J. et Choi Y.H. (2010).** Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca B.*) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.11: 485–490.

**Goetz P. (2009).** Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. *Phytotherapie* . 7: 91–93.

**Goupy J. (1999).** Plans d'expériences pour surface de réponse. Edition Dunod .312 p.

**Goupy J. (2000).** Plans d'expériences : les mélanges. Edition Dunod .304 p.

**Goupy J. et Creighton L. (2006).** Introduction aux plans d'expériences. Edition Dunod, Paris, 336p.

**Goupy J. (2006).** Introduction aux plans d'expériences.3<sup>ème</sup> édition. Dunod, Paris. 324p.

**Gülçin I., Berashvili D .et Gepdiremen A. (2005).** Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *Journal of Ethnopharmacology*.101: 287-293.

**Gülçin I, (2010).** Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* .11: 210–218.

## H

**Haesslein D. et Oreiller S. (2008).** Fraiche ou séchée, la figue est dévoilée. Haute Ecole de Santé de Genève, Filière Nutrition et Diététique.

**Heinonen I.M., Meyer A.S. et Frankel E.N. (1998).** Antioxidant activity of berry phenolics on human low density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4107-4112.

**Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry* .105: 1126-1134.

**Hornero-Mendez D., De Guevara R .G. L .et Minguez-Mosquera M. I. (2000).** Carotenoid

biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annum*.L) cultivars during ripening: cultivars selection for breeding. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 48:3857-3864.

## I

**Infanger E. (2004).** *Table de composition nutritionnelle suisse*. Berne. 1992-0067.

## J

**Jayaprakasha G .K., Girennavar B.et Patil B.S. (2008).** Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *LWT*, 41: 376–384.

**Jeddi L. (2009).** Valorisation des figes de Taouante: Potentiel, mode et stratégies proposés. Option : Industries Agricoles et Alimentaires. Maroc. 29p.

**Jeong M.R., Kim H.Y. et Cha J.D. (2009).** Antimicrobial activity of methanol extract from *Ficus carica* leaves against oral bacteria. *Journal of Bacteriology and Virologie*.39:97-102.

**Jimoh F., Adedapo A., Aliero A. et Afolayan A. (2010).** Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Revista de Biologia Tropical*.58:1517-1531.

**Ju E .M., Lee S.E., Hwang H.J.et Kim J.H. (2004).** Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var *japonica*. *Life Sciences*. 74 :1013–1026.

**Juntachote T., Berghofer E., Bauer F., Siebenhandl S. (2006).** The application of response surface methodology to the production of phenolic extracts of lemon grass, galangal, holy basil and rosemary. *International Journal of Food Science and Technology*. 41: 121-133.

## K

**Karaman S., Yilmaz M.T.et Kayacier A. (2011).** Simplex lattice mixture design approach on the rheological behavior of glucomannan based salep-honey drink mixtures: An optimization study based on the sensory properties. *Food Hydrocolloids* .25: 1319-1326.

**Karou D., Dicko M.H., Simpore J. et Traore A.S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphénols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*. 4 :823-828.

**Kerkvliet J.D. (1996).** Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. *Journal of Apiculture Res.* 35 :110-117.

**Klein B. P. et Perry A. K. (1982).** Ascorbic Acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of United States. *Journal of Food Science.* 47:941-948.

**Kong J.M., Chia L.S., Goh N.K., Chia T.F. et Brouillard R. (2003).** Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 64: 923–933.

**Košir I.J., Lapornik B., Andrenšek S., Golc Wondra A., Vrhovšek. et Kidri J. (2004).** Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta.* 513:.277-282.

## L

**Lako J., Trenerry V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S.et Premier R. (2007).** Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry.* 101 :1727–1741.

**Laleh G H., Frydoonfar H., Heidary R., Jameei R.et Zare S. (2006).** The Effect of Light, Temperature, pH and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species. *Pakistan Journal of Nutrition.* 5: 90-92.

**Lansky E.P.et Paavilainen H.M. (2011).** Figs the genus Ficus . Traditional Herbal Medicines for Modern Times. 357p.

**Lapornik B., Prošek M.et Wondra A.G. (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* 71: 214–222.

**Lee B.K., Jung J.E. et Choi Y.H. (2005).** Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmannia Radix preparata* by response surface methodology. *Food Engineering Progress.* 9: 283-290.

**Lequet L. (2010).** Du Nectar a un miel de qualité : Contrôle analytique du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculture amateur. *Ecole Nationale Vétérinaire.* Lyon. 195 p.

**Li B.B., Smith B. et Hossain M.M. (2006).** Extraction of phenolics from citrus peels II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology* .48: 189-196.

**Lien E.J., Ren S., Bui H.H. et Wang R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 : 285-294.

**Lim T. K. (2012).** *Ficus carica*. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*.3: 362-376.

**Liu Q.M., Yang X.M., Zhang L. et Majetich G. (2010).** Optimization of ultrasonic assisted extraction of chlorogenic acid from *Folium eucommiae* and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research* .4:2503-2511.

**Lobo A.P., Garcia Y.D., Sanchez J.M., Madrera R.R. et Valles B.S. (2009).** Phenolic and antioxidant composition of cider. *Journal of Food Composition and analysis*.22:644-648.

**Lucia S., Harder M ., Arthur P ., Lima R ., Modolo D. et Arthur V. (2009) .** Physical-chemical characteristics of figs (*Ficus carica*) pre-ready to be submitted to ionizing radiation. *Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP*. 303 :13416-000 Piracicaba. SP.

## M

**Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. et Jiménez L. (2004).** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Journal of American Society for Clinical Nutrition*, 79:727-747.

**Mandal N.K., Pal M. et Aggarwal M.L. (2012).** Pseudo-Bayesian A-optimal designs for estimating the point of maximum in component-amount Darroch–Waller mixture model. *Statistics and Probability Letters*. 82: 1088–1094.

**Marrelli M ., Menichini F ., Statti G.A ., Bonesi M ., Duez P ., Menichini F . et Conforti F.(2012).** Changes in the phenolic and lipophilic composition, in the enzyme inhibition and antiproliferative activity of *Ficus carica* L. cultivar Dottato fruits during maturation. *Food and Chemical Toxicology* .50:726–733.

**Meda A., Lamien C. E., Romito M., Millogo J. et Nacoulma O. G.(2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry* .91: 571–577.

**Melendez-Martinez A.J., Stinco C.M., Liu C. et Wang X.D. (2013).** A simple HPLC method for the comprehensive analysis of cis/trans (Z/E) geometrical isomers of carotenoids for nutritional studies. *Food Chemistry* .138 :1341–1350.

**Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A. (2010).** Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Annales des Sciences et Technologie*. 2 :115-125.

**Meslay C. (2007).** *Herbier méditerranéen.aix-En Provence*, France. 76-417.

**Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*.26: 211-219.

## N

**Nacz M. et Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054: 95–111.

**Nacz M. et Shahidi F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.41:1523–1542.

**Nagai T., Inoue R., Kanamori N., Suzuki N. et Nagashima T. (2006).** Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. Hiroshima, 256-266.

**Nagendra P., Sanjay ., Shravya K.M ., Vismaya M.N. et Nanjunda S.S.(2011).** Health Benefits of Rice Bran - A Review. *Journal of Nutritional and Food Science*.1:3-1000108.

**Nikzade V., Mazaheri Tehrani M. et Saadatmand-Tarzjan M. (2012).** Optimization of low-cholesterol low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Food Hydrocolloids*. 28 : 344-352.

## O

**Ouchmoukh S., Louailech H. et Schweitzer P. (2007).** Physicochemical characteristic and pollen spectrum of some Algerian honey. *Food Control* .18:52-58.

**Oukabli A. (2003).** Le figuier un patrimoine génétique diversifier à exploiter Unité de Recherche sur l'Amélioration des Plantes et Conservation des Ressources Phyto-génétiques INRA, Centre Régional de Meknès. N° 106.

**Ozsoy N., Can A., Yanardag R. et Akev N. (2008).** Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. 110 : 571–583.

## P

**Pérez-Jiménez J. et Saura-Calixto F. (2006).** Effet of solvant and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International* .39:791-800.

**Peschel W., Sanchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzia I., Jimenez D., Lamuela-Raventos R., Buxaderas S. et Codina C. (2006).** An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*. 97:137-150.

**Pierre J.S. (2009).** Les plans d'expérience initiation à leur analyse et à leur construction. Edition Lavoisier- Paris, 345.

**Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J. et Nunez M.J. (2005).** Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 53, 2111–2117.

**Pyrzynska K. et Biesaga M. (2009).** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*. 28: 893-902.

## R

**Ramos A., Visozo A., Piloto J., Garcia C., Rodriguez A. et Rivero R. (2003).** Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in cuban medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 241–246.

**Ribereau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dunod, Paris. 1-201.

**Rodriguez-Amaya D.B. (2010).** Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids-A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23 :726–740.

**Rodriguez Vaquero M.J., Alberto M.R. et Manca de Nadra M.C. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*. 18 : 93-101.

**Rossant A. ( 2011 ).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenante. Université de limoges : pp 5-105.

## S

**Saeedeh A.D. et Urooj A. (2007).** Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. *Food Chemistry*. 102 :1233–1240.

**Sahreen S., Khan M.R. et Khan R.A. (2010).** Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*. sous presse.

**Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M. et Toth-Markus M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38: 1023-1029.

**Senanayake S.P.J.N. et Shahidi F. (2002).** Lipase-catalyzed incorporation of docosahexaenoic acid (DMA) into borage oil: optimization using response surface methodology. *Food Chemistry*. 77:115–123.

**Sies H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*. 91 : 31S-38S.

**Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. et Pereira J.A. (2008).** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives ‘‘alcaparras’’. *Food Science and Technology* 41: 739-745.

**Silva E.M., Rogez H. et Larondelle Y. (2007).** Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*. 55: 381-387.

**Singleton V. L., Orthofer R. et Lamuela-Raventos R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

**Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S. et Fortuna T. (2009).** Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoney. *Food Chemistry* .113: 568–574.

**Solomon A., Golubowicz S., Yablowicz Z., Grossman S., Bergman M., Gottlieb H.E., Altman A., Kerem Z. et Flaishman M. A. (2006).** Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.54: 7717–7723.

**Spigno G., Tramelli L. et De Faveri D.M. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* .81: 200-208.

**Su Q., Rowley K.G., Itsiopoulos C. et O’Dea K. (2002).** Identification and quantitation of major carotenoids in selected components of the Mediterranean diet: Green leafy vegetables, figs and olive oil. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56 :1149–1154.

## T

**Teow C.C., Truong V.D., McFeeters R.F., Thompson R.L., Pecota K.V. et Yencho G.C. (2007).** Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry* .103: 829–838.

**Tinsson W. (2010).** Plans d’expérience: constructions et analyses statistiques, Mathématiques et Applications 67, DOI 10.1007/978-3-642-11472-41, c\_ Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 532p.

## U

**Uma D.B., Ho C.W. et Wan Aida W.M. (2010).** Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) Leaves. *Sains Malaysiana* 39:119-128.

## V

**Vallejo F., Marin J. G. et Tomás-Barberán F.A. (2012).** Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.). *Food Chemistry* .130: 485–492.

**Vasquez M. et Martin A. (1998).** Optimization of *Phaffia rhodozyma* continuous culture through response surface methodology. *Biotechnology and Bioengineering*.57:314–320.

**Vinson J.A. (1999).** The functional food properties of figs . *Cereal Foods World*. 44:82-87.

**Vivier S. (2002).** Stratégie d’optimisation par la méthode des plans d’expériences et application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis. Thèse de Doctorat. 306p.

## W

**Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y. et Li X. (2008).** Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 106:804–810.

**Wettasinghe M. et Shahidi F. (1999).** Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen derived free radicals. *Journal of Agric. Food Chemistry*. 47, 1801–1812.

**Wong S.P., Leong L.P. et William Koh J.H. (2006).** Antioxydant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*. 99:775-783.

## Y

**Yang X., Yu W., Ou Z., Ma H., Liu W. et Ji X. (2009).** Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. Fruit. *Plant Foods for Human Nutrition*. 64:167-173.

**Yousfi H., Tahri H., El Amrani. et Serghini C.H. (2006).** Etude de l'effet antioxydant des anthocyanines de l'olive, raisin rouge, de chou rouge et de la fraise. *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement*. 452-455.

## Z

**Zalibra M., Stasko A., Slebodova A., Jancovicova V., Cermakova T. et Brezova V. (2008).** Antioxydant and radical-scavenging activities of Slovak honey. An electron paramagnetic resonance study. *Food Chemistry*. 110:512-521.

**Zhang Z.S., Li D., Wang L.J., Ozkan N., Chen X.D., Mao Z.H. et Yang H.Z. (2007).** Optimisation of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed. *Journal of Separation and Purification Technology*. 57: 17-24.

**Zhu X.L., Dai Q.Y., Cai W.R., Ma J. et Gu R. (2010).** Response Surface Methodology for Optimizing the Ultrasonic-assisted Extraction of Rice Bran Extract with Both High Total Phenolic Content and Total Antioxidant Capacity. 31, No. 20.

### Sites électroniques

<http://faostat.fao.org,2010>.

<http://faostat.fao.org,2007>.

## *Références bibliographiques*

---

## Annexe I : Composition et valeur nutritive de la figue par 100g (Lim, 2012).

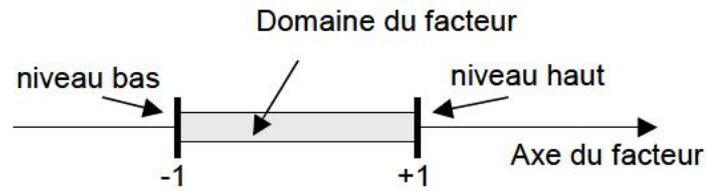
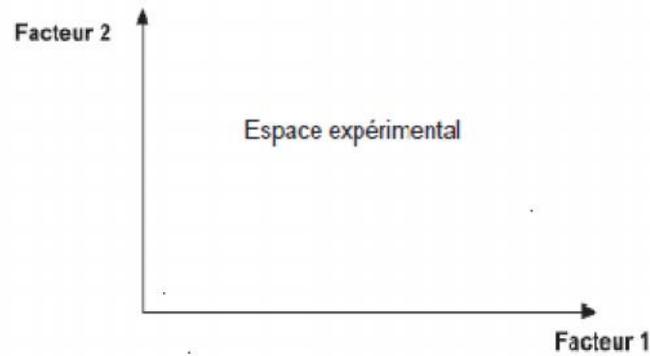
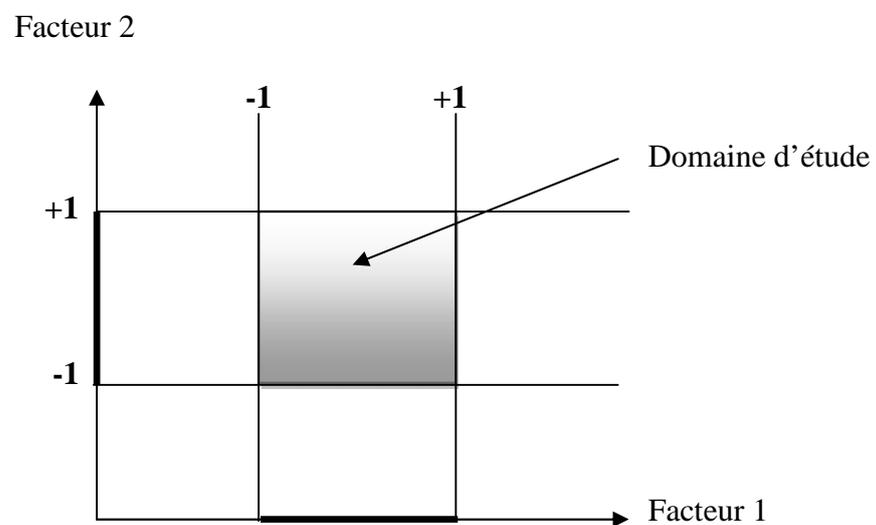
Composition	Figue fraîche	Figue sèche
Valeur énergétique (Kcal)	74	249(1,0141kj)
Eau (g)	79,1	30,05
Protéines (g)	0,75	3,30
Glucides (g/)	16,26	47,92
Lipides (g)	0,30	0 ,93
Fibres alimentaires (g)	2,9	9,8
Potassium (mg)	232	680
Calcium (Ca) (mg)	35	162
Magnésium (Mg) (mg)	17	68
Phosphore (mg)	14	67
Sodium (mg)	1	10
Fer (mg)	0,37	2,03
Zinc (mg)	0,15	0,55
Cuivre (mg)	0,070	0,287
Mn (mg)	0,128	0,510
Se (µg)	0,2	0,6
Vitamine C (mg)	2	1,2
Thiamine (mg)	0,060	0,085
Riboflavine (mg)	0,05	0,082
Niacine (mg)	0,40	0,619
Vitamine B (mg)	60,113	60,106
Vitamine A IU	142	10
Vitamine E (mg)	0,11	0,35
Vitamine K (µg)	4,7	15,6

**Annexe II : Commerce mondial (Exportation et importation) de la figue sèche  
(FAOSTAT, 2011).**

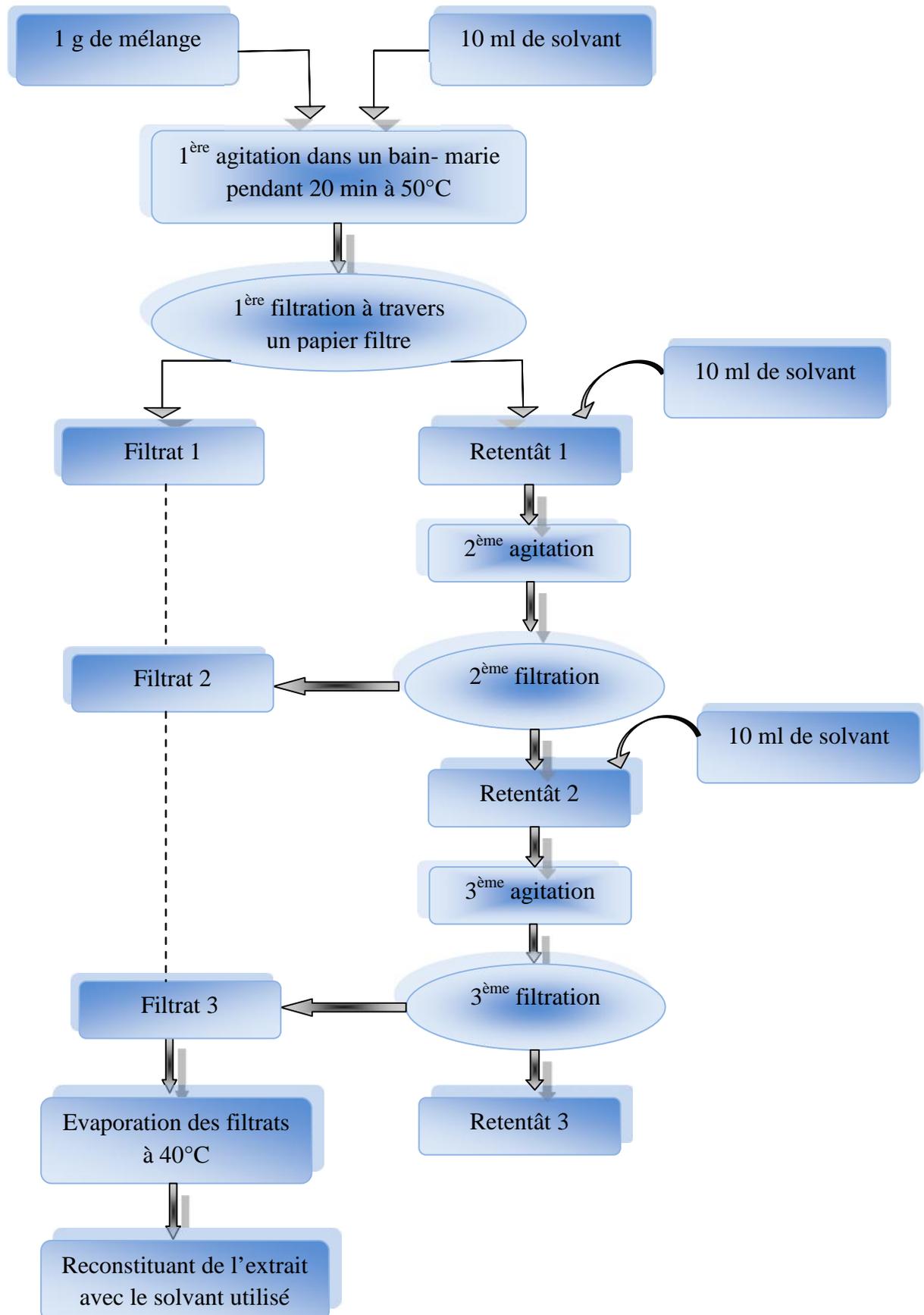
<b>Exportations</b>		<b>Importations</b>	
<b>Pays</b>	<b>Quantité(T)</b>	<b>Pays</b>	<b>Quantité(T)</b>
<b>Turquie</b>	58252	France	8553
<b>Etats-Unis</b>	5960	Allemagne	8290
<b>Iran</b>	5072	Etats-Unis	6147
<b>Espagne</b>	2699	Italie	4838
<b>Maroc</b>	2564	Inde	4561
<b>Pays-Bas</b>	1930	Mexique	3749
<b>Grèce</b>	1454	Suisse	2158
<b>France</b>	721	Canada	1748
<b>Mexique</b>	616	Japon	1130
<b>Total</b>	79268	<b>Total</b>	41174

**Annexe III : Commerce mondial (Exportation et importation) du miel (FAOSTAT, 2010).**

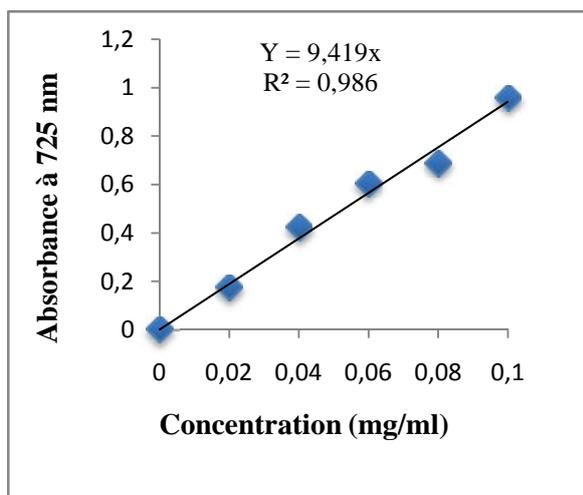
<b>Exportations</b>		<b>Importations</b>	
<b>Pays</b>	<b>Quantité(T)</b>	<b>Pays</b>	<b>Quantité(T)</b>
<b>Chine</b>	103716	Etats-Unis	114128
<b>Argentine</b>	57317	Allemagne	89548
<b>Mexique</b>	26512	Japon	39950
<b>Inde</b>	22649	France	25394
<b>Espagne</b>	21756	Belgique	22096
<b>Allemagne</b>	20527	Espagne	17712
<b>Brésil</b>	18629	Italie	14549
<b>Canada</b>	15145	Pays-Bas	10090
<b>Etats-Unis</b>	11004	Suisse	7893
<b>Total</b>	297255	<b>Total</b>	341360

**Annexe IV : Domaine de variation d'un facteur (Goupy, 2006).****Annexe V : Espace expérimental (Goupy et Creighton, 2006).****Annexe VI : Domaine d'étude (Goupy, 1999).**

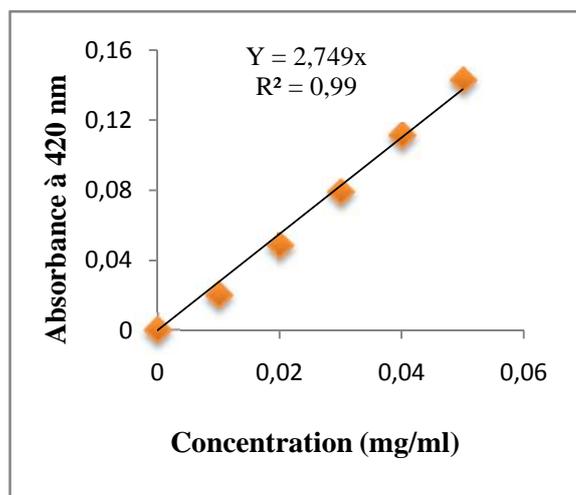
## Annexe VII : Schéma d'extraction des antioxydants



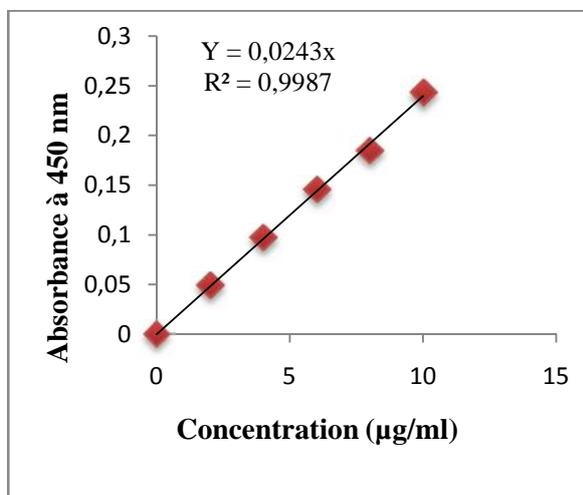
## Annexe VIII : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants.



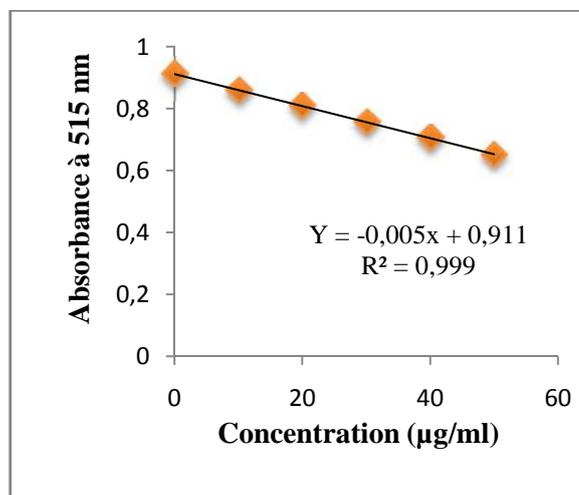
-Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en utilisant l'acide gallique.



-Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en utilisant la Quercétine.

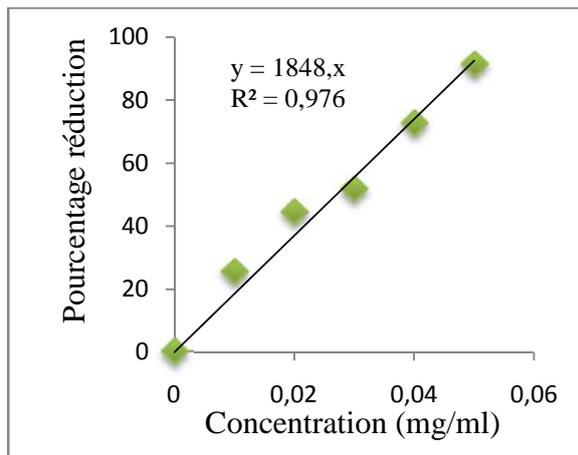


-Courbe d'étalonnage pour le dosage des caroténoïdes en utilisant la - carotène

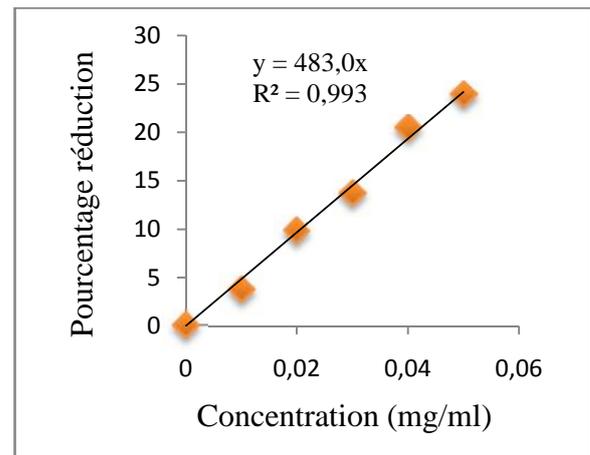


-Courbe d'étalonnage pour le dosage de la vitamine C en utilisant l'acide L-ascorbique.

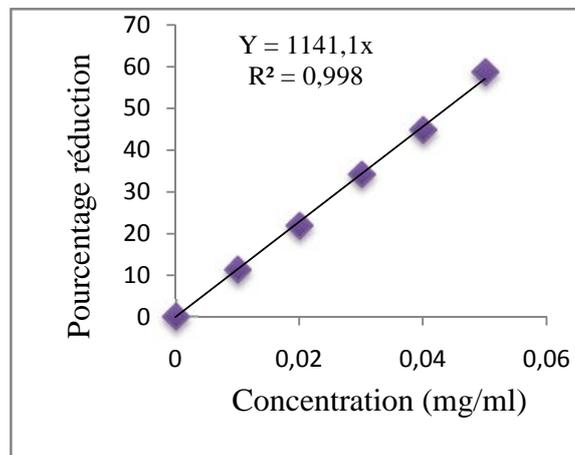
## Annexe IX : Evolution de l'activité antioxydante en fonction des standards.



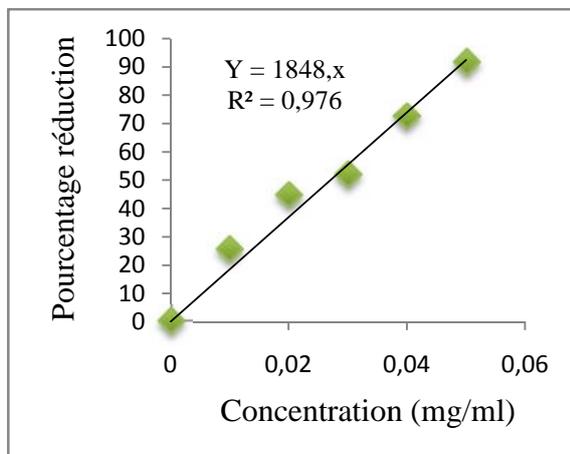
-Pourcentage de réduction de  $\text{FeCl}_3$  en fonction de la concentration en acide gallique.



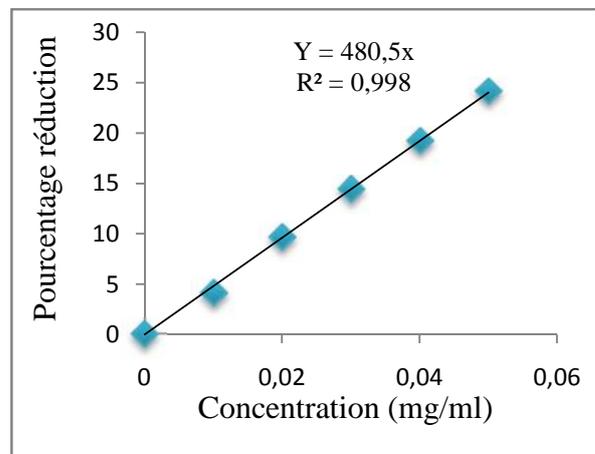
-Pourcentage de réduction de  $\text{FeCl}_3$  en fonction de la concentration en quercétine.



-Pourcentage de réduction de  $\text{FeCl}_3$  en fonction de la concentration en ac. Ascorbique.

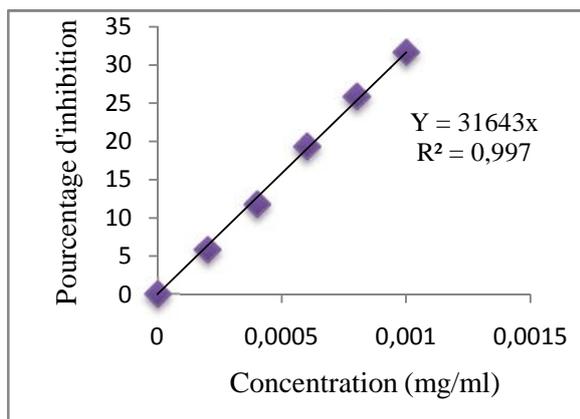


-Pourcentage de réduction du phosphomolybdate en fonction de la concentration en acide gallique.

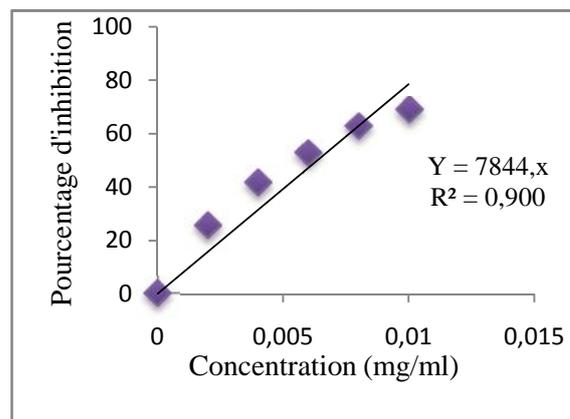


-Pourcentage de réduction du phosphomolybdate en fonction de la concentration en ac. Ascorbique.

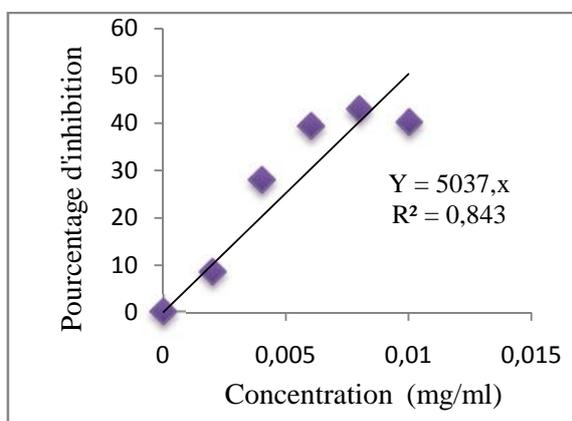
## Annexe X : Evolution de l'activité anti-radicalaire en fonction des standards.



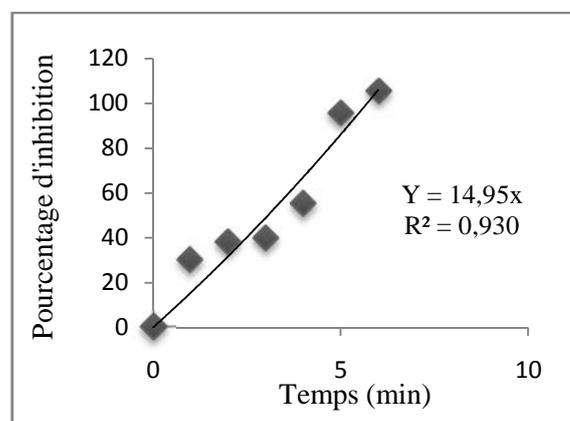
- Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> en fonction de la concentration en quercetine



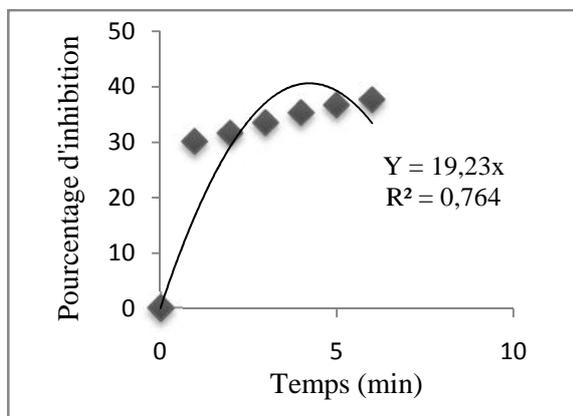
-Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> en fonction de la concentration d'acide gallique



-Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> en fonction de la concentration en acide ascorbique.

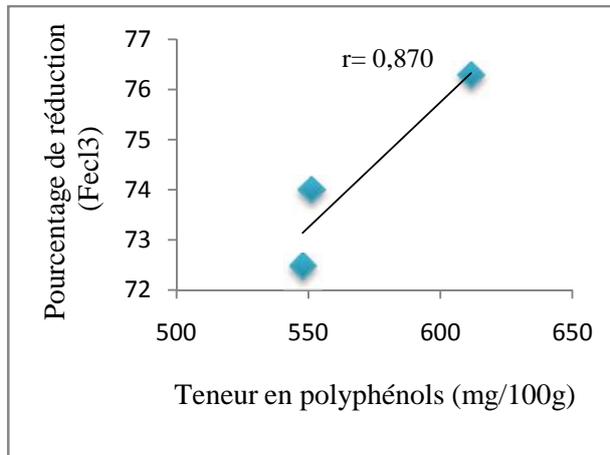


- Pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> en fonction de la concentration en acide ascorbique.

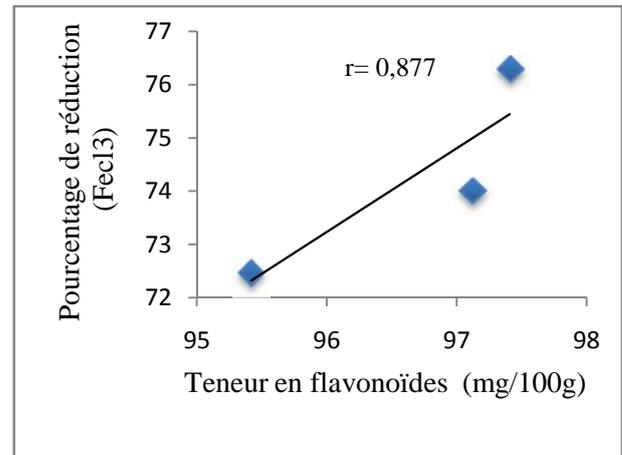


-Pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> en fonction de la concentration en acide gallique.

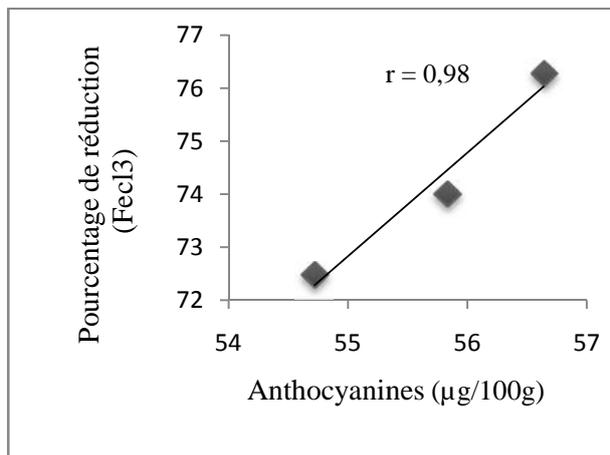
**Annexe XI** : Corrélations entre le pourcentage de réduction du  $\text{FeCl}_3$  et les teneurs en antioxydant dosés.



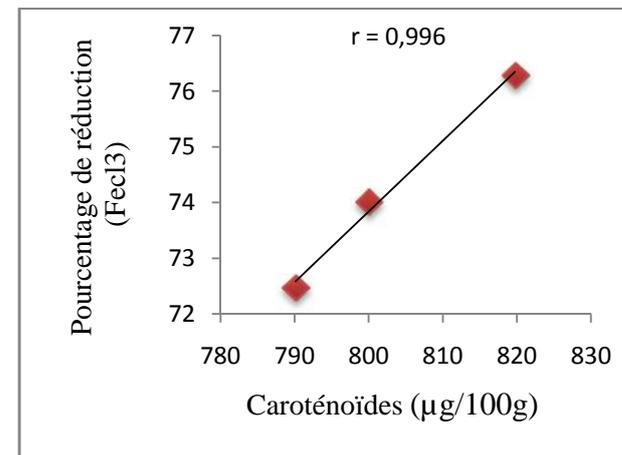
-Avec les polyphénols du mélange étudié.



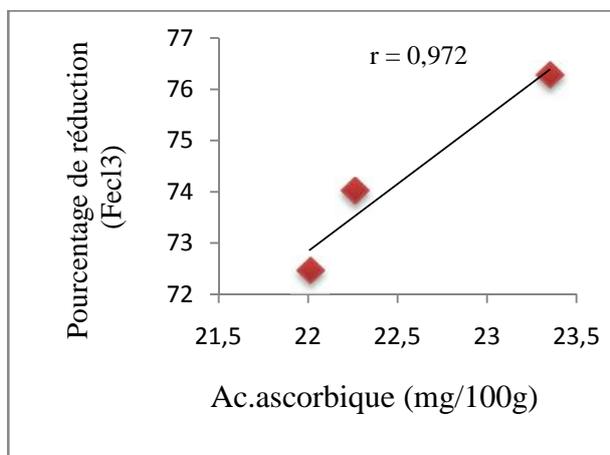
-Avec les flavonoïdes du mélange étudié.



- Avec les anthocyanines du mélange étudié.

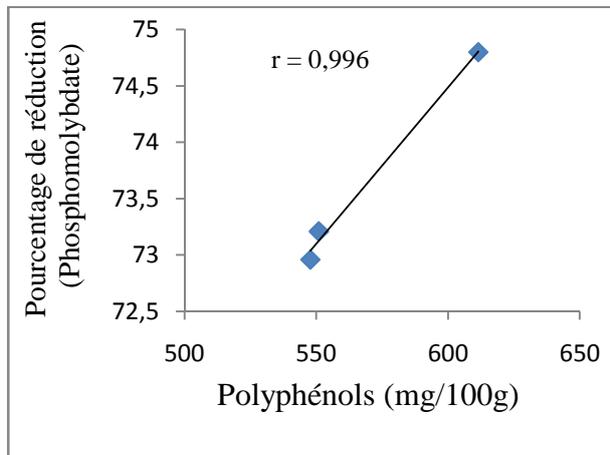


-Avec les caroténoïdes du mélange étudié.

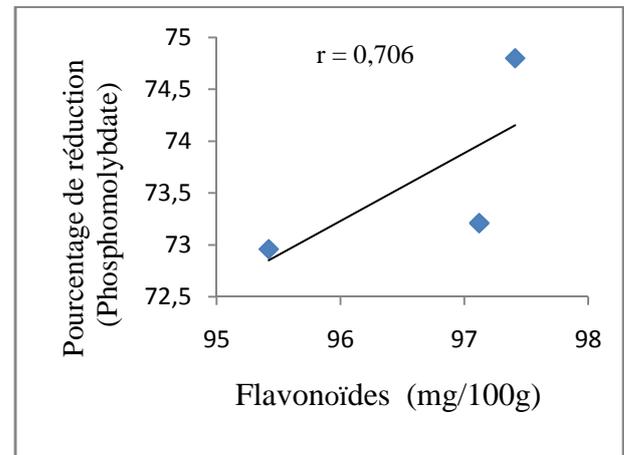


-Avec l'Ac. ascorbique du mélange étudié.

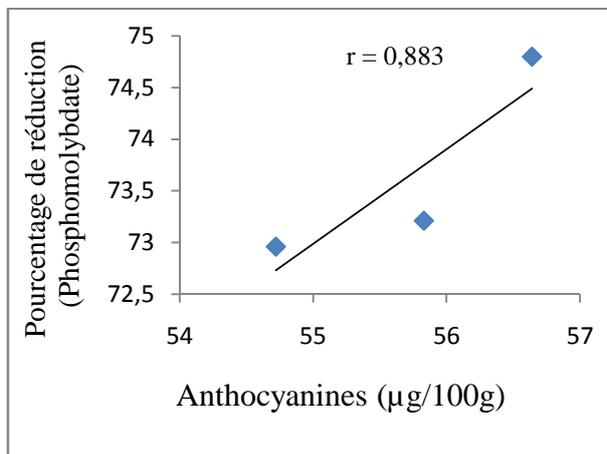
**Annexe XII:** Corrélations entre le pourcentage de réduction du phosphomolybdate et les teneurs en antioxydant dosé.



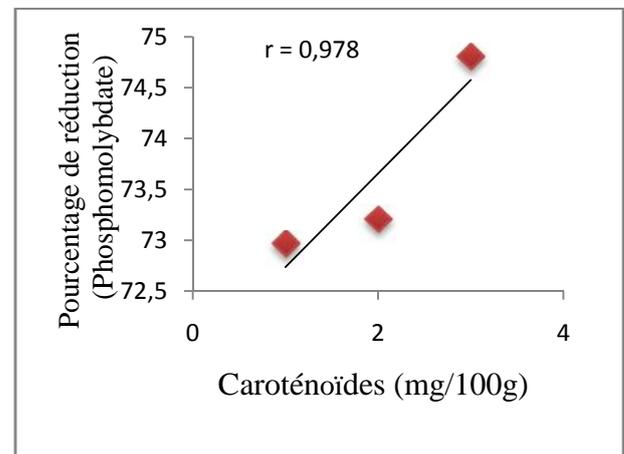
-Avec les polyphénols du mélange étudié.



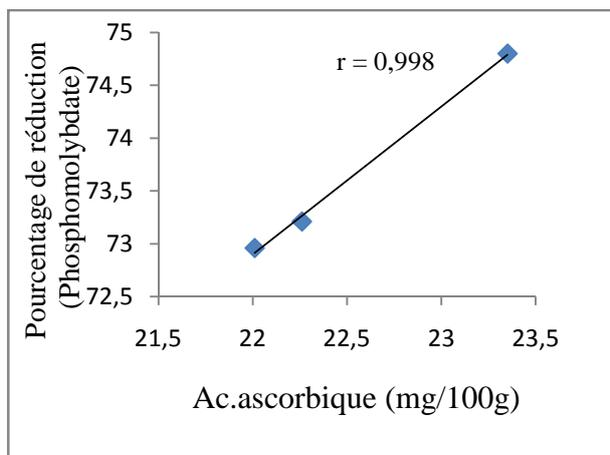
-Avec les flavonoïdes du mélange étudié.



-Avec les anthocyanines du mélange étudié.

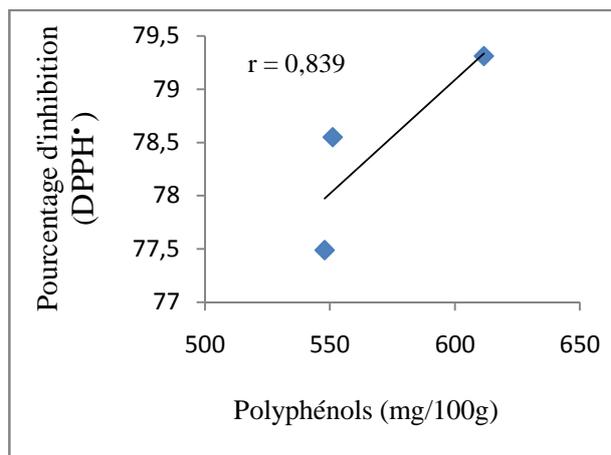


- Avec les caroténoïdes du mélange étudié.

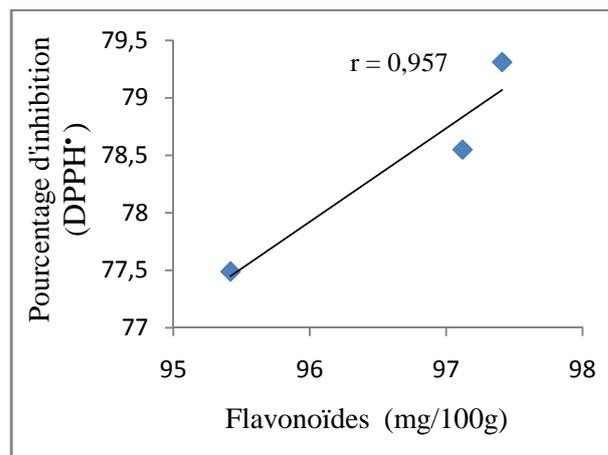


-Avec l'Ac.ascorbique du mélange étudié.

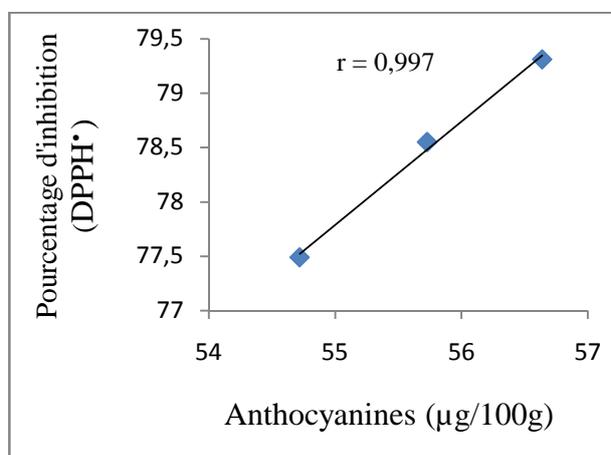
**Annexe XIII** : Corrélations entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>\*</sup> et les teneurs en antioxydant dosés.



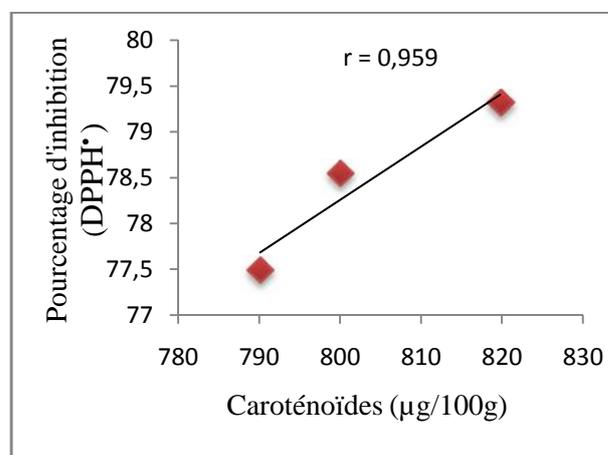
-Avec les polyphénols du mélange étudié.



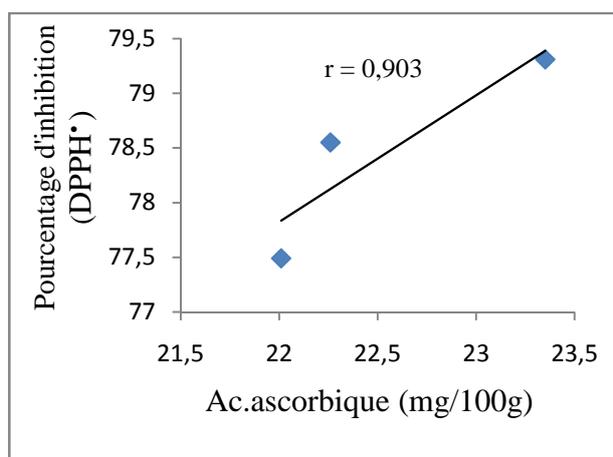
-Avec les flavonoïdes du mélange étudié.



-Avec les anthocyanines du mélange étudié.



-Avec les caroténoïdes du mélange étudié.



-Avec l'Ac. ascorbique du mélange étudié.

## Annexe XIV : Préparation de différentes solutions utilisées.

Solution	Réactifs
<b>Solution de carbonate de Sodium</b> <b>NaCO<sub>3</sub> (60g/l)</b>	6g de NaCO <sub>3</sub> 100 ml d'eau distillée
<b>Solution de chlorure d'aluminium</b> <b>AlCl<sub>3</sub> (2%)</b>	3,61 g de (AlCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O) 100 ml d'éthanol
<b>Tampon chlorure (pH=1 ; 0.025 M)</b>	0,186 g de KCl dans 100ml d'eau distillée 8,5 ml d'HCl dans 100ml d'eau distillée
<b>Acétate de sodium (0.4M)</b> <b>Acide acétique (1M)</b>	<b>Tampon acétate</b> (pH=4.5 ; 0,4M) 3,28g dans 100ml d'eau distillée 5,7ml dans 100ml d'eau distillée
<b>Sel de potassium (1M)</b>	5,611g dans 100ml d'eau distillée
<b>Tampon phosphate (0.2 M ; pH= 6.6)</b>	1,4199 g de Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> dans 50ml d'eau distillée 0,6 g de NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> dans 50ml d'eau distillée
<b>Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>,6H<sub>2</sub>O)</b> <b>PM= 270, 33 g/mol</b>	0.16 g de chlorure ferrique dans 100 mL d'eau distillée
<b>Acide sulfurique H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub></b> <b>Phosphate de sodium</b> <b>Molybdate d'ammonium</b>	<b>Réactif molybdique</b> 3,248 mL (0,6M , PM= 98,07 g/mol) 0,4368 g (28 mM , PM= 156,01 g/mol) 0,4943 g (4 mM , PM= 1235, 86 g/mol) Ajuster à 100 ml d'eau distillée
<b>Solution de DPPH'</b>	1,182 g de DPPH dans 50 ml de méthanol
<b>Solution d'ABTS ( C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>) à 7 mM</b>	-90 mg de la poudre d'ABTS dans 25ml d'eau distillée. - Persulfate de potassium à 2.45 mM. - Mélanger les deux solutions jusqu'à un volume totale de 50 ml. -Laisser la solution de 12 à 16heures à l'abri de la lumière avant son utilisation.

## Annexe XV : Matériels et réactifs utilisés.

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bain marie (MEMMERT)</li> <li>- Balance de précision (BP 310 P)</li> <li>- Broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic)</li> <li>- Centrifugeuse (PHYWE)</li> <li>- Etuve (BINDER, MEMMERT, BD53)</li> <li>- pH mètre (HANNA pH 210)</li> <li>- Plaque magnétique (PHYWE)</li> <li>- Spectrophotomètre UV-VIS (SHIMADZU 1240 MINI)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acétone pure</li> <li>- Acide acétique</li> <li>- Acide trichloracétique</li> <li>- Chlorure d'aluminium (<math>\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math>)</li> <li>- Carbonate de sodium</li> <li>- Chlorure ferrique (<math>\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math>)</li> <li>- DPPH</li> <li>- Ethanol pure</li> <li>- Méthanol pure</li> <li>- Ferrocyanure de potassium [<math>\text{K}_3\text{Fe}(\text{NC})_6</math>]</li> <li>- Superoxyde d'hydrogène <math>\text{H}_2\text{O}_2</math></li> <li>- HCl</li> <li>- Hexane</li> <li>- <math>\text{NaSO}_4</math></li> <li>- Sodium phosphate dibasic dehydrate <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>- Sodium dihydrogen phosphate <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>- Acide sulfurique pure (<math>\text{H}_2\text{SO}_4</math>)</li> <li>- Molybdate d'ammonium</li> <li>- KOH</li> <li>- Réactif de Folin-Ciocalteu</li> <li>- L'acide oxalique</li> <li>- DCPIP</li> <li>- persulfate de potassium</li> <li>- ABTS</li> <li>- Standards utilisés : acide gallique, quercétine, acide ascorbique et -carotène.</li> </ul>

## Annexe XVI : Propriétés et infections des souches utilisées.

Souches bactériennes	Quelques caractéristiques	Infections provoquées
<b>Famille :</b> Micrococaceae. <b>Genre :</b> Staphylococcus. <b>Espèce :</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .	Gram + , Forme coque, Chimioorganotrophe, Aérobie, Colonies rondes jaune sur milieu chapman, Catalase +, Coagulase+, Mannitol+.	Intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, etc
<b>Famille :</b> Enterobacteriaceae <b>Genre :</b> Escherichia. <b>Espèce :</b> <i>Escherichia coli</i> .	Gram-,Forme bacille, Aéro-anaérobie, colonie à reflet métallique, cultivé sur milieu EMB, Lactose+,Citrate,Mannitol+ ,Indole+ ,Mobile .	Indicateur de contamination fécale, infection urinaire, diarrhées, etc
<b>Famille :</b> Bacillaceae. <b>Genre :</b> Bacillus. <b>Espèce :</b> <i>Bacillus cereus</i> .	Gram +, généralement mobile bacille ; aérobie stricte ou anaérobie facultative, catalase+	Fièvre typhoïde,toxi- infections alimentaires, gastro-entérites, etc

## **Résumé**

---

Les conditions optimales d'extraction des composés phénoliques totaux à partir du mélange Figue sèche-miel dans la présente étude ont été déterminées en utilisant la méthodologie de surface de réponse développée par le plan de mélange. Le modèle expérimentale a été employé pour étudier les effets de trois variables dépendantes telles que la proportion de la figue noire (30 à 35%), la proportion de la figue verte (30 à 40%) et la proportion de miel (25 à 40%). La teneur en composés phénoliques des extraits a été choisie comme réponse.

La proportion optimale permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols estimé à 570,124 mg EAG/100g de produit qui était en accord avec la valeur prévue par le modèle est obtenue en mélangeant ; 0,350 g de la figue noire, de 0,344 g de la figue verte et 0,306 g de miel. Une quantification des antioxydants (polyphénols, flavonoïdes, anthocyanines, caroténoïdes et vitamine C) et une évaluation des activités antioxydantes (réduction du FeCl<sub>3</sub>, phosphomolybdate), anti-radicalaire (DPPH<sup>•</sup>, l'ABTS<sup>•+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), et antibactérienne *vis-à-vis* trois souches à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* du mélange étudié sont effectués.

**Mots clés :** Optimisation, méthodologie de surface de réponse, plan de mélange, extraction, figue, miel, antioxydants, composés phénoliques.

## **Abstract**

---

The optimum extraction conditions for total phenolic compounds from the mixture dried figs-honey in the present study were determined by using response surface methodology in conjunction with mixture design. The experimental model was used to investigate the effects of three dependent variables such as proportion of black fig (30 to 35%), proportion of green fig (30 to 40%) and proportion of honey (25 to 40%). As a response total phenolic compound content of the extracts were chosen.

The optimal proportion allowing a maximization of the extraction of polyphenols estimated at 570,124 Mg EAG/100g of product which was in agreement with the predicted value by the model is obtained while mixing; 0,350g of black fig, 0,344g of green fig and 0,306g of honey.

The antioxidant quantification (polyphenols, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and the ascorbic acid) of the studied mixture and its antioxidant (FeCl<sub>3</sub> reduction and phosphomolybdenum), antiradicalair (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radicals), and antibacterial activities against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* were determined

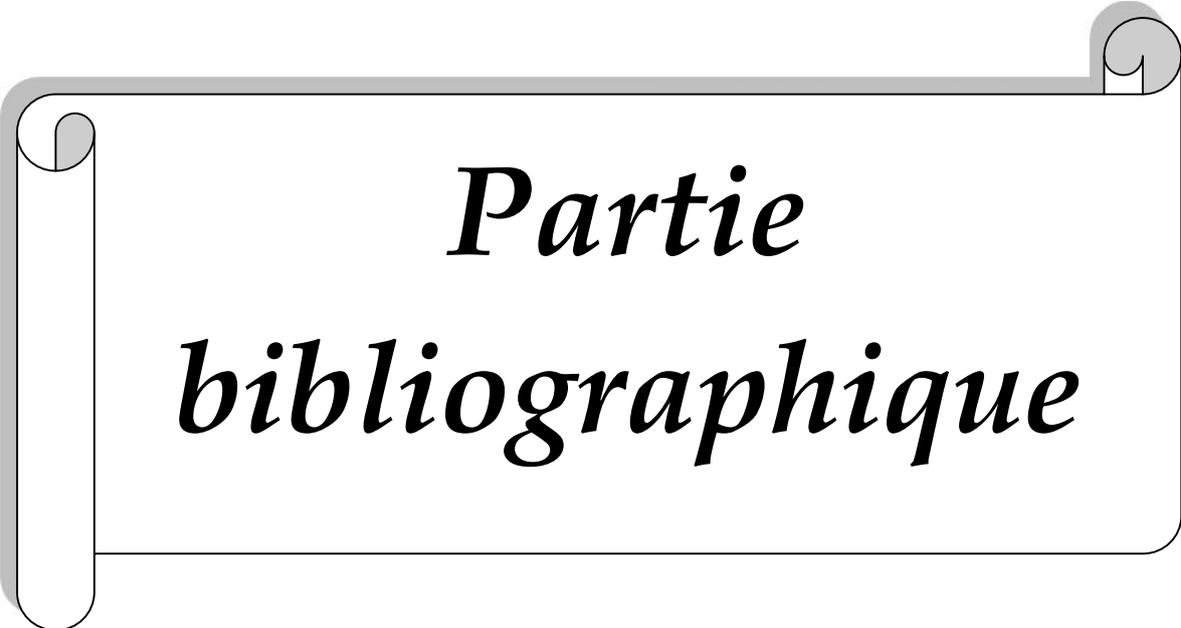
**Keywords:** Optimization, response surface methodology, mixture design, extraction, figs, honey, antioxydants, phenolic compounds



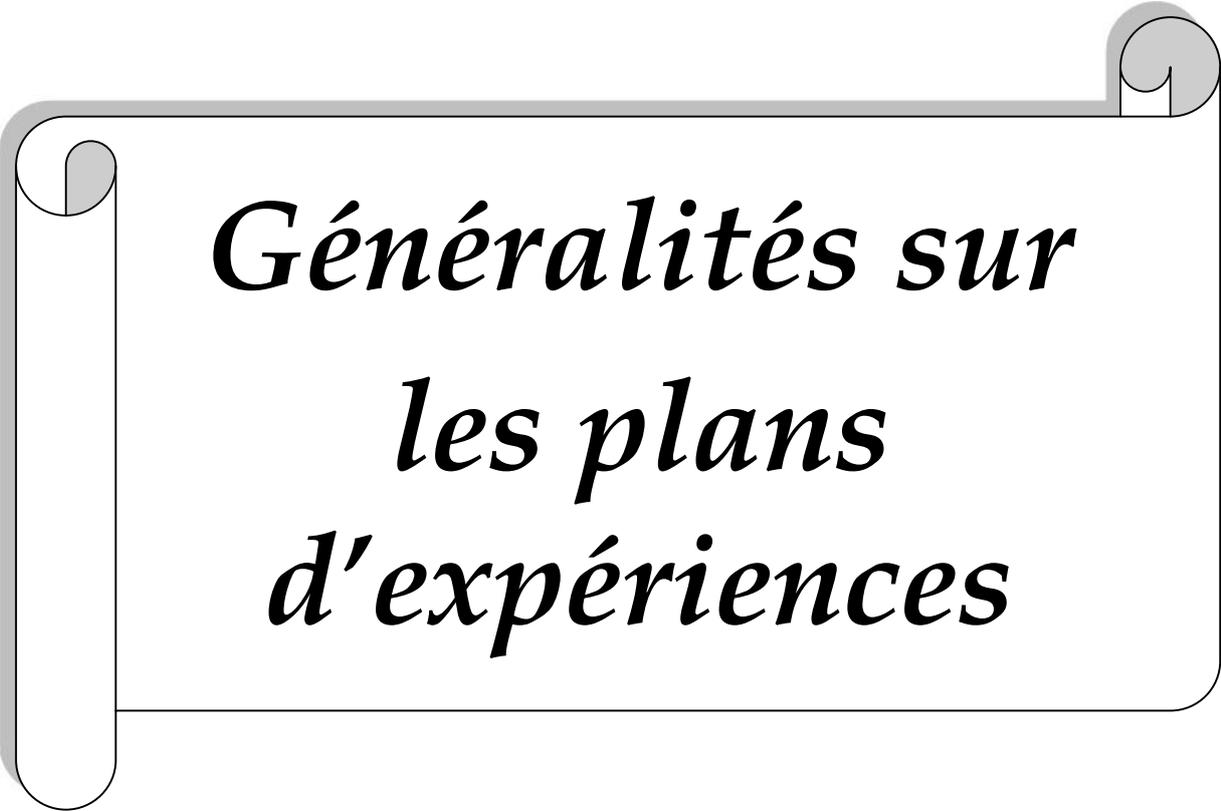
# *Sommaire*



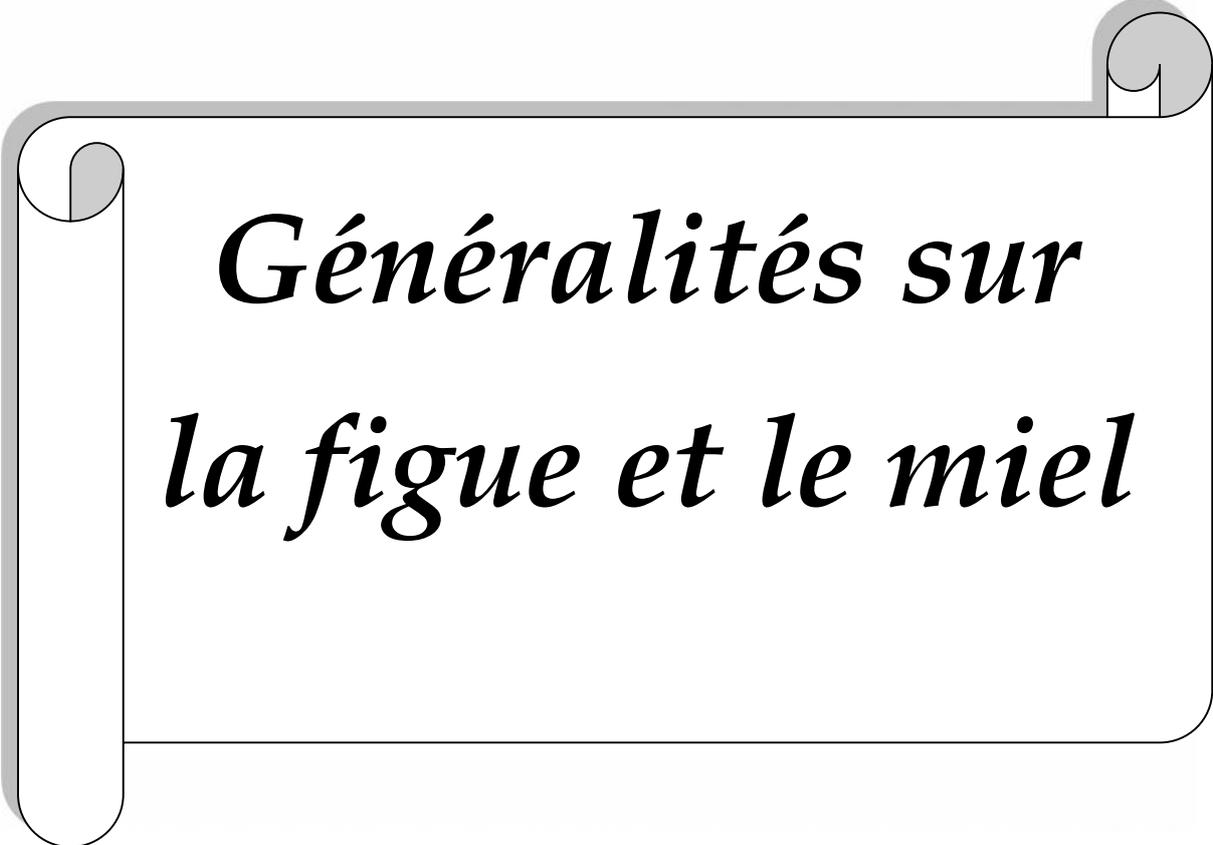
# *Introduction*



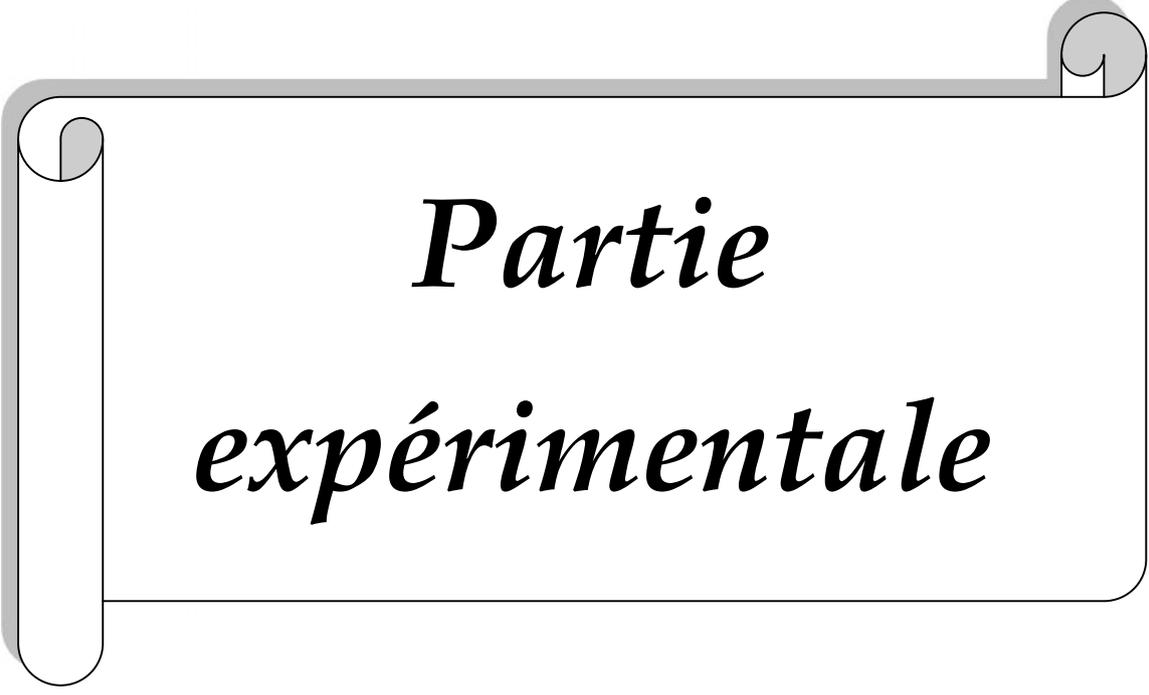
*Partie  
bibliographique*



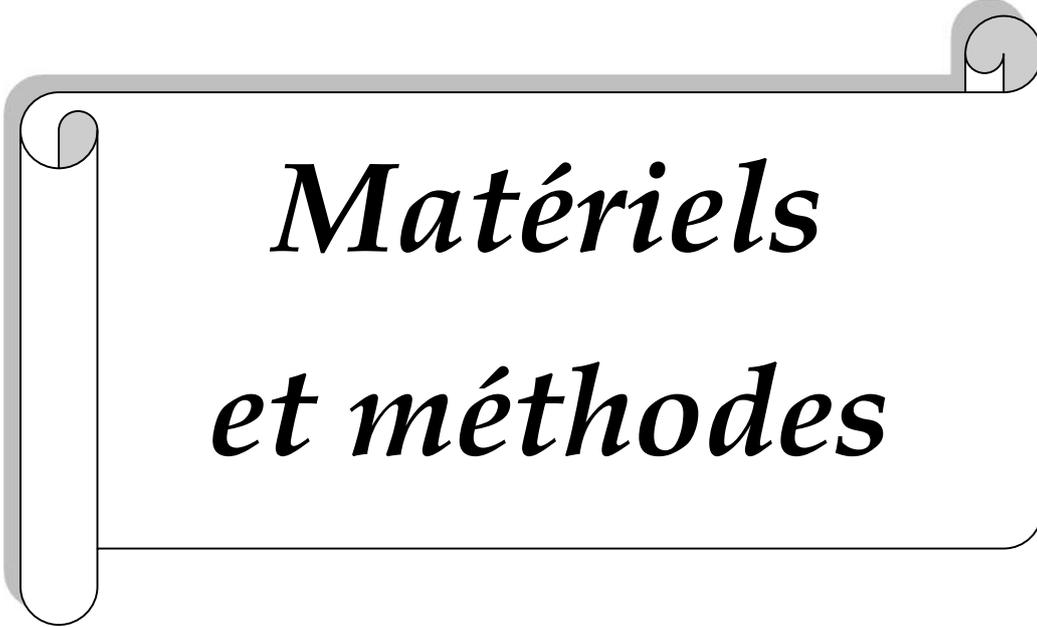
*Généralités sur  
les plans  
d'expériences*



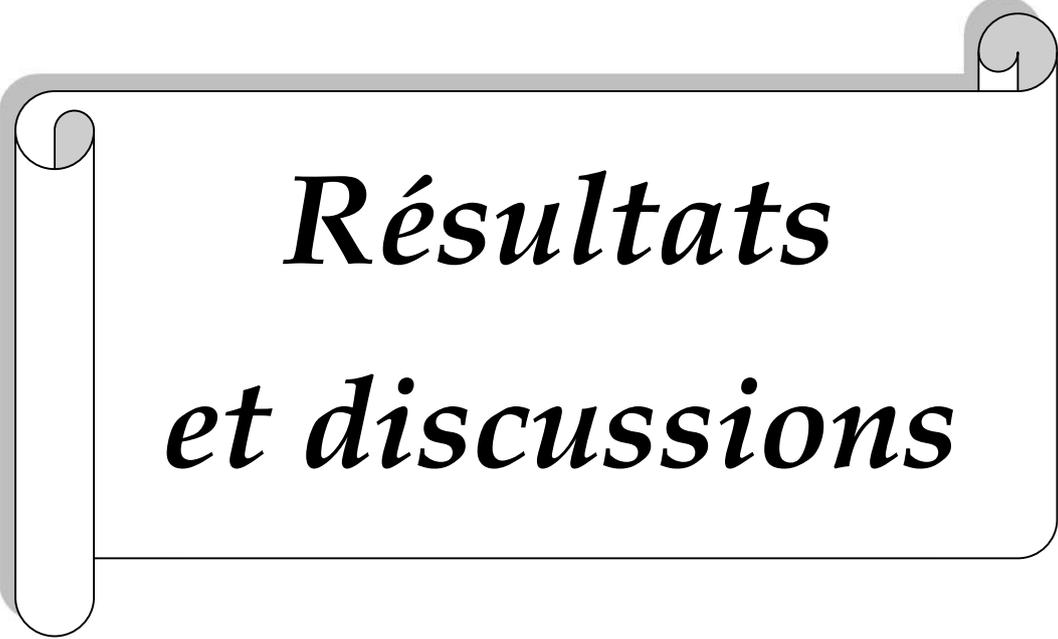
*Généralités sur  
la figue et le miel*



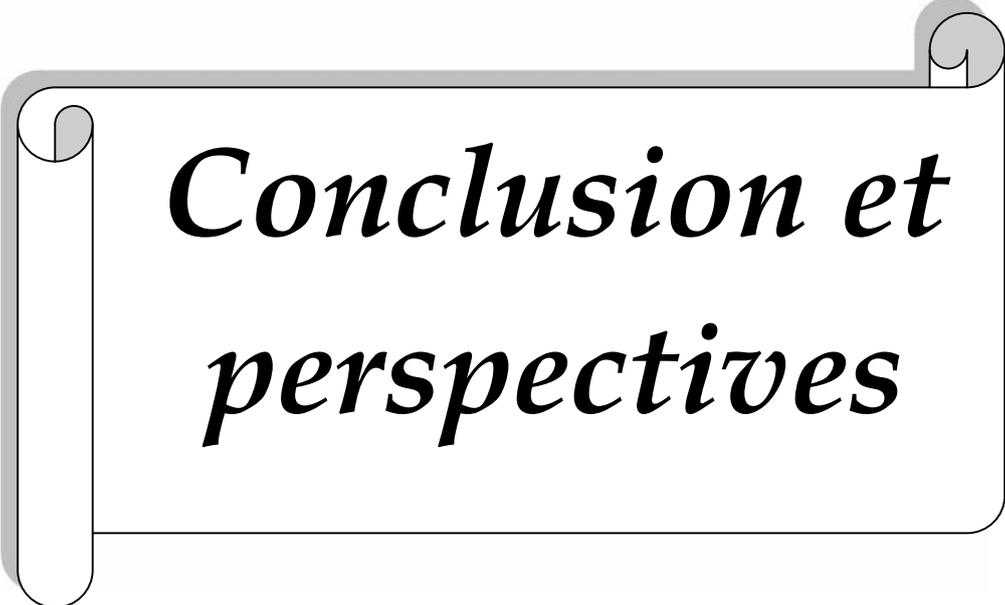
*Partie  
expérimentale*



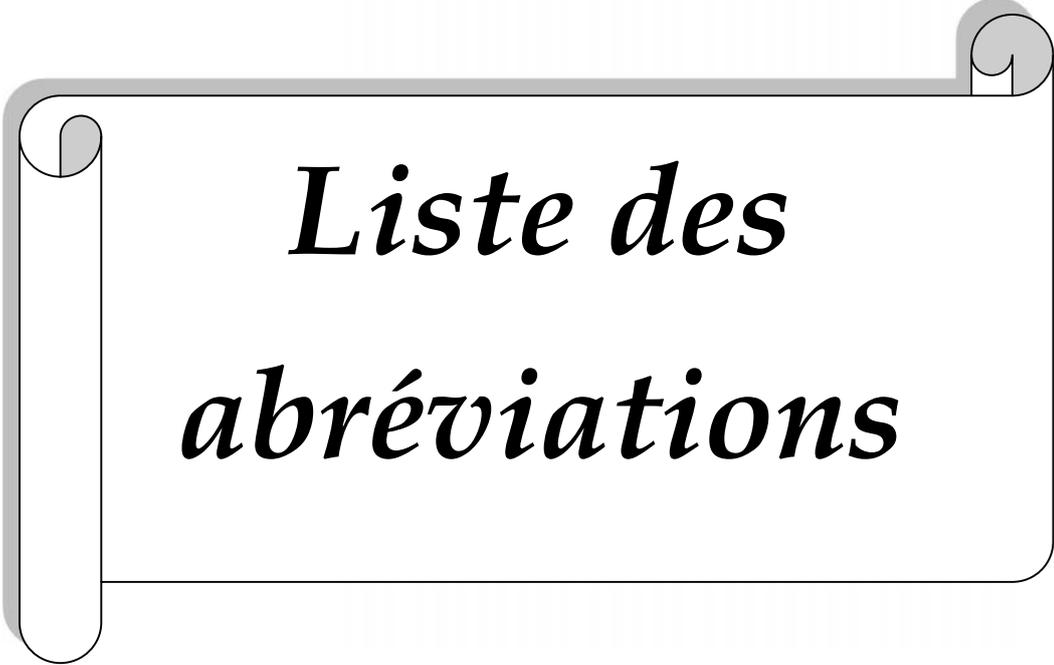
*Matériels  
et méthodes*



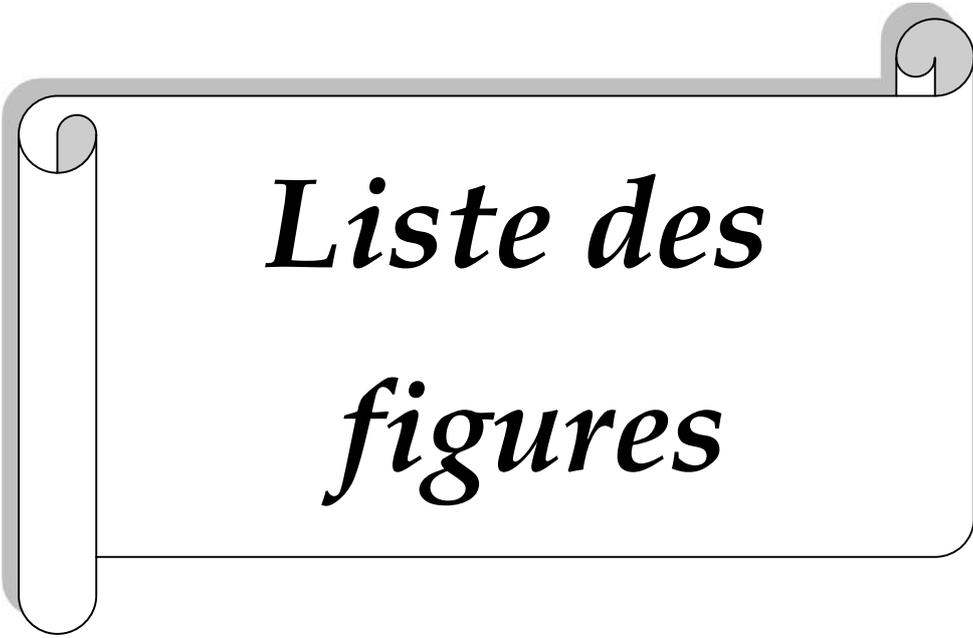
*Résultats  
et discussions*



*Conclusion et  
perspectives*



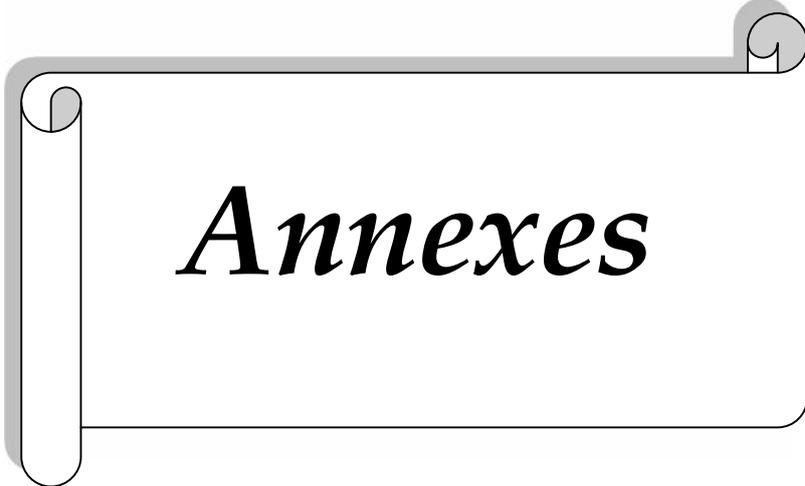
*Liste des  
abréviations*



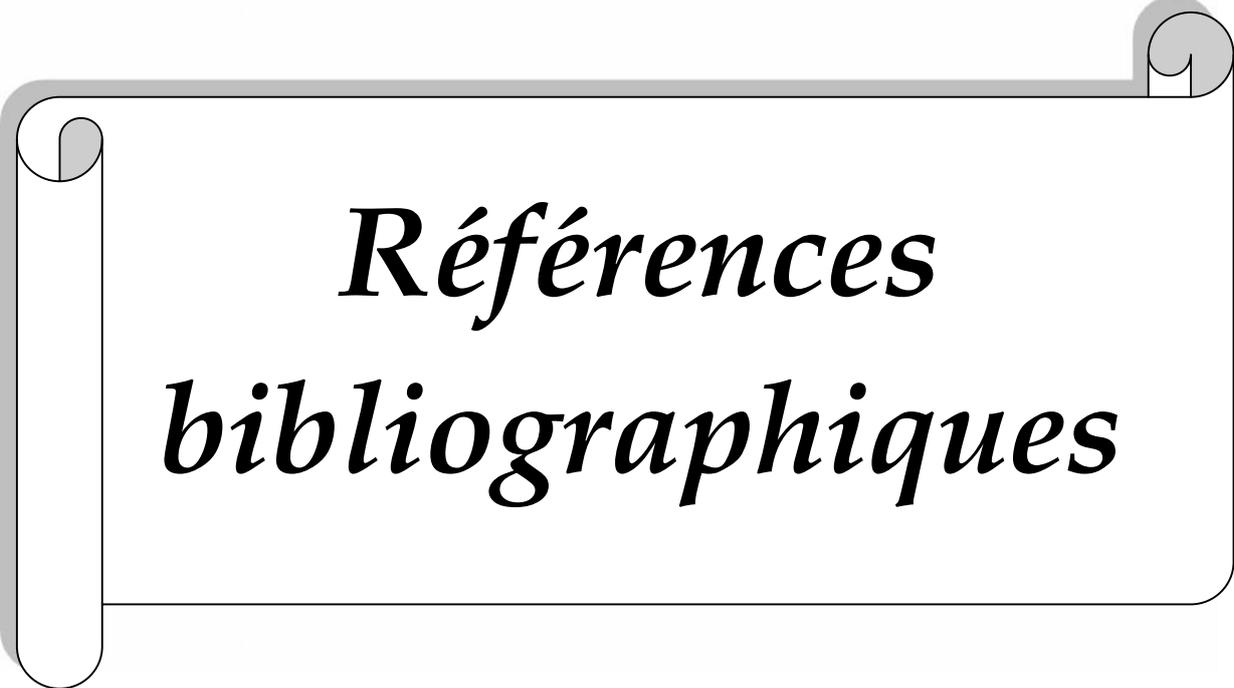
*Liste des  
figures*



*Liste des  
tableaux*



***Annexes***



*Références  
bibliographiques*