

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

Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie physico-chimique  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie Fondamentale



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Analyse de quelques miels et essai de formulation  
d'une pommade additionnée de miel et d'huile de  
graines de citrouille**

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> AOULAK Sarah**

Soutenu le : 03 / 07 / 2025 à 10h30

**Devant le jury composé de :**

<b>M<sup>me</sup> SEBAIHI-HARZOUN S.</b>	<b>MCB</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>r</sup> OUCHEMOUKH S.</b>	<b>Professeur</b>	<b>Encadreur</b>
<b>M<sup>me</sup> DAHDOUH-AKSAS A.</b>	<b>MCB</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>lle</sup> GUENAOUIN.</b>	<b>Docteur</b>	<b>Invitée</b>

**Année universitaire : 2024/ 2025**

# **Remerciements**

# Remerciements

*Je commence ces remerciements en exprimant ma gratitude à Dieu source de toute réussite de m'avoir accompagné de sa grâce au long de ce chemin.*

*Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements à mon promoteur **Mr OUCHEMOUKH S.** pour sa bienveillance, son accompagnement constant et son orientation tout au long de ce travail. Ses encouragements et son regard motivant m'ont toujours poussées à donner le meilleur de moi-même. Sa gentillesse et ses précieux conseils ont fait de cette expérience une aventure scientifique riche et pleine d'apprentissage.*

*Mes vifs remerciements vont également à ma co-promotrice **Mme GUENAOUI N.** pour sa présence quotidienne à mes côtés, sa patience et sa générosité dans le partage du savoir, qui ont grandement contribué à la structuration et l'aboutissement de ce travail.*

*Je remercie chaleureusement les membres du jury institutionnel **Mme SEBAIHI-HARZOUNE S.** présidente du jury et **Mme DAHDOUH-AKSAS A.** examinatrice pour leur disponibilité et pour l'attention et le temps consacré à l'évaluation de ce travail.*

*Ma gratitude va également à **Mme AMESSIS-OUCHEMOUKH N.** pour l'enrichissement scientifique qu'elle a bien voulu transmettre.*

*Merci à la doctorante **Melle SALHI R.** pour sa présence initiale appréciée.*

*Ma reconnaissance va également à toute l'équipe du laboratoire de (Biologie Physico-chimique 1 et Biochimie Alimentaire) notamment la techniciennes **Mme NIGRO L.** la doctorante **Mlle DJOUDI L.** ainsi que les collègues de paillasse, merci pour vos gestes simples, vos outils partagés ainsi qu'aux beaux souvenirs.*

*Je remercie aussi de tout cœur ma famille pour leur présence sans conditions, leur encouragement et confiance profonde, qui ont été des repères dans les moments où la fatigue éloignait la destination.*

*Une pensée reconnaissante que j'exprime pour le groupe scout **Cherif Tekamera** auquel j'ai l'honneur de faire partie. Merci pour l'accompagnement et l'encouragement continue pour progresser.*

*J'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la bonne réalisation de ce travail.*

# **Dédicaces**

# **Dédicaces**

*Il m'est précieux de dédier ce travail*

***A mes chers parents***

*Qui ont su me guider sans imposer, m'aimer sans condition et qui ont tant sacrifié sans jamais compter. Que cet accomplissement vous apporte la fierté que vous méritez.*

*A celles qui ont partagé mes silences et célébré mes élans, mes chères sœurs :*

***Kahina, Drifa et Lynda***

*A mes beaux-frères : Abd El Halim et Mohammed Ouali*

*Ainsi que leurs petits enfants : Leticia, Abd Raouf, Abd El Jalil, Aya, Aris et Anes*

*Merci d'être toujours là à mes côtés et de ne me jamais lâcher la main.*

***A ma famille scout « Cherif Tekamera » qui m'a accompagné depuis mon enfance.***

*A l'ensemble de la famille AOULAK*

***A tous les enseignants qui ont contribué dans ma formation depuis son début.***

*Je souhaite adresser mes remerciements à toute la promotion de*

***Biochimie fondamentale 2024/2025***

## Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

### Partie I : Etude bibliographique

#### Chapitre I Miel : Définition, composition et propriétés biologiques

I. Définition ..... 2

II. Origine types .....2

II.1. Miel de nectar .....2

II.2. Miel de miellat.....2

II.3. Miels monofloraux..... 3

II.4. Miels polyfloraux .....3

III. Composition chimique.....3

III.1. Substances nutritives..... 3

III.2. Constituants phénoliques.....4

IV. Propriétés du miel..... 4

IV.1. Propriétés physico-chimiques..... 4

IV.2. Propriétés biologiques.....5

IV.2.1. Propriétés antioxydantes ..... 5

IV.2.2. Propriétés anti-inflammatoires..... 6

IV.2.3. Propriétés antimicrobiennes ..... 6

#### Chapitre II Graines de la citrouille : Définition, composition et propriétés biologiques

I. Définition ..... 7

II. Composition chimique ..... 7

III. Propriétés biologiques..... 8

### Partie II : Partie expérimentale

#### Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Echantillons ..... 10

I.1. Miels ..... 10

I.2. Graines de la citrouille..... 10

I.2.1. Extraction de l'huile des graines de la citrouille.....10

II. Profils polliniques .....11

III. Analyses physico-chimiques.....11

III.1. Brix et humidité .....11

III.2. Intensité de couleur (L*a*b*) .....	11
III.3. pH.....	11
III.4. Dosage de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) .....	12
III.5. Dosage de la proline.....	12
<b>IV. Dosage des antioxydants .....</b>	<b>12</b>
IV.1. Extraction des composés phénoliques de l'huile .....	12
IV.2. Dosage des polyphénols .....	13
IV.3. Dosage des flavonoïdes .....	13
<b>V. Propriétés Biologiques .....</b>	<b>13</b>
V.1. Activités antioxydantes .....	13
V.1.1. Pouvoir scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) .....	13
V.1.2. Pouvoir chélateur de fer (ferrozine) .....	13
V. 2. Activité anti-inflammatoire in vitro .....	14
V.2.1. Détermination de la dénaturation de l'albumine .....	14
V.2.2. Activité d'inhibition des protéinases .....	14
<b>VI. Elaboration des pommades .....</b>	<b>15</b>
VI.1. Analyses physico-chimiques .....	16
VI.2. Dosage des antioxydants .....	16
VI.3. Activités biologique.....	16
VI.3.1. Détermination de la charge microbienne.....	16
VI.4. Test de stabilité oxydative.....	16
VI.4.1. Indice de peroxyde.....	17
VI.4.2. Test des diènes et triènes conjuguées (test d'UV) .....	17
VI.4.3. Test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	17
VI.5. Analyses sensorielles.....	18
VII. Analyses statistiques.....	18

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

<b>I. Profil pollinique .....</b>	<b>19</b>
<b>II. Paramètres physico-chimiques .....</b>	<b>21</b>
II.1. Humidité.....	21
II.2. Brix .....	22
II.3. Intensité de couleur L* a* b* .....	22
II.4. pH.....	23
II.5. HMF.....	24
II.6. Teneur en proline .....	25

<b>III. Teneur en antioxydants .....</b>	<b>26</b>
<b>IV. Activités biologiques.....</b>	<b>27</b>
IV.1. Activités antioxydantes.....	27
IV.1.1. Pouvoir anti-radicalaire de DPPH.....	27
IV.1.2. Pouvoir chélateur de fer (Ferrozine).....	28
IV.2. Activité anti-inflammatoire in vitro.....	29
IV.2.1. Inhibition de la dénaturation de la BSA .....	29
IV.2.2. Activité inhibitrice des protéases.....	31
IV.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FMAT) .....	32
<b>V. Stabilité oxydative.....</b>	<b>32</b>
V.1. Indice de peroxyde (IP).....	32
V.2. Détermination des diènes et triènes conjuguées.....	33
V.3. Test TBARS .....	34
VI. Evaluation sensorielle.....	35
VI.1. Cartographie des préférences interne .....	36
VI.2. Cartographie des préférences externes (PREFMAP).....	37
VII. Analyse des composantes principale (ACP) .....	38
<b>Conclusion .....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>41</b>

## **Annexes**

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photographie des pommades élaborées et commerciale.	15
2	Humidité des miels et pommades analysés.	21
3	Brix des miels analysés.	22
4	Couleur L*a*b* des miels et des pommades analysés	23
5	pH des miels, des pommades et d'huile analysés.	24
6	Teneur en HMF des miels analysés.	25
7	Teneur en proline des miels analysés.	25
8	Teneur en polyphénol et en flavonoïde des miels, des pommades et d'huile analysés.	26
9	Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels, des pommades et d'huile analysés.	27
10	Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés exprimé en IC <sub>50</sub> .	28
11	Pouvoir chélateur de fer des miels, des pommades et d'huile analysés.	29
12	Pouvoir inhibiteur de la dénaturation de la BSA des miels, de l'huile, des pommades et de l'aspirine exprimé en %.	30
13	Pouvoir inhibiteur des protéases des miels, de l'huile, des pommades et de l'aspirine exprimé en %	31
14	Indice de peroxyde de l'huile et des pommades à t <sub>0</sub> et t <sub>30</sub> .	33
15	Valeurs de MDA des pommades et d'huile analysés.	35
16	ACP des pommades.	36
17	Cartographie des préférences externes (PREFMAP).	37
18	ACP des paramètres physicochimiques, teneurs en antioxydant et activités biologiques des miels, pommades et huile.	39

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Teneurs approximatives des composantes des graines de la citrouille	7
II	Caractéristiques et origine des miels analysés	10
III	Différents ingrédients utilisés dans l'élaboration des pommades.	15
IV	Profils polliniques des miels de Bejaia.	20
V	Suivi des diènes et triènes conjuguées des pommades et d'huile à t <sub>0</sub> et t <sub>30</sub> .	34

## Liste des abréviations

**HMF** : Hydroxyméthylfurfural

**DPPH** : 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle

**MGO** : Méthylglyoxal

**MDA** : Malondialdéhyde

**MAP** : Microtubule-associated Protéines

**EAG** : Equivalent Acide Gallique

**EQ** : Equivalent Quercétine

**TCA** : Trichloroacetic Acid

**TBA**: Thiobarbuturic Acid

**TBARS**: Thiobarbituric Acid Reactive Substances

**IP** : Indice de peroxide

**pH** : Potentiel Hydrogène

**MPa** : Mégapascal

**FMAT** : Flore Mésophile Aérobie Totale

**PCA**: Plate Count Agar

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**ANOVA**: Analysis of One Variance

**ACP**: Analyses en Composantes Principales

**CETAM**: Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle

**FDA** : Food and Drug Administration

**USP** : United State Pharmaceutic

**UFC** : Unité Formant colonie

# **Introduction**

## Introduction

Depuis des millénaires, les produits naturels occupent une place centrale dans les pratiques médicales traditionnelles à travers le monde (**Bonté et al., 2011**). À l'ère où la recherche scientifique s'oriente vers des approches plus durables et biocompatibles, le potentiel thérapeutique d'ingrédients issus de la nature tels que le miel et les huiles végétales, principalement extraites de graines souvent considérées comme déchets industriels, suscite un regain d'intérêt pour leur valeur biologique qui continue d'être prouvé par des travaux scientifiques (**Singh et Kumar, 2023**). Parmi ces produits, le miel qui se distingue par ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, étroitement liées à sa richesse en composés phénoliques, enzymes et acides organiques. Cependant, ses caractéristiques physico-chimiques et biologiques varient selon les origine florale et géographique (**Ouchemoukh et al., 2017 ; Otmani et al., 2021**). La courge (*Cucurbita pepo*) est une plante herbacée largement cultivée, dont les graines, souvent considérées comme un sous- produit agricole. Ils sont riches en lipides, protéines, minéraux et composés bioactifs (**Singh et Kumar, 2023 ; Gavril et al., 2024**). Leur huile constitue notamment une source précieuse de bêta- sitostérol, reconnu pour ses effets anti-inflammatoires, cicatrisants et protecteurs cutanés (**Vorobyova et al., 2014**).

Actuellement, plusieurs travaux sont publiés sur le miel et l'huile des graines de citrouille concernant leurs compositions, leurs caractérisations et leurs propriétés biologiques mais à notre connaissance aucune recherche n'est menée sur l'incorporation de mélange de miel et de l'huile des graines de citrouille dans une pommade à usage médicale (dermatologique). C'est pour cela que cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité *in vitro* d'une formulation de pommade à base de miel et d'huile des graines de citrouille, tout en réalisant une série d'analyses des paramètres physico- chimiques, des dosages des composés phénoliques, des activités antioxydante et anti-inflammatoire ainsi que la détermination de la charge microbienne. De plus, une analyse sensorielle des pommades élaborées est évaluée par un jury expert.

Pour cela, la présente étude est divisée en trois parties :

- Une synthèse bibliographique sur le miel et l'huile de graine de citrouille (*Cucurbita pepo*).
- Une section matériel et méthode décrivant les différents paramètres analysés sur les miels, l'huile de graines de citrouille et les pommades élaborées.
- Une partie résultats et discussion qui présente les différents résultats obtenus dans la partie expérimentale.

**Partie I :**  
**Synthèse**  
**bibliographique**

## Chapitre I Miel : Définition, composition et propriétés biologiques

### I. Définition

Le miel constitue le produit central de la filière apicole, obtenu à partir de diverses sources florales. Il est reconnu comme un aliment sucré naturel, agréable au goût et utilisé comme édulcorant. Apprécié depuis l'Antiquité, il est valorisé pour ses qualités nutritionnelles et ses effets bénéfiques sur la santé humaine. D'après le **Codex Alimentarius (2001)** et la **Commission Européenne (2002)**, le miel est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles *Apis mellifera*. Celles-ci recueillent le nectar ou les sécrétions des plantes, ou encore les excréments d'insectes suceurs présentes sur ces plantes, puis les transforment en les mélangeant à leurs propres substances, les déposent dans les rayons, les déshydratent et les laissent mûrir. Hormis le miel filtré, aucun élément naturel tel que le pollen ne doit être retiré du produit final.

### II. Origine et types

Selon les sources butinées, les miels sont subdivisés en deux origines :

#### II.1. Miel de nectar

Le nectar est un liquide sucré produit par des glandes spécialisées appelées nectaires, situées sur différentes parties des plantes. Ces nectaires peuvent être floraux (dans les fleurs) ou extrafloraux (sur les tiges et les feuilles). Le nectar butiné par les abeilles donne au miel ses caractéristiques uniques comme la couleur, le parfum, les pigments et les grains de pollen. Le miel est principalement composé de glucides, en particulier du fructose, glucose et saccharose. Il contient aussi de l'eau, des enzymes et des protéines. Il y a également des acides aminés, des acides organiques, des composés aromatiques et des éléments minéraux (**Bogdanov et al., 2004 ; Diez et al., 2004**).

#### II.2. Miel de miellat

Le miellat est une substance sucrée produite par des insectes homoptères tels que les pucerons, psylles, cochenilles et cigales. Ces insectes se nourrissent de la sève des plantes qu'ils transforment en miellat dans leur tube digestif avant de l'excréter. Les arbres forestiers comme le sapin, le chêne ou le pin sont les hôtes les plus courants de ces insectes. En période de sécheresse, certaines plantes peuvent aussi émettre du miellat par les stomates des feuilles. La présence de mélézitose, un sucre formé chez ces insectes, permet d'identifier les miels de miellat, surtout si sa teneur dépasse 0,5 g/100 g.

Les abeilles récoltent ce miellat en le léchant sur les végétaux entre la fin du printemps et l'été (Hoyet, 2005 ; Rossant, 2011).

Selon son origine, il existe deux types de miel :

### II.3. Miels monofloraux

Un miel est dit monofloral lorsqu'il provient majoritairement d'une seule espèce végétale. En pratique, il est difficile de garantir un butinage exclusif, car des facteurs comme le vent, la température ou l'humidité peuvent influencer les déplacements des abeilles vers d'autres fleurs en floraison. Ainsi, un miel est considéré comme monofloral lorsque le pollen issu d'une seule plante représente au moins 45 % du total des grains analysés (Barbara, 2009). Conformément au **Codex Alimentarius (2001)**, l'étiquetage du miel se base sur l'origine florale présente, identifiée par la proportion de pollen.

### II.4. Miels polyfloraux

Le miel polyfloral est produit par les abeilles à partir du nectar et/ou du miellat de plusieurs espèces végétales. Les apiculteurs précisent souvent son origine florale pour mettre en valeur ses particularités et aider les consommateurs à en identifier les dominances. L'analyse pollinique permet de distinguer quatre catégories de pollens dans le miel : les pollens dominants (> 45 %), d'accompagnement (15–45 %), minoritaires (3–15 %) et très minoritaires (< 3 %) (Bonté *et al.*, 2013).

## III. Composition chimique

La composition, la saveur et la couleur du miel varient selon l'origine florale, les conditions environnementales et le savoir-faire de l'apiculteur. Il n'existe donc pas un seul type de miel mais une grande diversité, chacun reflétant les propriétés des plantes butinées (Da Silva *et al.*, 2016).

### III.1. Substances nutritives

Le miel est considéré comme un aliment aux vertus nutritionnelles et médicinales, riche en macro et micronutriments, lui conférant des propriétés nutritionnelles et thérapeutiques (Sicak *et al.*, 2021). Il est composé à environ 95 % de glucides (poids sec), principalement du glucose et du fructose, suivi de divers autres sucres comme le maltose et le saccharose, qui influencent sa texture et son pouvoir énergétique (Yarom *et al.*, 2020). Une mauvaise conservation peut toutefois altérer ces sucres et entraîner la formation de composés indésirables comme l'HMF.

Le miel contient également des protéines sous forme d'enzymes (diastase, glucose-oxydase, invertase) et d'acides aminés libres, dont la proline, prédominante, utilisée comme indicateur de maturation. D'autres acides aminés comme l'alanine, la tyrosine ou la leucine y sont aussi présents. Egalement, la teneur en minéraux (environ 0,2 % du poids sec) varie selon l'origine botanique et la région, les plus fréquents sont le potassium, le calcium, le fer et le zinc. De plus, il renferme de faibles quantités de vitamines B (B1 à B6) et de vitamine C. En outre, tous les miels présentent une acidité naturelle liée aux acides organiques. Ces acides, en particulier l'acide gluconique, participent à la saveur, à l'activité antimicrobienne et à la stabilité du produit. Plusieurs autres acides organiques mineurs complètent cette composition, contribuant aux propriétés fonctionnelles du miel (**Mato et al., 2006 ; Bogdanov et al., 2008 ; Faustino et Pinheiro, 2021**).

### **III.2. Constituants phénoliques**

Les polyphénols sont des composés issus du métabolisme secondaire des plantes, regroupés en deux grandes familles : les flavonoïdes et les acides phénoliques. Ils se distinguent par la présence de groupements phénoliques et leur structure complexe. La composition en polyphénols du miel dépend fortement de son origine florale, ce qui en fait un bon indicateur d'authenticité, surtout pour les miels monofloraux. Ces composés jouent un rôle majeur dans l'activité antioxydante du miel en neutralisant les radicaux libres via la libération d'hydrogène par leurs groupes hydroxyles (**Ouchemoukh et al., 2017**).

Les flavonoïdes, sont solubles dans l'eau et de faible poids moléculaire, possèdent une structure C6- C3-C6 et peuvent exister sous forme glycosylée ou non (aglycone). Ils sont classés selon le degré d'oxydation de leur cycle central et les plus courants dans le miel sont les flavonols, flavanols et flavones. Les acides phénoliques, eux, sont caractérisés par un noyau aromatique et une ou plusieurs fonctions carboxyliques. Selon leur structure, ils sont classés en C6-C1, C6-C2 et C6-C3, et incluent des composés comme les acides caféique, férulique ou gallique. Ils peuvent se lier à des sucres, à la cellulose ou à d'autres flavonoïdes. L'ensemble de ces composés contribue aux propriétés biologiques et sensorielles du miel (**Ouchemoukh et al., 2017**).

## **IV. Propriétés du miel**

### **IV.1. Propriétés physico-chimiques**

Les paramètres physico-chimiques comme le pH, la conductivité électrique, l'indice de réfraction, l'acidité et le pouvoir rotatoire permettent d'évaluer la qualité du miel et de distinguer les

miels de nectar de ceux de miellat. L'indice de réfraction augmente lorsque la teneur en eau diminue ; il se situe entre 1,5041 et 1,4915 pour une teneur en eau comprise entre 13 et 18 %. L'acidité, liée aux acides organiques et ions inorganiques, influence la saveur et les propriétés antibactériennes du miel. Le pH varie selon l'origine florale : il est généralement inférieur à 4 pour les miels de nectar et supérieur à 5 pour ceux de miellat. La conductivité électrique, corrélée à la teneur en minéraux, acides organiques et protéines, est l'un des meilleurs indicateurs pour différencier les types de miel. Le pouvoir rotatoire reflète la capacité des sucres à dévier la lumière polarisée : les miels de nectar sont lévogyres, ceux de miellat sont dextrogyres. La couleur du miel, habituellement jaune à brun, peut aussi varier : certains miels rares comme ceux de tournesol et de miellat présentent des teintes grisâtres ou verdâtres. Une couleur plus foncée est souvent associée à une concentration plus élevée en antioxydants, en HMF, en minéraux et en pollens, ce qui renforce son activité antioxydante (**Bogdanov *et al.*, 2004** ; **Ouchemoukh *et al.*, 2007**).

## **IV.2. Propriétés biologiques**

### **IV.2.1. Propriétés antioxydantes**

Le miel contient divers antioxydants tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide ascorbique, les enzymes (catalase, peroxydase), les caroténoïdes, les peptides, les acides organiques et certains composés issus de la réaction de Maillard. Cette richesse varie selon l'origine florale du miel, influençant ainsi son pouvoir antioxydant (**Bertoncelj *et al.*, 2007**). Les antioxydants du miel jouent un rôle protecteur contre les radicaux libres, molécules instables produites lors de réactions oxydatives, impliquées dans le vieillissement cellulaire et des maladies comme le cancer, le diabète ou les pathologies cardiovasculaires (**Cornara *et al.*, 2017**).

Le miel exerce ses effets protecteurs via deux mécanismes : soit en neutralisant directement les radicaux libres (antioxydants primaires), soit en bloquant les réactions pro-oxydantes (antioxydants secondaires) par chélation des métaux ou absorption des UV. Plusieurs recherches ont montré que sa consommation augmente les taux de composés phénoliques dans le plasma humain, renforçant ainsi la défense antioxydante de l'organisme.

#### IV.2.2. Propriétés anti-inflammatoires

Le miel est riche en flavonoïdes, des antioxydants naturels connus pour leurs propriétés anticancéreuses et anti-inflammatoires. Ces composés sont particulièrement prometteurs pour atténuer les maladies inflammatoires chroniques, dont l'incidence est en augmentation.

Bien que le miel soit utilisé depuis l'antiquité en application locale, son activité anti-inflammatoire à l'échelle cellulaire reste peu étudiée (**Biluca et al., 2020 ; Silva et al., 2020**). L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle déclenchée par des infections, des traumatismes ou des lésions. Toutefois, une activation prolongée du système immunitaire peut provoquer une inflammation chronique, marquée par une production excessive de cytokines et chimiokines. Ce déséquilibre peut favoriser le développement de maladies comme le cancer, le diabète, l'asthme ou encore l'athérosclérose (**Chen et al., 2019**). Malgré leur faible concentration, les flavonoïdes présents dans le miel se distinguent par une efficacité anti-inflammatoire supérieure à de nombreux autres composés naturels (**Żyżyńska-Granica et al., 2020**).

#### IV.2.3. Propriétés antimicrobiennes

Le miel possède des propriétés antibactériennes et antifongiques reconnues depuis **1937**, lorsque **Dold** a démontré son efficacité contre des bactéries comme *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus*. Ces propriétés varient selon la composition chimique du miel, influencée par la source florale, le climat, l'origine géographique, la méthode de récolte et les conditions de stockage. L'activité antimicrobienne est en grande partie liée à la présence de certaines enzymes : la glucose oxydase génère du peroxyde d'hydrogène, un agent antibactérien, tandis que la catalase (provenant du pollen) peut le dégrader. D'autres facteurs comme l'osmolarité élevée, la faible activité de l'eau, le pH acide (3,2–4,5) et la viscosité du miel renforcent son action antimicrobienne (**Kwakman et al., 2011**). En parallèle, certains composés phénoliques comme les acides phénoliques (ex. : gallique, férulique, caféique) et des flavonoïdes (quercétine, lutéoline) participent aussi à cette activité, notamment dans les miels à faible teneur en peroxyde. Ainsi, l'effet antimicrobien du miel résulte d'une synergie entre composants biochimiques et propriétés physiques (**Brudzynski et al., 2011**).

## Chapitre II Graines de la citrouille : Définition, composition et propriétés biologiques

### I. Définition

Les graines de citrouille, également appelées pépins de courge, sont les graines comestibles extraites des fruits du genre *Cucurbita*, notamment (*Cucurbita pepo*). Riches en lipides, protéines, fibres, vitamines (E, B) et minéraux (magnésium, zinc, fer), elles sont utilisées aussi bien comme aliment fonctionnel que comme ingrédient dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique (Stevenson *et al.*, 2007).

Elles se caractérisent par leur forme plate, ovale et leur couleur vert pâle. En plus de leurs usages alimentaires et médicaux, elles sont consommées crues, bouillies ou grillées dans de nombreux pays et servent également à l'extraction d'huile (Gavril *et al.*, 2024).

### II. Composition chimique

Les graines de citrouille sont connues pour leur richesse nutritionnelle. Leur composition peut légèrement varier selon la variété, l'origine géographique et les conditions de culture. Le tableau I illustre la composition chimique des graines de la citrouille.

**Tableau I :** Teneurs approximatives des composantes des graines de la citrouille (Abbas Syed *et al.*, 2019).

Composant	Teneur approximative (% poids sec)
<b>Lipides</b>	35 à 50
<b>Protéines</b>	25 à 35
<b>Glucides</b>	10 à 15
<b>Fibres alimentaires</b>	5 à 10
<b>Minéraux</b>	4 à 6 (magnésium, phosphore, zinc, fer)
<b>Eau</b>	5 à 8 (selon les conditions de séchage)

Les graines et leur huile sont moins riches en composés phénoliques par rapport aux pelures, car selon Saavedra *et al.* (2015), les pelures contiennent plus de composés phénoliques que les graines, avec respectivement 11 et 6,1 mg EAG/Kg de matière sèche et Abbas Syed *et al.* (2019) ont rapporté que la teneur en polyphénol de l'huile des graines de la citrouille oscille entre 25 et 51 mg EAG/kg. Le profil phénolique des graines est complexe, incluant des flavonoïdes, des acides phénoliques comme les acides vanillique et caféique et des lignanes.

L'huile se distingue par leur richesse en vitamine E, un puissant antioxydant naturel. Avec une teneur en lipides atteignant 41,59 % et une concentration protéique de 25,4 %. L'huile extraite des graines de courge représente une source nutritionnelle particulièrement intéressante. Une analyse détaillée de ces graines a permis de déterminer les valeurs suivantes : 5,2 % d'humidité, 5,34 % de fibres brutes, 2,49 % de cendres totales et 25,19 % de glucides (**Gavril et al., 2024**).

Il se distingue également par leur richesse en composés bioactifs, notamment en acides gras polyinsaturés, acides aminés essentiels, lutéine, vitamines, phytostérols,  $\gamma$ -tocophérols, pigments tels que le  $\beta$ -carotène, fibres alimentaires, ainsi qu'en micronutriments tels que le phosphore (P), le magnésium (Mg), le manganèse (Mn), le potassium (K) et le calcium (Ca). Les extraits lipidiques obtenus à partir de l'huile montrent une prédominance d'acides gras insaturés, avec des teneurs variables en acides linoléique (26,18 à 81,21 %), oléique (15,56 à 30,79 %) et palmitique (1,16 à 20,81 %), tandis que l'acide stéarique est présent en proportions plus faibles, variant de 0,16 à 5,56 %. L'huile de graines de courge suscite un intérêt croissant en tant qu'huile comestible et nutraceutique (**Gavril et al., 2024**).

### III. Propriétés biologiques

Les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la prévention et la gestion de nombreuses maladies en empêchant l'accumulation de radicaux libres. Les sous-produits de la citrouille constituent une source abondante de divers composés antioxydants tels que les flavonoïdes, les tocophérols, les acides phénoliques et les caroténoïdes, qui contribuent au maintien d'une bonne stabilité oxydative. De nombreuses études scientifiques ont mis en évidence les bienfaits pour la santé ainsi que les effets protecteurs de la citrouille et de ses différentes parties, notamment l'huile des graines de la citrouille, la pulpe et les extraits riches en composés bioactifs (**Sánchez-Camargo et al., 2013**).

L'huile de graines de courge, à une concentration de 2 %, a montré une activité inhibitrice contre la croissance de *Aeromonas veronii*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* et *Staphylococcus aureus*. Les protéines basiques extraites des graines de courge, notamment MAP2, MAP11 et MAP4, ont été étudiées pour leur capacité à inhiber la croissance des cellules de levure (**Hammer et al., 1999**).

D'autres études ont rapporté que l'huile de graines de courge pouvait atténuer et prévenir l'inflammation dans divers troubles. Chez des rats soumis à des protocoles d'ulcère induit (ligature pylorique, stress par immersion dans l'eau et administration d'indométhacine), un triterpénoïde tétracyclique récemment isolé de l'huile de graines de courge, administré à une concentration de 300 µg/mL, a présenté une activité anti-ulcéreuse optimale avec des taux d'inhibition respectifs de 55,7 ; 67,1 et 59,1 % (**Gill et Bali, 2011**).

Par ailleurs, **Bardaa et al. (2016)** ont montré que l'administration orale d'huile de graines de courge (4 mL/kg de poids corporel) chez des rats présentant des lésions cutanées induites par l'azathioprine améliore les résultats macroscopiques, morphométriques et histologiques par rapport au groupe non traité, notamment par une réduction de la fragmentation de l'ADN. En outre, l'isolement du composé 3-hydroxycholest-7-en-24-one à partir des graines de *Cucurbita pepo* a permis d'observer une activation des macrophages, par inhibition de la production de monoxyde d'azote dans les cellules RAW 264 (**Gutierrez, 2016**).

Bien que de nombreuses études aient mis en évidence les activités biologiques remarquables de l'huile extraite des graines de citrouille, notamment ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et cicatrisantes, aucune recherche approfondie n'a encore été menée sur son incorporation dans une formulation cosmétique à usage médical. Cette lacune représente une opportunité scientifique importante, notamment dans le développement de produits dermatologiques innovants valorisant les composés bioactifs naturellement présents dans cette huile. L'exploration de son potentiel en tant qu'ingrédient fonctionnel dans des formulations topiques pourrait ouvrir la voie à de nouvelles applications thérapeutiques dans le domaine des soins de la peau.

**Partie II : Partie**  
**expérimentale**

***Chapitre I :***

***Matériel et méthodes***

## Matériel & méthodes

Le travail de ce mémoire est effectué dans deux laboratoires, Biologie Physico-chimique 1 et Biochimie Alimentaire, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie au sein de l'université Abderrahmane MIRA de Bejaia. L'objectif principal de cette étude est de formuler des pommades à base de miel, de l'huile de la citrouille et d'un mélange de miel et d'huile de la citrouille, en réalisant une série d'analyses telles que les analyses polliniques, les paramètres physico chimiques, les activités antioxydante et anti-inflammatoire et la détermination de la charge microbienne des pommades et enfin une analyse sensorielle afin de déterminer les préférences globales par un panel expert.

### I. Echantillons

#### I.1. Miels

Trois échantillons de miel de l'année 2025 provenant de la wilaya de Bejaia (de Bouhamza, une région rurale, et de Kherrata, située dans une zone montagneuse), sont utilisés dans cette étude. Tous les miels sont conservés dans des pots en verre, à une température ambiante, à l'abri de la lumière et d'humidité. Le tableau II illustre les caractéristiques et l'origine des miels analysés.

**Tableau II** : Caractéristiques et origine des miels analysés

Miels	Couleur	Consistance	Région de récolte
M1	Marron orangé	Cristalisé	Bouhemza
M2	Orange clair	Cristalisé	Kherata
M3	Marron foncé	Liquide	Bouhemza

#### I.2. Graines de la citrouille

Une quantité de 1kg et 350 g des graines de la citrouille est récupérée après avoir été séparées de la citrouille à l'aide d'un couteau, puis séchées dans un four à air chaud à 40 °C pendant 24 h.

##### I.2.1. Extraction de l'huile des graines de la citrouille

L'extraction par pression à froid est effectuée à l'aide d'une presse automatique à vis (modèle AB-GK-200484) fonctionnant à basse température. Le processus débute avec une pression initiale de 10 MPa, après un préchauffage de la tête de vis entre 60 et 70 °C. Un anneau chauffant, relié à un régulateur de température automatique, est fixé à la tête de la presse. Une fois la température souhaitée (4°C ) atteinte, le chauffage est interrompu, et l'extraction est réalisée à un débit de 1 kg/h. La pression d'alimentation est ensuite portée à 65 MPa. L'huile obtenue est purifiée par centrifugation à 4500

tr/min durant 10 minutes, puis filtrée et stockée dans des flacons en verre vert foncé à -18 °C (**Singh et Kumar, 2023**).

## II. Profils polliniques

Selon **Louveaux et al. (1978)**, une solution de 25 % (p/v) de chaque échantillon de miel est préparée dans d'eau distillée. Après une agitation pendant 10 min, la solution est centrifugée à 4500 tr/min pendant 15 min. Le culot est lavé avec 10 mL d'eau distillée et centrifugé à nouveau. Après la deuxième centrifugation, le culot restant au fond du tube est redissout avec une petite quantité d'eau distillée, ensuite un volume de 100 µL est transféré sur la lame, séchée sur une plaque chauffante puis recouvert par une lamelle et examinée au microscope photonique avec un objectif (G x 40). La lecture est effectuée en se référant à une banque de données numériques de CETAM (Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle, France).

## III. Analyses physico-chimiques

### III.1. Brix et humidité

Le brix et l'humidité du miel est déterminée à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé. Une goutte de miel liquide est étalée en fine couche sur la platine du prisme, après étalonnage préalable de l'appareil avec de l'eau distillée. L'observation se fait à travers l'oculaire, en ajustant l'image jusqu'à obtenir une ligne de séparation nette entre les zones claire et une zone sombre. Cette ligne traverse une échelle verticale graduée en indice de réfraction et en pourcentage de brix. La valeur de l'indice de réfraction mesurée permet ensuite d'estimer la teneur en eau du miel, grâce à la table de Chataway, établie pour une température de 20 °C. Cette méthode permet d'évaluer rapidement et avec précision deux paramètres essentiels à la qualité du miel (**Bogdanov et al.,1997**).

### III.2. Intensité de couleur (L\*a\*b\*)

La couleur des échantillons de miel et d'huile est déterminée à l'aide d'un chroma-mètre (modèle, Konica Minolta, Osaka, Japon) et les résultats sont exprimés en L\* (luminosité), a\*(rouge-vert) et b\*(jaune-bleu) (**Bertoncelj et al., 2007**).

### III.3. pH

Le pH est lu directement sur l'écran de pH mètre (HANNA, pH 213) après l'émersion de sa sonde dans une solution de miel à 10 % (m/v) et dans l'huile directement (**Bogdanov et al.,1997**).

### III.4. Dosage de l'hydroxyméthylfurfural (HMF)

La teneur en HMF (hydroxyméthylfurfural) est déterminée à partir d'une solution de miel à 20 % (m/v), traitée avec les réactifs de Carrez I (15 % ; m/v d'acétate de zinc) et Carrez II (30 % ; m/v d'hexacyanoferrate (II) de potassium). Le mélange est complété avec de l'eau distillée jusqu'à un volume total de 50 mL. Après filtration sur papier Wattman, les premiers millilitres de filtrat sont éliminés. Deux aliquotes de 5 mL de filtrat sont ensuite préparées : l'une mélangée à 5 mL d'eau distillée, l'autre à 5 mL de bisulfite de sodium (0,2 % ; m/v). Les absorbances des deux solutions sont mesurées aux longueurs d'onde de 284 et 336 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. (Bogdanov *et al.*, 1997). La teneur en HMF est calculée à l'aide de l'équation suivante :

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

Avec :  $A_{284}$  : Absorbance à 284 nm.  $A_{336}$  : Absorbance à 336 nm.  $W$  : Masse en grammes de l'échantillon du miel. **149,7** : Constante.

### III.5. Dosage de la proline

Le dosage de la proline est réalisé à partir de 500  $\mu$ L d'une solution de miel à 5 % (m/v) et d'un volume équivalent d'une solution standard de proline à 0,003 % (m/v), préparées séparément. À chaque échantillon, 1 mL d'acide formique (90 %) et 1 mL de solution de ninhydrine à 3 % (m/v) sont ajoutés. Les mélanges sont ensuite incubés deux fois : d'abord à 100 °C pendant 15 minutes sous agitation, puis à 70 °C pendant 10 minutes sans agitation. Après refroidissement, 5 mL de 2-propanol à 50 % (v/v) sont ajoutés à chaque préparation. L'absorbance est mesurée à 510 nm après 45 minutes d'incubation (Bogdanov *et al.*, 1997). La teneur en proline est calculée par la formule suivante :

$$\text{Proline (mg/kg)} = (A_E/A_S) \times (M/m) \times 80$$

Avec :  $A_E$  : Absorbance de l'échantillon du miel.  $A_S$  : Absorbance de la solution standard de la proline.  $M$  : mg de proline pour la solution standard.  $m$  : Quantité du miel. **80** : Facteur de dilution.

## IV. Dosage des antioxydants

### IV.1. Extraction des composés phénoliques de l'huile

Une quantité de 1 g d'huile est mélangée avec un volume de 1 mL de méthanol aqueux à 80 % et les composés phénoliques sont extraits à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 3h en l'absence de lumière à la température ambiante. Ensuite, le mélange est centrifugé à 4500 rpm pendant 10 min puis filtré avec papier wattman. Les extraits obtenus sont conservés à une température de 4 °C. Ce protocole a été sélectionné après une série d'essais préliminaires inspirés de la littérature en utilisant

divers solvants, afin d'identifier les conditions optimales d'extraction. Il s'est avéré le plus performant en termes de rendement en composés phénoliques (**Siano *et al.*, 2016**).

#### IV.2. Dosage des polyphénols

La méthode Folin-Ciocalteu est utilisée pour déterminer la teneur en composés phénoliques pour les miels et pour l'huile selon le protocole rapporté par **Niathani *et al.* (2006)**. Un volume de 100  $\mu\text{L}$  de la solution de miel (0,5 g / mL) ou d'extrait d'huile préparé est mélangé avec 100  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu (50 % ; v/v) et 2 mL de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 2 % ; m/v). L'absorbance est lue à 750 nm après une incubation à 30 min d'obscurité et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique (EAG) / 100 g en référence à une courbe d'étalonnage d'acide gallique ( $y = 3,71 x + 0,06$  ;  $R^2 = 0,9891$ ).

#### IV.3. Dosage des flavonoïdes

Selon la méthode décrite par **Al *et al.* (2009)**, la teneur en flavonoïdes est déterminée par un mélange d'un volume de 1 mL de la solution aqueuse du miel (50 % ; m/v) ou d'extrait d'huile préparé avec 300  $\mu\text{L}$  de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ , 5 % ; m/v). Ensuite, un volume de 300  $\mu\text{L}$  de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10 % ; m/v) est ajouté après 5 min. Puis, après six minutes plus tard, 2 mL d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ , 1M) sont ajoutés au mélange. Les absorbances sont lues à 510 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ) / 100 g du miel en référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine ( $y = 3,672 x + 0,0156$  ;  $R^2 = 0,9864$ ).

### V. Propriétés Biologiques

#### V.1. Activités antioxydantes.

##### V.1.1. Pouvoir scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

La décoloration de DPPH est estimée selon la méthode rapportée par **Noumi *et al.* (2011)**. Un volume de 500  $\mu\text{L}$  de solution de miel (2,5 % ; m/v) ou d'extrait phénolique d'huile est ajouté à 1 mL de solution éthanolique de DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M). Après 15 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 517 nm et les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

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

Avec :  $A_C$  : Absorbance du contrôle (1 mL de DPPH).  $A_E$  : Absorbance de l'échantillon.

##### V.1.2. Pouvoir chélateur de fer (ferrozine)

Le test est déterminé par un mélange d'un volume de 500  $\mu\text{L}$  de solution de miel (2,5 % ; m/v)

ou d'extrait d'huile, un volume de 50  $\mu\text{L}$  de chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_2$  ; 2 mM) et un volume de 900  $\mu\text{L}$  de méthanol. Ensuite, un volume de 20  $\mu\text{L}$  de ferrozine (5 mM) est ajouté après 5 min d'incubation. L'absorbance est lue à 562 nm après 10 min d'incubation (Wang *et al.*, 2008). Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\text{Activité chélatrice du Fer (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Avec :  $A_C$  : Absorbance du contrôle.  $A_E$  : Absorbance de l'échantillon.

## V. 2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

### V21. Détermination de la dénaturation de l'albumine

Le test est effectué par l'ajout d'un volume de 0,5 mL de solution aqueuse d'albumine bovine (1 % ; m/v) à un volume de 1 mL de la solution de miel (1% ; m/v) ou de l'extrait d'huile.

Ensuite, le mélange a subi une double incubation à 37 °C pendant 20 minutes, puis à 51 °C pendant les 20 minutes suivantes. Après refroidissement, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 660 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS. L'aspirine est utilisée comme médicament de référence tandis que l'eau distillée a servi de contrôle (Yadav *et al.*, 2018). La formule suivante est utilisée pour calculer la protection contre la dénaturation des protéines (%) :

$$\% \text{ Protection} = [100 - (A_E / A_C)] \times 100$$

Avec :  $A_C$  : Absorbance du contrôle.  $A_E$  : Absorbance de l'échantillon.

### V22. Activité d'inhibition des protéinases

Afin de déterminer le niveau d'inhibition de la trypsine, une solution de trypsine (0,06 mg/mL de tampon Tris-HCl de 20 mM à pH 7,4) est ajoutée à un volume de 1 mL de la solution de miel ou d'extrait d'huile pour atteindre un volume final de 2 mL. Ensuite, le mélange est incubé à 37 °C pendant 5 minutes. L'azocaséine (0,8% ; m/v) est préparée dans 20 mM de  $\text{NaHCO}_3$  (pH 8.1), un volume de 1 mL est ajouté au mélange d'essai et incubé pendant 20 min à 37 °C suivi par l'ajout de 2 mL d'acide trichloracétique (10% ; m/v). Le mélange résultant est centrifugé pendant 10 minutes à 4500 rpm. Le surnageant obtenu est additionné à 2 mL de NaOH (1M) et mesuré à 440 nm. Le tampon est utilisé comme un blanc (Yadav *et al.*, 2018). Le pourcentage d'inhibition de l'activité de la protéinase est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Protection} = [100 - (A_E / A_C)] \times 100$$

Avec :  $A_C$  : Absorbance du contrôle.  $A_E$  : Absorbance de l'échantillon.

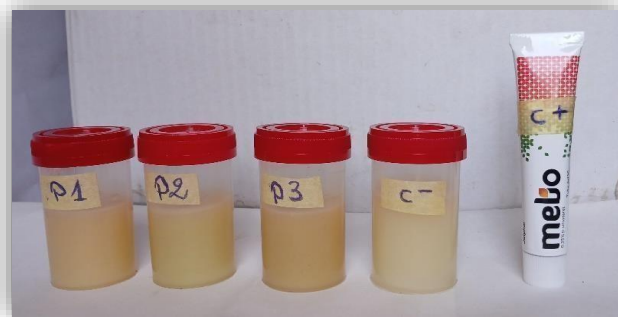
## VI. Elaboration des pommades

La formulation des pommades est préparée dans un bain-marie. La cire d'abeille est chauffée et fondue à environ 70 °C et jusqu'à ce qu'elle soit liquéfiée. Une fois la cire d'abeille fondue, la paraffine, l'huile de sésame, l'huile de coco et la glycérine végétale ainsi que l'huile des graines de la citrouille sont ajoutées progressivement en remuant constamment jusqu'à ce que l'homogénéisation soit complète. Ensuite, le mélange est retiré du feu, une fois qu'il a refroidi davantage, le miel est ajouté, suivi de l'agitation afin d'assurer son incorporation d'une manière efficace tout en gardant ses propriétés rhéologiques. Le tableau III illustre les différents ingrédients entrant dans la formulation des pommades [ C- : témoin négative ; P1, P2, P3 : Pommades additionnées de miel, d'huile et d'un mélange miel et huile respectivement ]

**Tableau III :** Différents ingrédients utilisés dans l'élaboration des pommades.

Ingrédients (%)	C-	P1	P2	P3
Huile de paraffine	74	72	73	71
Huile de sésame	5	5	5	5
Huile de coco	5	5	5	5
Glycérine végétale	5	5	5	5
Cire d'abeille	10	10	10	10
Glycérole	01	1	1	1
Miel (M3)	00	2,06	00	2,06
Huile	00	00	1	1

La pommade commercialisée MEBO®, achetée dans une para-pharmacie de la wilaya de Bejaia, est utilisée comme contrôle positif dans cette étude dans le but de la comparer avec les différentes pommades élaborées en termes des paramètres physico-chimiques, des antioxydants et des activités biologiques *in vitro*. La figure 1 présente les différentes pommades élaborées ainsi que la pommade commerciale.



**Figure 1 :** Photographie des pommades élaborées et commerciale.

## VI.1. Analyses physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques tels que le pH, l'humidité et la couleur sont analysés selon les mêmes protocoles décrits dans la section analyses physico-chimiques (page 11)

## VI.2. Dosage des antioxydants

L'extraction des composés phénoliques des différentes pommades est effectuée suivant le même procédé d'extraction des composés phénoliques de l'huile. Également, le dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits de pommades sont déterminés selon les mêmes protocoles utilisés sur les miels et l'huile.

## VI.3. Activités biologiques

Les activités antioxydantes (test anti-radicalaire DPPH et le pouvoir chélateur de fer) et les activités anti-inflammatoires (le test de la dénaturation de la BSA et l'activité inhibitrice des protéinase) sont effectuées suivant les méthodes décrites dans les deux sections **activités antioxydantes** et **activités anti-inflammatoires** (pages 13,14 respectivement) pour les miels et l'huile.

### VI.3.1. Détermination de la charge microbienne

La charge microbienne des pommades est déterminée en réalisant un dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FMAT) qui reflète la qualité microbiologique générale. Une solution mère ( $10^{-1}$ ) est préparée par la mise en suspension de 1g de pommade dans 9 mL d'eau physiologique. Après une bonne homogénéisation, un volume de 100  $\mu$ L de la solution mère estensemencé en strie à l'aide d'un écouvillon et en utilisant une gélose PCA (Plate Count Agar) et une gélose PDA (Potato Dextrose Agar) à raison 3 boîtes par gélose. Ensuite, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 72 h (**Pharmacopée Européenne**). Le nombre de colonies est calculé selon l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1 + 0.1n2)} \times d$$

Avec : **N** : Nombre de colonies. **C** : Somme des colonies comptées sur les boîtes retenues (entre 20 et 300 colonies). **n1** : Nombre de boîtes retenues à la première dilution. **n2** : Nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution. **d** : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

## VI.4. Test de stabilité oxydative

La stabilité oxydative des différentes pommades élaborées et la pommade commerciale est

Suivie par trois différents tests : l'indice de peroxyde, les diènes et triènes conjuguées et le test de TBA à  $t_0$  et après une période de stockage de 30 jours à 4 °C.

#### VI.4.1. Indice de peroxyde

La détermination de l'indice de peroxyde est effectuée selon la norme **ISO 3960, 4e édition (2017)**. Pour cela, 2 g de pommade sont introduits dans un ballon contenant 12 mL de chloroforme, 18 mL d'acide acétique et 1 mL d'iodure de potassium (0,5 g/mL). Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant une minute, puis 75 mL d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon (0,005 g/mL) sont ajoutés. La solution est ensuite titrée à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) à 0,01 N jusqu'à disparition complète de la coloration. Un essai blanc, réalisé dans les mêmes conditions mais sans échantillon, est également mené à titre de témoin. Les résultats, exprimés en meq  $\text{O}_2/\text{kg}$ , sont calculés par la relation suivante :

$$\text{IP (méq O}_2\text{/kg)} = \text{N} \times (\text{V}_1 - \text{V}_0) \times 1000/\text{p}$$

Avec : **IP** : indice de peroxyde. **V<sub>0</sub>** : volume de la solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc en mL. **V<sub>1</sub>** : volume de thiosulfate de sodium utilisé en mL. **N** : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0,01 N. **P** : prise d'essai en gramme.

#### VI.4.2. Test des diènes et triènes conjuguées (test d'UV)

La détermination des diènes et triènes conjugués est analysée par dissolution de 0,01 g de pommade dans un volume de 10 mL de cyclohexane pur.

Ensuite, l'absorbance de la solution obtenue est mesurée à une solution de 1 :100 par un spectrophotomètre à 233 et à 270 nm (**Wolff, 1968**). Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{K}\lambda = \text{E}\lambda / (\text{C}\times\text{S})$$

Avec : **K $\lambda$**  : absorbance spécifique. **E $\lambda$**  : absorbance mesurée. **C** : concentration de la solution (g/100 mL). **S** : l'épaisseur de la cuvette.

#### VI.4.3. Test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA) dans une pommade s'effectue selon la méthode de **Draper et Hadley. (1990)**. 2 grammes de pommade sont homogénéisés dans 16 mL d'acide trichloroacétique (TCA ; 20 %, m/v) puis centrifugés à 4000 tr/min pendant 15 min. 2 mL du surnageant (extrait de MDA) sont ensuite mélangés à 2 mL de solution de

TBA à 20 mM, puis agités brièvement. Le mélange est chauffé au bain-marie à 95 °C durant 10 min. Après refroidissement, l'absorbance est lue à 534 nm.

La quantité de TBARS est calculée sur la base du coefficient d'extinction molaire  $\epsilon = 155 \text{ Mm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , en utilisant l'équation suivante :

$$\text{M équivalent MDA/Kg} = (\text{Abs} \times V_{\text{TCA}} \times 2 \times M \times 10^{-2}) / 1.56 \times m$$

Avec :  $V_{\text{TCA}}$  : volume de TCA utilisé pour l'extraction (16 mL).  $M$  : masse moléculaire du MDA (72 g/mol).  $m$  : masse de l'échantillon analysé (g).

## VI.5. Analyses sensorielles

L'analyse sensorielle par panel expert est effectuée par un groupe expert de 11 personnes (08 femmes et 03 hommes, âgés de 27 à 48 ans) d'université de Bejaia (enseignants, travailleurs et doctorants) préalablement formés et entraînés à l'évaluation sensorielle. Les jurys ont évalué, en une seule séance, cinq pommades codées P0, P1, P2, P3 et P4 présentées à  $15 \pm 2$  °C dans de petites pots en plastique transparent. De papier torchon et des spatules sont mis à la disposition des jurys. Les modalités sensorielles évaluées sont la couleur, l'odeur, la brillance, la texture, l'application sur la peau et la pénétration dans la peau sur une échelle de 1 à 5. Egalement, l'acceptabilité des pommades est évaluée par le test de préférence globale qui consiste à attribuer une note de 1 à 9 pour les quatre pommades, sachant que 1 correspond à " Pas du tout aimer " et 9 à " Extrêmement aimer" (**Balthazar et al., 2018**). Il est demandé à chaque expert de remplir un questionnaire contenant toutes les informations relatives aux paramètres d'évaluation des pommades.

## VII. Analyses statistiques

Les analyses sont réalisées en trois triplicatas, les moyennes sont calculées avec Microsoft Office Excel 2016 et les résultats sont analysés statistiquement en utilisant le logiciel STATISTICA 7.1.2 (Statsoft Co., Tulsa, OK, USA). Le test ANOVA à 1 facteur est utilisé à un niveau de signification de 5 %. L'ACP (analyse de la composante principale) est effectuée dans le but de visualiser les similitudes entre les différents échantillons analysés et déterminer les liens entre les variables (les paramètres physico-chimiques, les teneurs en composés phénoliques, les activités biologiques et les tests de stabilités oxydatives des lipides). L'évaluation sensorielle des pommades est effectuée par le logiciel XLSTAT 2024.1.0 (1418).

**Chapitre II :**  
**Résultats et discussion**

## Résultats et discussion

### I. Profil pollinique

L'origine botanique du miel est un paramètre déterminant de sa qualité, influençant sa composition physico-chimique et ses propriétés bioactives. L'analyse pollinique constitue un outil essentiel pour caractériser les sources florales ayant contribué à la production du miel et son authenticité en se reposant sur le fait que chaque espèce végétale ayant une empreinte pollinique unique (Nair *et al.*, 2013).

Le profil pollinique des trois échantillons de miel (tableau IV) met en évidence un miel monofloral (M3) avec un pollen dominant *Fabaceae* (82 %), également, d'autres pollens minoritaires sont présents y compris *Eucalyptus*, *Asteraceae* et *Ericaceae*. Cependant, les deux autres miels (M1 et M2) sont polyfloraux et ils sont caractérisés par des pollens d'accompagnement similaires de *Fabaceae*, d'*Asteraceae* et de *Poaceae*. Le pollen de la famille *Eucalyptus* est présent dans tous les miels analysés comme pollen minoritaire avec différentes fréquences ce qui confirme son abondance et sa large distribution à la wilaya de Bejaia. En outre, le pollen d'*Ericaceae* caractérise les deux miels issus de la région de Bouhemza (M1 et M3) avec des fréquences très proches (4 et 3%), respectivement suggérant ainsi sa distribution modérée dans cette région. La famille de pollen de *Fabaceae* est la plus dominante suivie de *Asteraceae*. Ces résultats sont cohérents avec les résultats obtenus par Otmani *et al.* (2021) et Guenaoui *et al.* (2024) sur les miels d'Algérie, révélant une forte prédominance des familles botaniques *Fabaceae* et *Asteraceae*.

Le profil pollinique du miel varie en fonction de la diversité botanique locale, des conditions climatiques et de la proximité des ruches avec les sources florales (Ouchemoukh *et al.*, 2007).

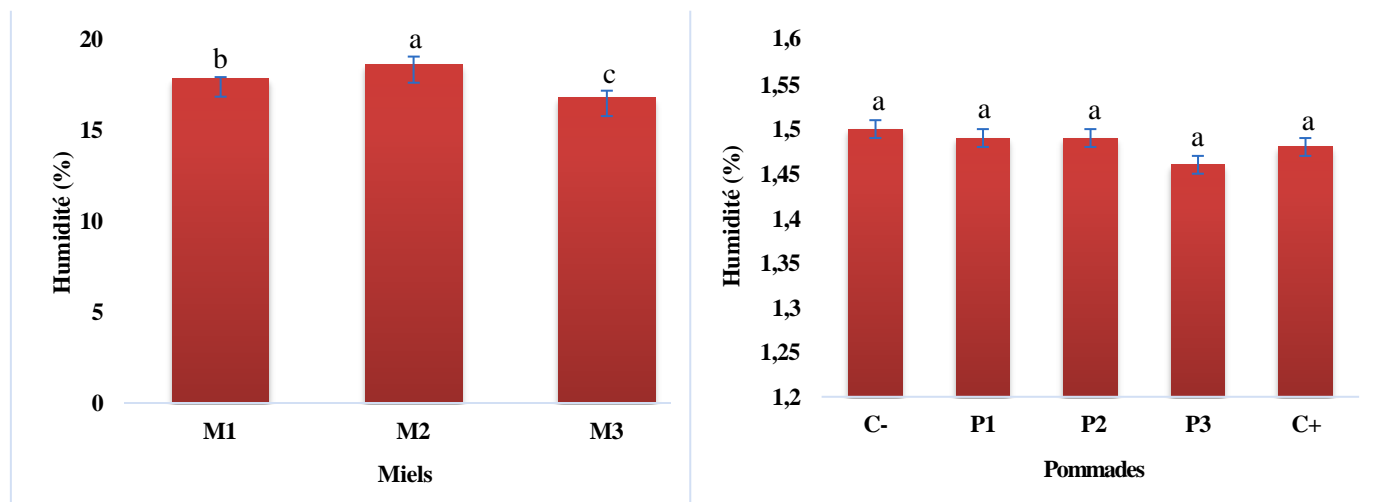
**Tableau IV : Profils polliniques des miels de Bejaia.**

Miel	Caractéristiques sensorielles		Région d'origine géographique	Pollendominant ( $\geq 45\%$ )		Pollen d'accompagnement (16 - 44 %)		Pollenminoritaire (15 – 3 %)		Pollen très minoritaire (< 3 %)	
	Couleur	Consistance		Type de pollen	Frequence (%)	Type de pollen	Frequence (%)	Type de pollen	Frequence (%)	Type de pollen	Frequence (%)
M1	Marron orangé	Semi cristallisé	Bouhzmza	Absence	-	<i>Fabaceae</i>	25	<i>Eucalyptus</i>	7	<i>Fagaceae</i>	1
						<i>Asteraceae</i>	20	<i>Ericaceae</i>	4		
						<i>Poacaceae</i>	17	<i>Lamiaceae</i>	4		
						<i>Pyrus prunus</i>	16				
M2	Orange clair	Cristallisé	Kherata	Absence	-	<i>Asteraceae</i>	38	<i>Eucalyptus</i>	12	<i>Pyrus</i>	2
						<i>Fabaceae</i>	24			<i>Lamiaceae</i>	2
						<i>Poacaceae</i>	19			<i>Ericaceae</i>	1
M3	Marron	Liquide	Bouhemza	<i>Fabaceae</i>	82	Absence	-	<i>Eucalyptus</i>	9	Absence	-
								<i>Asteraceae</i>	6		
								<i>Ericaceae</i>	3		

## II. Paramètres physico-chimiques

### II.1. Humidité

L'humidité est évaluée dans le but d'estimer le degré de maturité du miel. Une teneur faible ou supérieure à 20 % entraîne une cristallisation et altère sa qualité microbiologique, respectivement (**Choi et Nam, 2020**). Les résultats de l'humidité des miels et des pommades analysés sont illustrés dans la figure 2.



**Figure 2** : Humidité des miels et pommades analysés.

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

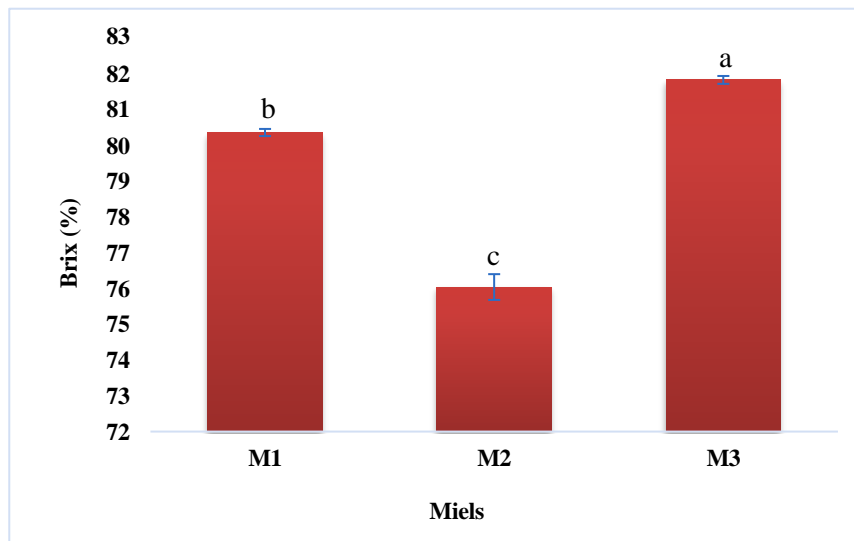
L'humidité des échantillons de miels est dans la limite fixée ( $< 20\%$ ) par le **Codex Alimentarius (2001)**. Elle est comprise entre 16,80 (M3) à 18,64 % (M2). L'humidité des pommades oscillent entre 1,46 (P3) et 1,50 % (C-). Le test ANOVA révèle que tous les échantillons de miel sont statistiquement différents ( $p < 0.05$ ), tandis que tous les échantillons de pommades ne sont pas différents significativement.

Les valeurs des taux en eau obtenus rentrent dans l'intervalle obtenus par **Albu et al. (2020)**, sur les miels romains (15,48 et 19,52 %) et elles sont supérieures à celles obtenues par **Ayad et al. (2021)** sur les miels Algériens (13,21 et 16,44 %).

Les résultats obtenus indiquent que les miels analysés sont mûrs, de bonne qualité et ils peuvent se conserver à long terme. Les pommades ont une excellente stabilité microbiologique, une formulation anhydre ou quasi-anhydre, peu sensible à l'oxydation ou à la contamination et adaptée à une action protectrice ou cicatrisante.

## II.2. Brix

Les valeurs du degré de brix sont illustrées dans la figure 3. Tous les miels enregistrent des valeurs supérieures à limite minimale des miels de nectar (> 60 %) et à la norme fixée par le **Codex Alimentarius (2001)** (> 65 %).



**Figure 3 :** Brix des miels analysés.

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

Les valeurs de brix des échantillons de miel analysés varient de 76,04 (M2) à 81,83 % (M3). Ce dernier miel enregistre la valeur la plus élevée de brix indiquant sa richesse en glucides. L'analyse statistique révèle que tous les miels sont significativement différents ( $p < 0.05$ ) pour ce paramètre.

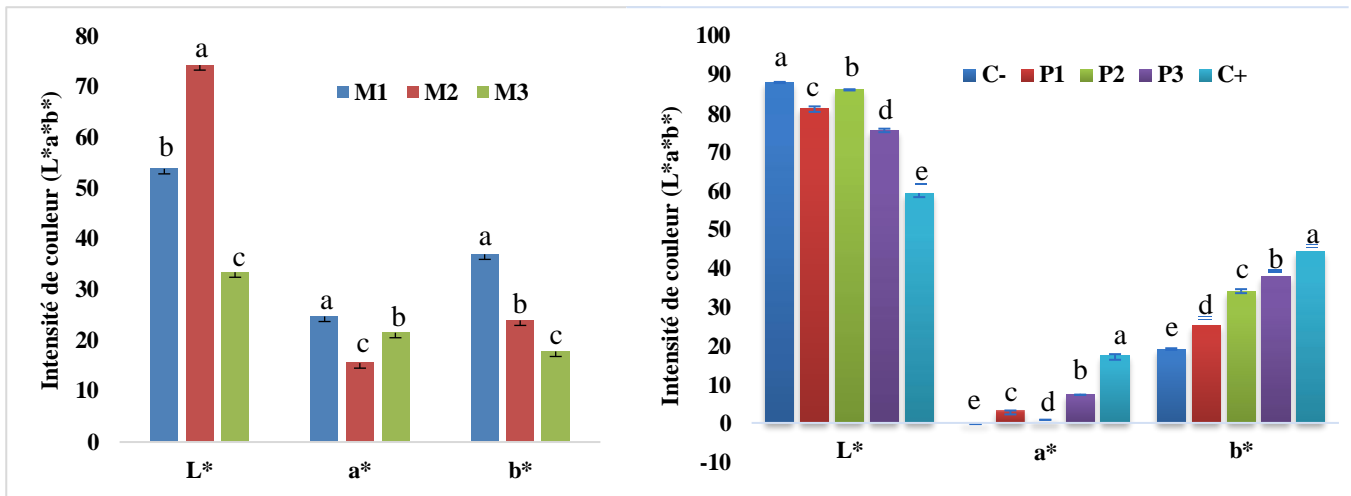
Les résultats obtenus sont proches de ceux rapportés par **Bakchiche *et al.* (2017)** et **Yebou *et al.* (2021)** sur les miels Algériens (81,45 et 85,89 %) et de Côte d'Ivoire (78,60 à 83,80 %), respectivement.

Les variations du degré brix peuvent être attribuées à l'origine botanique des plantes dont proviennent le nectar et/ou le miellat, aux conditions environnementales et climatiques, ainsi qu'aux modalités de stockage du miel (**Ouchemoukh *et al.*, 2007**).

## II.3. Intensité de couleur L\* a\* b\*

La couleur des échantillons de miels et de pommades analysés, illustrée dans la figure 4, sont caractérisées par des nuances de rouge et de jaune car les coordonnées a\* et b\* ont des valeurs positives.

En particulier, le paramètre  $a^*$  présente des valeurs plus faibles dans les pommades, traduisant leur tendance vers des nuances verdâtres. La luminosité ( $L^*$ ) de miels et de pommades varie de 33,50 (M3) à 74,37 (M2) et de 75,7 (P3) à 86,20 (P2), indiquant que tous les miels et les pommades sont relativement foncés.



**Figure 4 :** Couleur  $L^*a^*b^*$  des miels et des pommades analysés.

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

$L^*$ (100, blanc ; 0, noir),  $a^*$ (+, rouge ; -, vert) et  $b^*$ (+, jaune ; -, bleu).

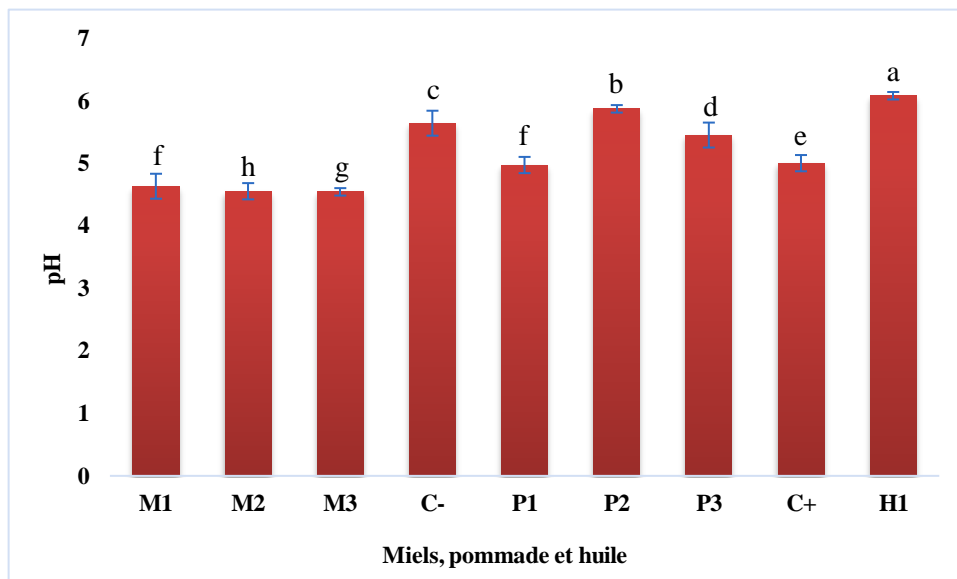
L'analyse de l'ANOVA révèle que tous les échantillons de miel et de pommades sont significativement différents pour l'intensité de couleur  $L^*a^*b^*$  ( $p<0.05$ ).

Les résultats de luminosité ( $L^*$ ) des miels obtenus sont supérieurs à ceux rapportés par **Pauliuc et al. (2020)** et **Guenaoui et al. (2024)** sur les miels Roumains et Algériens (34,4 et 46,1 ; 38,18 et 58,72), respectivement.

#### II.4. pH

Les valeurs de pH mesurées des miels, des pommades et d'huile sont illustrées dans la figure 5. Les miels et les pommades analysés sont acides et l'intervalle de pH déterminée est de 4,55 (M3) à 4,64 (M1) et de 4,98 (P1) à 5,88 (P2). Les résultats indiquent que les échantillons sont des mélanges de miels de nectar et de miellat ( $pH > 4,5$ ). L'huile H1 enregistre un pH proche de la neutralité qui est de 6,09. L'analyse statistique ANOVA révèle que tous les miels, les pommades et l'huile sont significativement différents pour ce paramètre.

Les résultats des miels rentrent dans l'intervalle (3,99 et 6,95) rapporté par **Lakhmili et al. (2024)** sur les miels marocains.



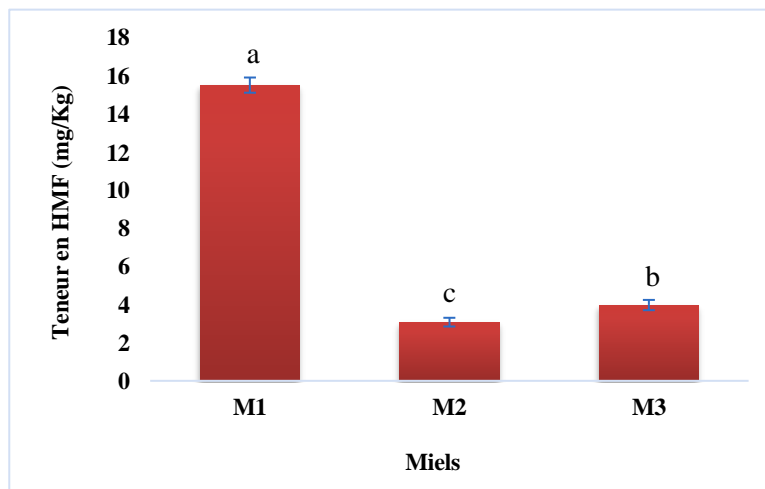
**Figure 5 :** pH des miels, des pommades et d'huile analysés.

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

Les variations de pH sont influencées par l'origine botanique, la nature du sol et la dégradation du glucose en acide gluconique (**Bogdanov *et al.*, 2004**).

## II.5. HMF

La teneur en HMF des miels analysés, présentée dans la figure 6, varie de 3,09 (M2) à 15,57 (M1), loin de la limite maximale de 40 mg/kg fixée par la directive **2001/110/CE** du conseil de l'union européen relative au miel. Donc ils sont frais (ils n'ont pas subi de chauffage ni de stockage prolongé).



**Figure 6 :** Teneur en HMF des miels analysés.

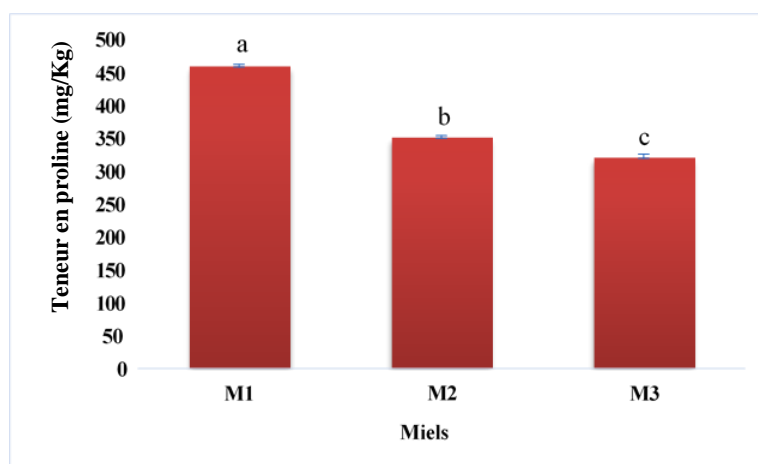
Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne  $\pm$  l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

L'analyse ANOVA montre que tous les miels sont statistiquement différents ( $p < 0.05$ ).

Les résultats obtenus sont proches aux résultats rapportés par **Yeboue *et al.* (2021)** et **Guenaoui *et al.* (2024)** sur les miels de Côte d'Ivoire et d'Algérie (10,18 à 166,14 mg/kg ; 1,90 à 8,98 mg/Kg), respectivement.

## II.6. Teneur en proline

La proline, étant un acide aminé ajouté par l'abeille, représente un indicateur de maturité et d'authenticité du miel.



**Figure 7 :** Teneur en proline des miels analysés.

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

La teneur en proline des miels (figure7) est comprise entre 320,88 (M3) et 460,09 mg/kg (M1), au-dessus de la valeur minimale recommandée pour le miel de qualité **2001/110/CE** (180 mg/kg),

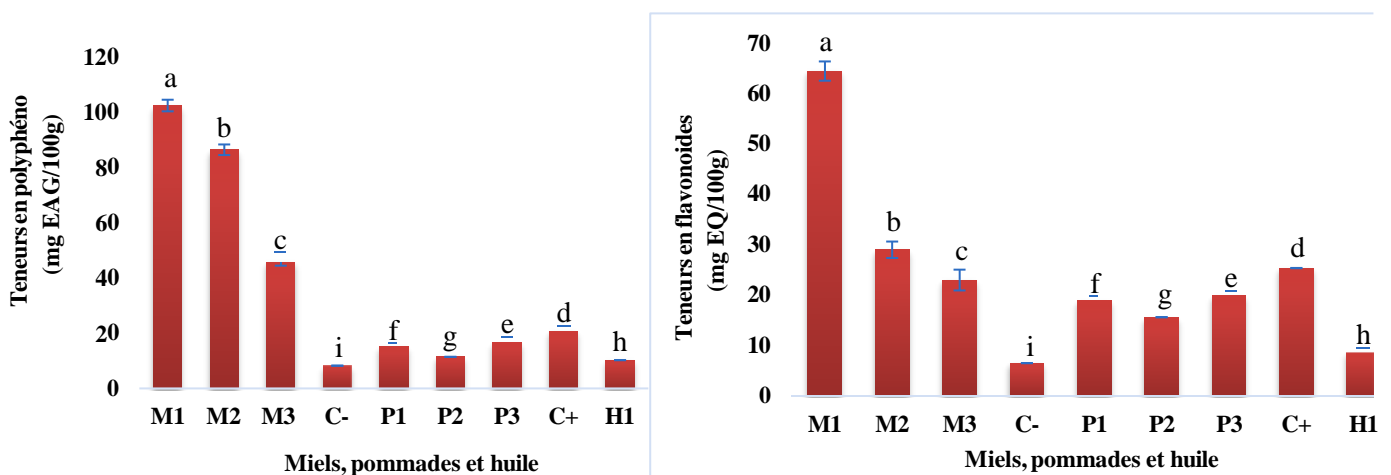
confirmant ainsi la maturité des échantillons de miels analysés. L'analyse de la variance révèle que tous les miels sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) pour le taux en cet acide aminé.

Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux rapportés par **Amessis-Ouchemoukh *et al.* (2021)** sur les miels Algériens (731,27 et 3730,90 mg/kg).

La variabilité de la teneur en proline des miels est influencée par l'origine du pollen et la force de la colonie d'abeilles (**Ouchemoukh, 2012**).

### III. Teneur en antioxydants

Les résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des miels, des pommades et d'huile obtenus sont illustrés dans la figure 8.



**Figure 8 :** Teneur en polyphénol et en flavonoïde des miels, des pommades et d'huile analysés.

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

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des miels analysés varie de 45,73 (M3) à 102,34 mg EAG/100 g (M1) et de 28,98 (M3) à 64,38 mg EQ/100 g (M1), respectivement. Celle des pommades oscille de 11,42 (P1) à 18,45 mg EAG/100 g (P3) et de 11,42 (P2) à 16,75 mg EQ/100 g (P3), respectivement. L'huile enregistre un taux de 10,24 mg EAG/100 g pour les polyphénols totaux et 8,67 mg EQ/100 g pour les flavonoïdes. L'analyse ANOVA révèle que tous les échantillons de miels sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) pour les composés phénoliques.

Les résultats des miels obtenus sont proches à ceux rapportés **Al Farsi *et al.* (2018)** sur les miels Omanais. Egalement, les résultats d'huile sont inférieurs à ceux enregistrés par **Nawirska-Olszanska *et al.* (2013)**.

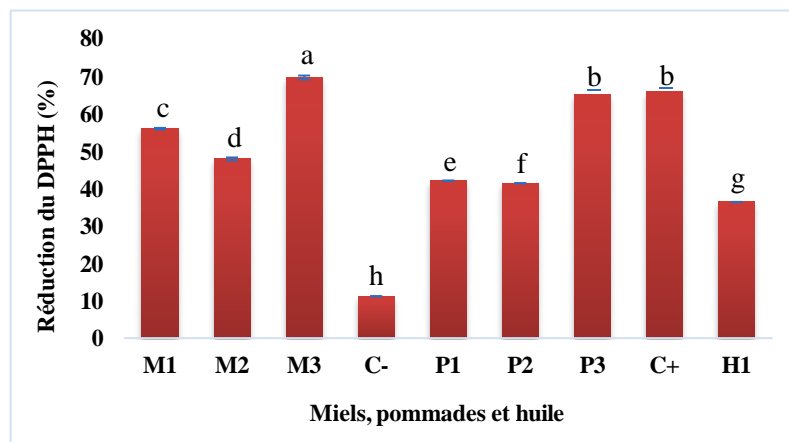
**García *et al.* (2020)** ont rapporté que la variété de ces composés phénoliques dépend de l'origine botanique, des facteurs climatiques et environnementaux tels que l'humidité, la température et la composition du sol.

## IV. Activités biologiques

### IV.1. Activités antioxydantes

#### IV.1.1. Pouvoir anti-radicalaire de DPPH

Les résultats de l'activité réductrice du radical DPPH des miels, des pommades et d'huiles obtenus sont présentés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels, des pommades et d'huile analysés.

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

Le pourcentage de réduction du radical DPPH par les miels analysés varie de 48,08 (M2) à 69,91 % (M3). Pour les pommades, il oscille de 41,56 (P2) à 65,25 % (P3). L'huile enregistre un taux de réduction de 36,52 %.

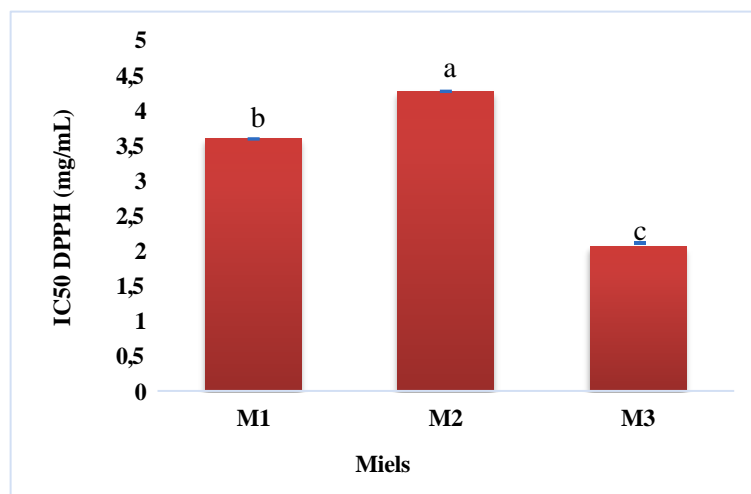
Le miel M3 a plus de substances qui réduisent le radical DPPH en libérant un proton, ce qui fait passer la couleur de violette à jaune pâle par rapport aux autres miels, conférant ainsi la bonne activité anti-radicalaire pour la pommade P3. L'analyse de la variance révèle un seul groupe homogène formé par les pommades P3 et C+ indiquant l'absence de différence significative entre eux.

L'intervalle de valeurs des miels et d'huile obtenues est incluse dans ceux rapportés par **Otmani *et al.* (2021)** sur les miels Algériens (8,97 et 57,44 %) et par **Potocnik *et al.* (2018)** (31,4 et 70,60 %), respectivement.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> DPPH des miels analysés révèlent la concentration de miel qui a provoqué 50 % de piégeage des radicaux libres (figure 10). Elles varient de 2,06 (M3) à 4,28 mg/mL (M2). L'analyse ANOVA montre que tous les miels sont significativement différents ( $p < 0.05$ ).

Les valeurs obtenues sont inférieures à celles obtenues par **Bouhala *et al.* (2020)** et d'**Otmani *et al.* (2021)** sur les miels d'Algérie.

Les variations du pouvoir anti-radicalaire par le DPPH des miels dépendent de l'origine botanique, de la quantité du pollen et des concentrations élevées en acides hydroxycinnamiques tels que les acides caféique, férulique, sinapique, p-coumarique et cinnamique (**Tahir *et al.*, 2017**). Par conséquent, le miel M3 pourrait avoir ces acides.



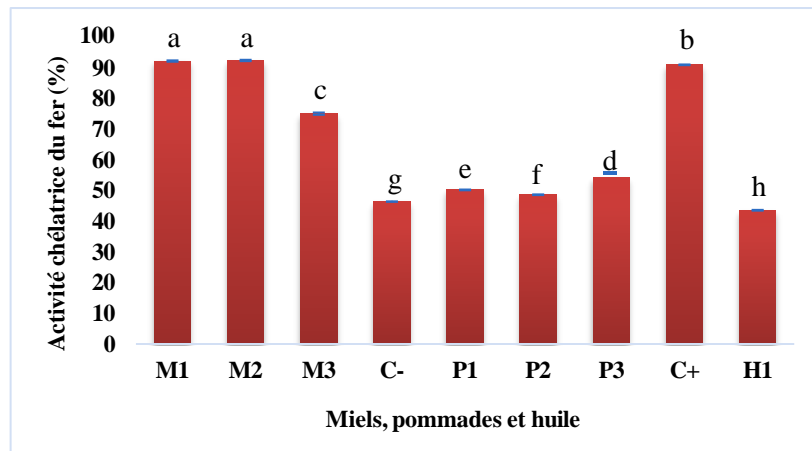
**Figure 10 :** Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés exprimé en IC<sub>50</sub>.

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

#### IV.1.2. Pouvoir chélateur de fer (Ferrozine)

Les résultats de l'activité chélatrice du fer des miels, des pommades et d'huile sont illustrés dans la figure 11.

Les miels analysés montrent une activité chélatrice du fer qui varie de 75,11 (M3) à 92,46 % (M2), indiquant que la formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine est complète. Le miel M2 inhibe beaucoup plus la formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine par rapport aux autres miels d'où la diminution importante de la couleur rose. Les pommades révèlent une activité chélatrice du fer qui oscille entre 48,67 (P2) et 54,14 % (P3). Ces faibles valeurs indiquent que la formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine n'est pas complète en comparant à celle enregistrée par la pommade C+ qui est de 91,04 %.



**Figure 11** : Pouvoir chélateur de fer des miels, des pommades et d'huile analysés.

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

L'analyse ANOVA révèle que les miels M1 et M2 ne sont pas statistiquement différents ( $p < 0,05$ ).

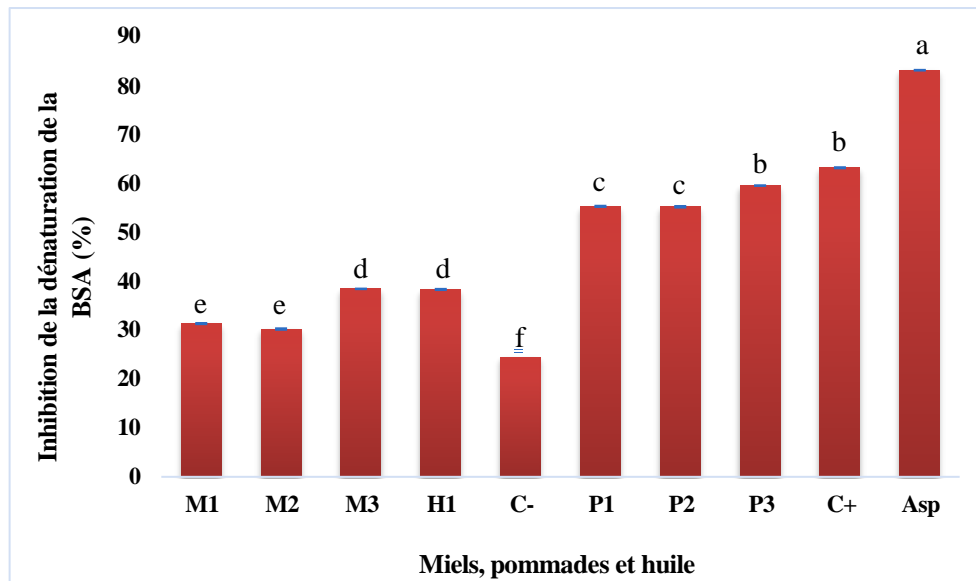
Les valeurs de miels obtenues rentrent dans l'intervalle (1 et 96 %) rapporté par **Otmani et al. (2021)** sur les miels Algériens.

D'après **Amessis-Ouchemoukh (2014)**, les substances phénoliques telles que les acides férulique et caféique, la quercétine, le kampférol et la naringénine ont la capacité de complexer et de stabiliser les ions métalliques de transition qui dû au fort caractère nucléophile de leurs cycles aromatiques, ceci indique la présence de ces composés phénoliques dans les miels analysés.

## IV.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

### IV.2.1. Inhibition de la dénaturation de la BSA

D'après **Otmani et al. (2021)**, la dénaturation des protéines telles que la BSA (Albumine de sérum bovin) se produit lors de l'inflammation (la polyarthrite rhumatoïde) et son inhibition causée par la chaleur fait partie du mode d'action anti-inflammatoire du miel, d'huile et de pommades. Les résultats des échantillons analysés ainsi que le contrôle (aspirine) pour inhiber la dénaturation de la BSA sont présentés dans la figure 12.



**Figure 12 :** Pouvoir inhibiteur de la dénaturation de la BSA des miels, de l'huile, des pommades et de l'aspirine exprimé %.

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

Tous les échantillons de miel et de pommade analysés montrent une capacité d'inhibition de la dénaturation de la BSA et les résultats obtenus varient de 30,28 (M2) à 38,49 % (M3) et de 55,39 (P2) à 59,64 (P3). Le miel M3 et la pommade P3 enregistrent les pourcentages les plus grands indiquant une meilleure activité anti-inflammatoire en inhibant la dénaturation de la BSA par rapport aux autres échantillons. Le test ANOVA révèle l'existence de trois groupes homogènes (M1 et M2), (P1 et P2) et (P3 et C+) signifiant l'absence de différence significative entre eux par rapport aux autres échantillons.

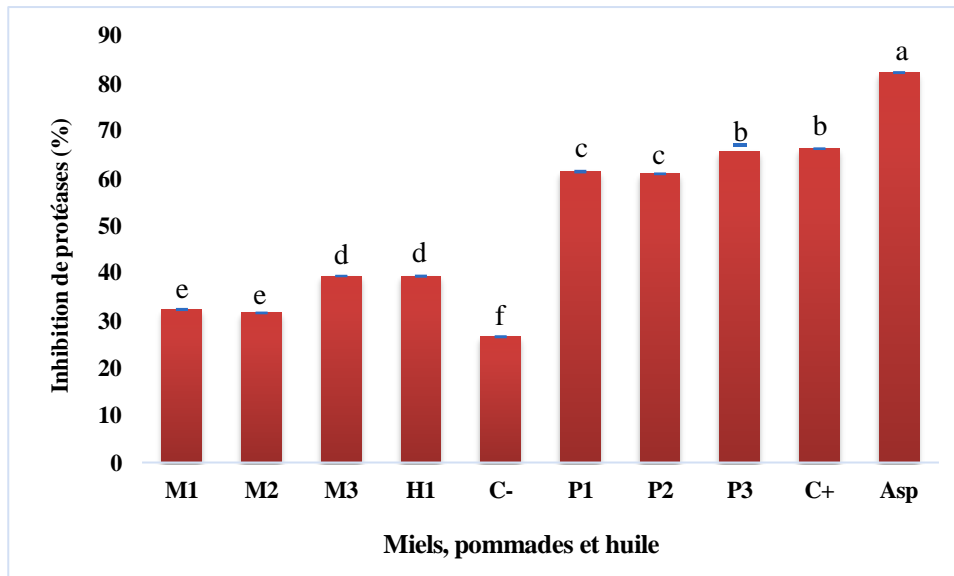
L'échantillon de l'huile des graines de la citrouille enregistre un pourcentage d'inhibition de 38,37 % qui est proche à celui enregistré par **Yadav et al. (2018)**.

La capacité anti-inflammatoire des échantillons analysés est due à leurs teneur en composés phénoliques, essentiellement en flavonoïdes (quercitrine, kaempférol, lutéoline, apigénine, chrysine, isorhamnétine, myricétine et rutine...) qui sont souvent suggérés comme source naturelle pour contrôler les maladies inflammatoires chroniques (**Jiang et al., 2017 ; Chen et al., 2019**).

La variabilité de la capacité des miels à inhiber la dénaturation de la BSA peut être liée à leur source florale et leur teneur en composés phénoliques (**Liu et al., 2013**).

#### IV.2.2. Activité inhibitrice des protéases

Le potentiel anti-inflammatoire de différents échantillons analysés (miels, huile et pommades) via leur capacité à inhiber la trypsine qui est une protéase impliquée dans certains processus inflammatoires est illustré dans la figure 13.



**Figure 13 :** Pouvoir inhibiteur des protéases des miels, de l'huile, des pommades et de l'aspirine exprimé %.

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

Les miels enregistrent un pouvoir inhibiteur des protéases qui varie de 31,59 (M2) à 39,39 % (M3), les pommades élaborées révèlent des pourcentages d'inhibition entre 60,97 (P2) et 65,64 % (P3). Cette dernière enregistre un pourcentage proche de celui enregistré par la pommade commerciale (66,28 %). Egalement, l'huile des graines de la citrouille enregistre une inhibition de 39,36 %. Tous les résultats obtenus indiquent une activité inhibitrice modérée à élevée, suggérant un potentiel anti-inflammatoire notable, en particulier pour la pommade P3, qui résulte d'un mélange de miel et d'huile, dont l'inhibition dépasse 45 %.

L'analyse statistique révèle quatre groupes homogènes (M1 et M2), (M3 et H1), (P1 et P2) et P3 et C+) indiquant l'absence de différence significative entre eux pour cette analyse.

Le pouvoir inhibiteur de la trypsine observé dans les différents échantillons analysés est principalement attribué à la présence de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes (quercétine, chrysin, apigénine...) et les acides phénoliques (acide caféique, gallique, férulique...). Ces substances possèdent une capacité à interagir avec les enzymes inflammatoires, bloquant leur activité. En effet, les travaux d'Ouchemoukh *et al.* (2017) et de Dotto et Chacha (2020) ont rapporté la présence de ces substances bioactives dans les miels Algériens et l'huile des graines de la citrouille, respectivement.

### IV.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FMAT)

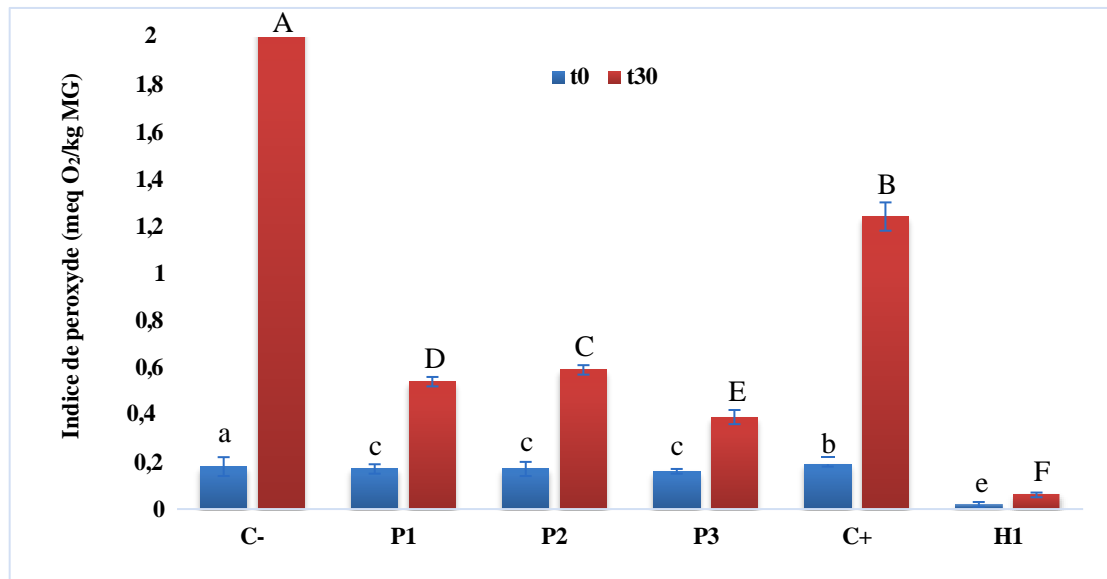
Les résultats de l'analyse microbiologie montrent que les trois formulations de pommades à base de miel (P1), d'huile (P2) et d'un mélange miel et l'huile (P3) ont démontré une excellente stabilité microbiologique. En effet, aucun dénombrement de colonies aérobies ni de levures est détecté sur les boîtes pour l'ensemble des formulations, y compris le témoin positif (C+). Cependant, la pommade témoin négatif (C-) révèle la présence de quatre colonies blanchâtres et ce résultat est inférieur à la loi de dénombrement des colonies qui doit être entre 20 et 300 colonies, indiquant ainsi que même le contrôle négatif est considéré comme stable de côté microbiologie. Les résultats des pommades obtenus sont conformes aux limites de contamination microbiologique établies par la FDA (Food and Drug Administration) et la Pharmacopée des États-Unis (USP), soit moins de 1000 UFC/g pour les zones non oculaires et moins de 10<sup>2</sup> UFC/g pour les zones oculaires, seuils au-delà desquels il existe un risque de pathologies cutanées. Cette stabilité s'explique notamment par la faible teneur en eau et la pression osmotique élevée dans les trois formulations, créant ainsi un environnement défavorable à la croissance des levures et des bactéries.

Par ailleurs, l'huile des graines de la citrouille et le miel pourraient exercer un effet synergique, renforçant l'effet antimicrobien de l'huile végétale déjà présente. Une étude menée par **Dotto et Chacha** en **2020** a révélé que les dérivés des graines de la citrouille (poudre ou huile) sont capables d'inhiber la croissance de certaines souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus wernerii*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*) et fongiques (*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Mycosphaerella arachidicola* and *Mycosphaerella oxysporum*). En outre, les composés phénoliques du miel, son acidité élevée, son pH bas, sa faible activité de l'eau ainsi que la présence de peroxyde d'hydrogène, de glyoxal, de 3-désoxyglucosulose et de méthylglyoxal (MGO) pourraient également contribuer à son activité antimicrobienne globale (**Brudzynski et al., 2017**).

## V. Stabilité oxydative

### V.1. Indice de peroxyde (IP)

La figure 14 illustre les résultats de l'indice de peroxyde (IP) de l'huile des graines de la citrouille et des pommades élaborées ainsi que les contrôles négatif (C-) et positif (C+) à t<sub>0</sub> et après 30 jours de stockage à 4 °C (t<sub>30jours</sub>).



**Figure 14 :** Indice de peroxyde de l'huile et des pommades à t<sub>0</sub> et t<sub>30jours</sub>.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne  $\pm$  l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les lettres minuscules désignent l'analyse statistique entre les échantillons à t<sub>0</sub> et les lettres majuscules désignent l'analyse statistique entre les échantillons à t<sub>30jours</sub>. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

Les valeurs d'IP obtenues sont trop loin de la limite maximale de la norme **NE.1.2.98/88** ( $\leq 10$  meq O<sub>2</sub>/kg MG). Les valeurs nulles de l'IP indiquent que les matières premières (matière grasse) utilisées sont de bonne qualité. L'augmentation proportionnelle de l'IP à partir de 30 jours de stockage est observée avec l'élévation de la durée de stockage qui correspond à la formation des peroxydes à partir des acides gras insaturés lors de l'hydrolyse. Les pommades élaborées P1, P2 et P3 enregistrent des valeurs d'IP inférieures à ceux enregistrées par les deux contrôles négatif et positif avec une fréquence de P2>P1>P3 indiquant que l'ajout de miel freine l'oxydation des lipides et retarde la formation des peroxydes et donc lui confère une stabilité oxydative prolongée durant le stockage.

L'analyse statistique révèle à t<sub>0</sub> un groupe homogène formé par les pommades P1, P2 et P3 qui ne présente aucune différence significative entre eux, tandis que à t<sub>30jours</sub> tous les échantillons sont statistiquement différents.

## V.2. Détermination des diènes et triènes conjugués

Les résultats du test UV des pommades additionnées de miel (P1), d'huile (P2) et de mélange de miel et d'huile (P3), les contrôles négatif (C-) et positif (C+) ainsi que l'huile (H1) sont illustrés dans la tableau IV.

**Tableau V:** Suivi des diènes et triènes conjuguées des pommades et d'huile à  $t_0$  et  $t_{30\text{jours}}$ .

	Diènes conjuguées $K_{233}$		Triènes conjuguées $K_{270}$	
	4 °C		4 °C	
	$t_0$	t 30 jours	$t_0$	t 30 jours
<b>C-</b>	0,165±0,01 <sup>a</sup>	0,267±0,02 <sup>a</sup>	0,124±0,04 <sup>a</sup>	0,137±0,02 <sup>a</sup>
<b>P1</b>	0,154±0,22 <sup>b</sup>	0,162±0,02 <sup>c</sup>	0,112±0,04 <sup>b</sup>	0,112±0,02 <sup>c</sup>
<b>P2</b>	0,155±0,03 <sup>b</sup>	0,164±0,02 <sup>c</sup>	0,115±0,01 <sup>c</sup>	0,116±0,01 <sup>b</sup>
<b>P3</b>	0,152±0,01 <sup>b</sup>	0,158±0,02 <sup>c</sup>	0,090±0,01 <sup>e</sup>	0,098±0,02 <sup>d</sup>
<b>C+</b>	0,141±0,01 <sup>c</sup>	0,232±0,03 <sup>b</sup>	0,103±0,01 <sup>d</sup>	0,129±0,02 <sup>a</sup>
<b>H1</b>	0,088±0,01 <sup>d</sup>	0,094±0,01 <sup>d</sup>	0,074±0,01 <sup>f</sup>	0,081±0,01 <sup>e</sup>

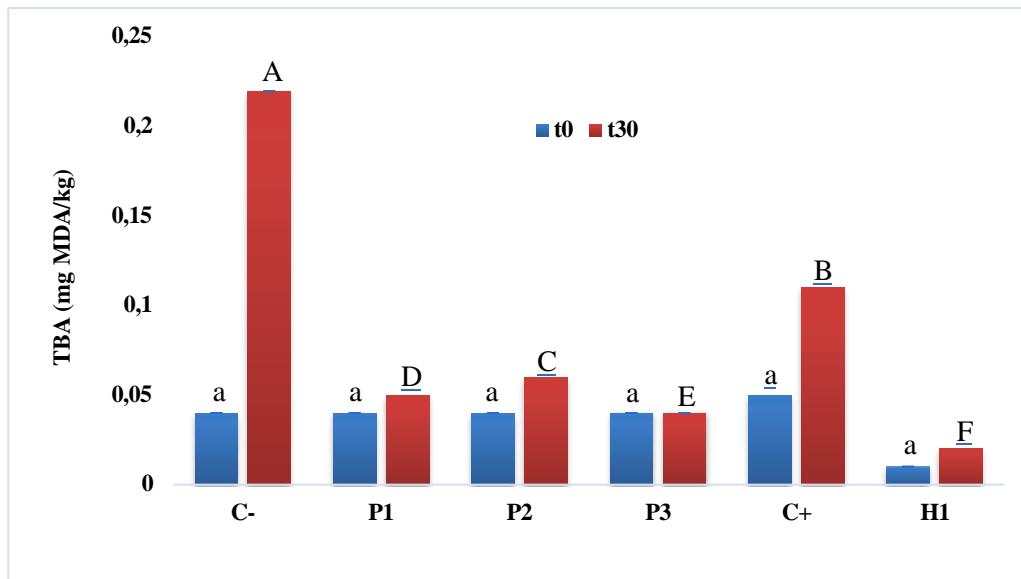
Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne  $\pm$  l'écart type ( $n=3$ ). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres dans la même colonne ne sont pas statistiquement différentes.

La quantité des diènes conjugués ( $K_{233}$ ) à 4 °C des pommades varient de 0,152 (P3) à 0,155 (P2) à  $t_0$  et de 0,158 (P3) à 0,164 (P2) après 30 jours de stockage. Egalement, les valeurs de diènes conjugués de l'huile à  $t_0$  et  $t_{30\text{jours}}$  oscillent de 0,088 à 0,094, respectivement. Cependant, les contrôles négatif et positif présentent des quantités de diènes conjugués supérieures aux pommades formulées. Les résultats obtenus révèlent une augmentation progressive des diènes conjugués dans l'ensemble des échantillons de pommades au cours de la période de stockage, avec une dégradation particulièrement marquée dans les témoins. La teneur élevée en diènes conjugués témoigne d'un processus oxydatif important affectant la matière grasse de la pommade. L'évolution des triènes conjugués ( $K_{270}$ ) dans les différents échantillons de pommades suit une tendance similaire à celle observée pour les diènes conjugués. De manière générale, les valeurs enregistrées pour les triènes sont en accord avec celles de l'indice de peroxyde et des diènes conjugués, traduisant une même dynamique oxydative.

L'analyse statistique montre une absence de différence significative entre les pommades P1, P2 et P3 et entre C- et C+ pour les diènes et triènes conjuguées, respectivement.

### V.3. Test TBARS

Les valeurs de MDA pour les échantillons de pommades et d'huile pendant le stockage sont présentées dans la figure 15.



**Figure 15 :** Valeurs de MDA des pommades et d'huile analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne  $\pm$  l'écart type ( $n=3$ ). Les barres verticales représentent les écarts types. Les lettres minuscules désignent l'analyse statistique entre les échantillons à  $t_0$  et les lettres majuscules désignent l'analyse statistique entre les échantillons à  $t_{30\text{jours}}$ . Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes.

La détection de MDA dans les pommades produites est quantifiée à partir de 30 jours de stockage. Il varie de 0,04 (P3) à 0,06 mg MDA/kg (P2), tandis que les valeurs de MDA de l'huile n'ont pas changé pendant le stockage de 0,01 à 0,02 mg MDA/kg à  $t_0$  et  $t_{30\text{jours}}$ , respectivement. Cependant, ce composé est apparu dans la pommade témoin négatif (C-) à partir de 30 jours d'entrepôt. Les valeurs obtenues indiquent que les pommades P1 et P3 contenant le miel accumulent moins de substances MDA par rapport aux pommades P2 et C+. Donc, le miel empêche l'oxydation des acides gras insaturés et donc la formation de MDA, ceci signifie que le miel contribue efficacement à la stabilité oxydative des pommades.

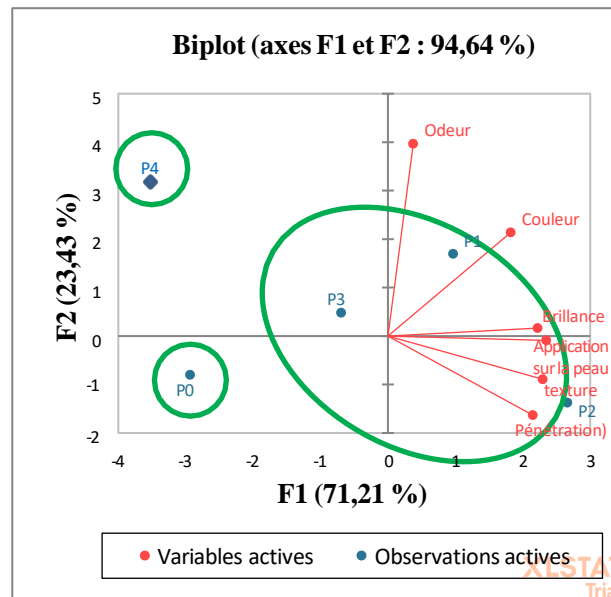
L'analyse ANOVA révèle l'absence de différence significative entre tous les échantillons à  $t_0$  et à  $t_{30\text{jours}}$  tous les échantillons sont statistiquement différents.

## VI. Evaluation sensorielle

La caractérisation sensorielle des pommades témoin négatif et additionnées de miel et/ou de l'huile des graines de citrouille produites à l'échelle laboratoire en comparaison avec la pommade commerciale, est effectuée par un panel expert composé de 12 jurys qualifiés.

## VI.1. Cartographie des préférences interne

La cartographie des préférences internes repose sur l'analyse des composantes principales (ACP) afin d'identifier les produits les plus appréciés par les consommateurs. Elle produit une carte des produits sur laquelle les préférences des consommateurs ou des groupes de consommateurs sont identifiées par des vecteurs. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 16.



**Figure 16 :** ACP des pommades.

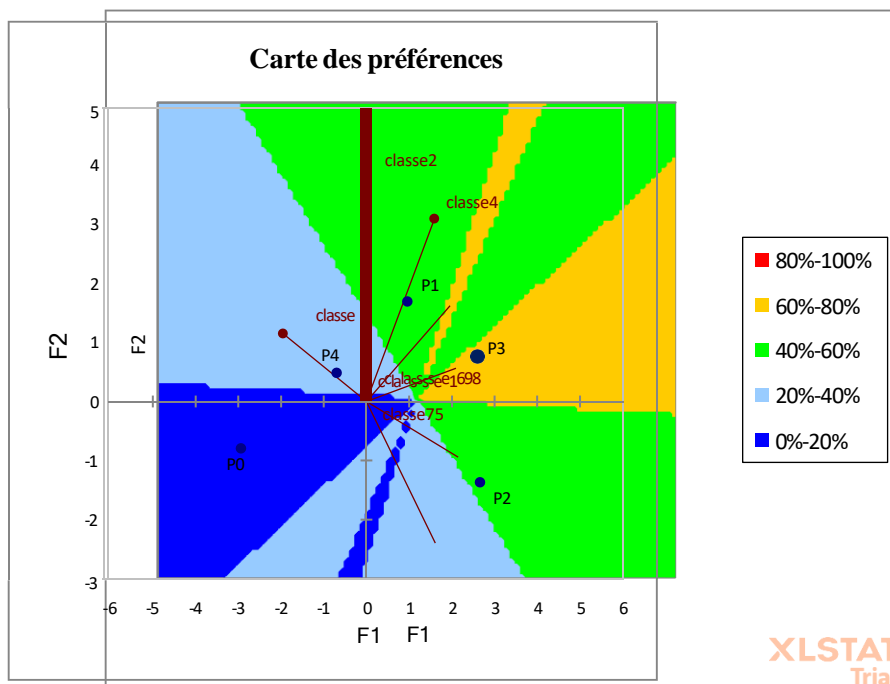
P0 : pommade contrôle négatif (C-), P1, P2 et P3 : pommades enrichies en miel, en huile de citrouille et en mélange de miel et d'huile de la citrouille, respectivement, P4 : pommade contrôle positif (C+).

La figure 16 présente les différentes pommades soumises à l'analyse. L'analyse en composantes principales (ACP) a révélé deux composantes principales, CP1 et CP2, qui expliquent ensemble 94,64 % de la variance totale observée. La première composante (CP1), à elle seule, rend compte de 71,21 % de la variabilité des données et permet de distinguer trois groupes principaux de pommades. Le premier groupe est constitué des pommades P1, P2 et P3, réparties respectivement dans les quadrants supérieur droit (P1), inférieur droit (P2) et supérieur gauche (P3). Ces formulations se distinguent par une texture agréable, une bonne capacité d'étalement, une brillance attrayante ainsi qu'une excellente pénétration cutanée. Les deux autres groupes, représentés par les pommades P0 et P4, sont situés respectivement dans les quadrants gauches inférieur et supérieur. Leur position éloignée des descripteurs sensoriels positifs reflète une moindre appréciation de la part du panel, en particulier sur les critères évalués.

Les résultats obtenus mettent en évidence l'importance des caractéristiques sensorielles (couleur, brillance, odeur, texture et application cutanée) dans la perception de la qualité des pommades, influençant directement leur acceptabilité par les utilisateurs et leur potentiel de commercialisation.

## VI.2. Cartographie des préférences externes (PREFMAP)

La méthode PREFMAP est appliquée en utilisant les coordonnées des pommades dans l'espace factoriel bidimensionnel et les évaluations fournies par les experts. Les jurys ont différencié les pommades avec 94.64 % de la variabilité expliquée par les deux composantes CP1 et CP2 (Figure 16). La CP1 est caractérisée l'ensemble des descripteurs. La cartographie PREFMAP illustrée à la figure 17 montre le pourcentage de préférence des pommades dans un graphique en courbes de niveau.



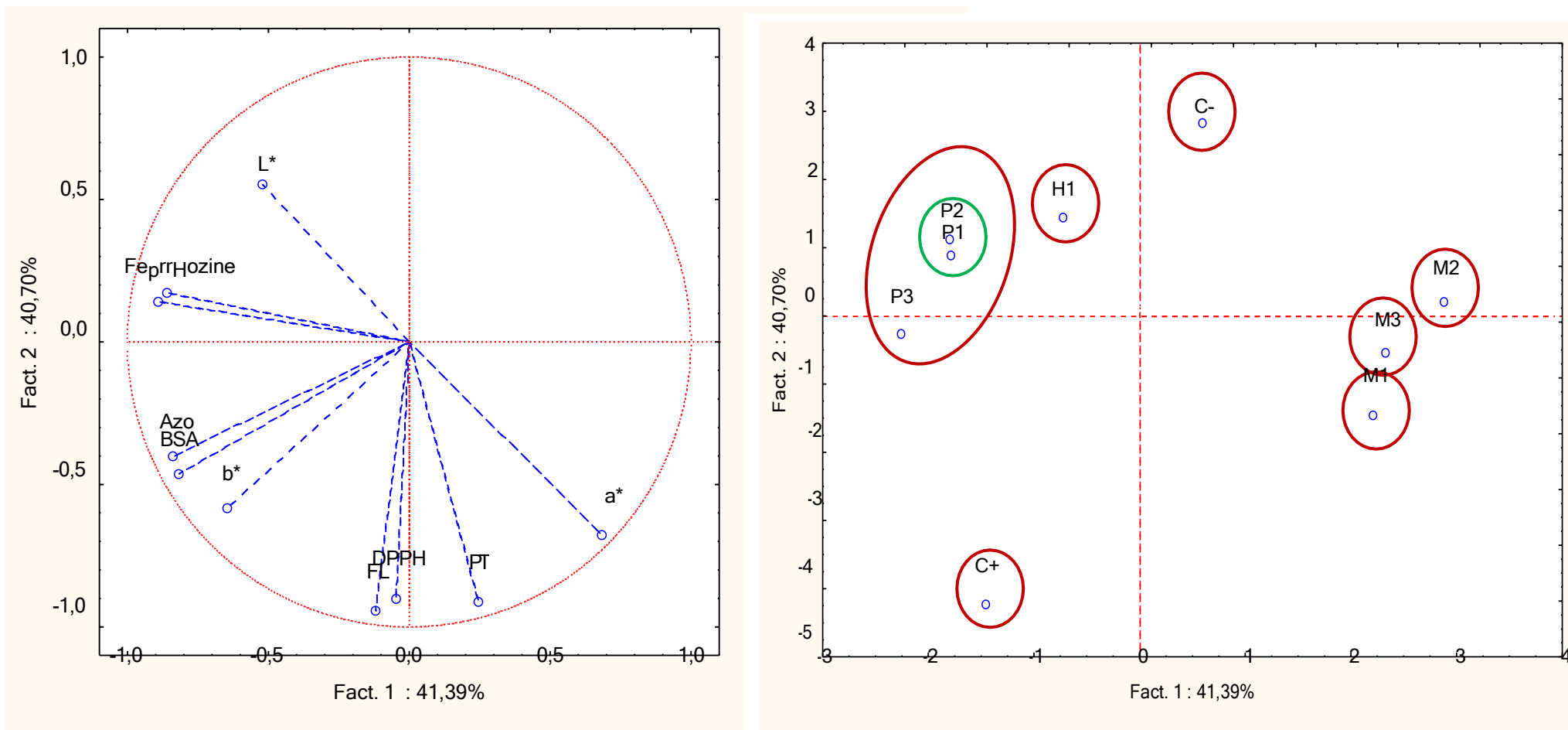
**Figure 17 :** Cartographie des préférences externes (PREFMAP).

À partir de la figure 17, il ressort que les pommades P1 et P3 se situent dans la fourchette de 60 à 80 % des préférences exprimées par les jurys, avec des taux de satisfaction respectifs de 67 % et 74 %. Ces résultats indiquent que ces deux formulations sont les plus appréciées et les plus plébiscitées par le panel. La pommade P2, localisée dans la zone verte du graphique, présente un taux de préférence compris entre 40 et 60 %, avec un pourcentage de satisfaction de 54 %. Cela suggère qu'elle est modérément acceptée, mais reste la moins appréciée parmi les trois formulations principales. En revanche, les pommades P0 et P4, positionnées respectivement dans les zones bleu clair et bleu foncé du graphique, enregistrent des taux de préférence plus faibles, compris entre 20 et 40 % pour P0 (satisfaction de 33 %) et entre 0 et 20 % pour P4 (satisfaction de 11 %). Ces faibles scores traduisent une nette absence de préférence de la part des jurys pour ces deux formulations.

## VII. Analyse des composantes principale (ACP)

L'analyse en composantes principale (ACP), un procédé statistique, est utilisée pour analyser et identifier les échantillons de miels, d'huile et de pommades qui ont des caractéristiques similaires à partir d'un nombre de neuf différents échantillons (figure 18). Elle explique 82.09 % de la variance. La composante principale (CP-1 ; 41.39 %) représente dans la partie positive la teneur en polyphénol et la couleur  $a^*$ , tandis que la partie négative présente la teneur en flavonoïdes, l'activité anti-radicalaire DPPH, l'activité chélatrice du fer, la couleur  $b^*$ , la luminosité  $L^*$ , le pH et les activités anti-inflammatoires (test de la dénaturation de la BSA et l'activité inhibitrice des protéinases). Cependant, la CP-2 (40.70 %) illustre l'activité chélatrice du fer, le pH et la luminosité  $L^*$  dans la partie positive, tandis que sa partie négative représente les teneurs en polyphénol et en flavonoïdes, la couleur  $a^*$  et  $b^*$  ainsi que les activités biologiques *in vitro* (antioxydante par le test de DPPH et anti-inflammatoire par les tests BSA et azocaséine).

La discrimination par CP1 montre sept groupes et un seul sous-groupe d'échantillons de pommades. Un groupe formé de la pommade contrôle négatif (C-), localisé dans le quadruplet droit en haut de la partie positive. Il est caractérisé par les faibles teneurs et activités enregistrées dans l'ensemble des tests. Deux groupes formés par les miels M2 et M3, présents dans le milieu de la partie positive qui ont enregistré également des valeurs proches et faibles dans l'ensemble des tests par rapport aux autres échantillons à l'exception du groupe formé par le miel M1. Ce dernier est situé dans le quadruplet inférieur droit de la partie positive proche du groupe formé par la pommade contrôle positif (C+) situé dans le quadruplet inférieur gauche de la partie négative. Ils sont caractérisés par les meilleures valeurs en composés phénoliques (en polyphénol et en flavonoïde) et en activité anti-radicalaire (test DPPH). Egalement, la pommade C+ se caractérise par la couleur  $b^*$  et les meilleures activités anti-inflammatoires par rapport aux autres échantillons. De plus, un autre groupe localisé dans le milieu de la partie négative formé par les trois pommades élaborées P1, P2 et P3 est caractérisée non seulement par les meilleures activités anti-inflammatoires *in vitro* (les activités inhibitrices de la BSA et des protéinases) mais aussi par la meilleure activité chélatrice du fer. A l'intérieur de ce groupe, il existe un seul sous-groupe formé par les deux pommades P1 (à base de miel) et P2 (à base d'huile) qui partagent des valeurs proches en termes d'activité chélatrice du fer, des activités anti-inflammatoires *in vitro* et la couleur  $L^*$ . Le dernier groupe se localise au centre du quadruplet supérieur gauche de la partie négative, formé par l'échantillon d'huile, montre des faibles valeurs en termes de l'ensemble des analyses effectuées par rapport aux autres échantillons de miel et de pommade.



**Figure 18:** ACP des paramètres physicochimiques, teneurs en antioxydant et activités biologiques des miels, pommades et huile

# **Conclusion**

## Conclusion et perspectives

Le présent travail constitue une contribution concrète à la valorisation scientifique et technologique de deux ressources naturelles locales à savoir le miel et l'huile de graines de citrouille en vue du développement de formulations dermique à visée thérapeutique. L'objectif principal est de caractériser ces deux ingrédients à travers une approche physico-chimique et biologique, puis de les intégrer dans des pommades formulées et de les évaluer selon des propriétés physico-chimiques, des dosages des composés phénoliques, des propriétés biologiques et sensoriels.

L'analyse pollinique révèle la présence d'un échantillon monofloral (M3) à dominance *Fabaceae* et deux échantillons polyfloraux, soulignant la diversité florale des miels de la région de Béjaïa. Les résultats des paramètres physico-chimiques des miels, d'huile ainsi que des pommades formulées montrent que tous les miels sont frais et mature ( $[HMF] < 40$  mg/kg et  $[Proline] > 180$  mg/kg) et l'huile des graines de citrouille, extraite par pression à froid, et les pommades élaborées sont également de bonnes qualités. Les teneurs en polyphénol et en flavonoïdes obtenues varient entre 45,73 (M3) à 102,34 mg EAG/100 g (M1) et 28,98 (M3) à 64,38 mg EQ/100 g (M1), entre 10,24 mg EAG/100 g et 8,67 mg EQ/100 g et entre 11,42 (P1) à 18,45 mg EAG/100 g (P3) et 11,42 (P2) à 16,75 mg EQ/100 g (P3) pour les miels, l'huile et les pommades formulées, respectivement. Egalement, tous les miels, l'huile et toutes les pommades possèdent une capacité de piégeage des radicaux libres DPPH, une activité chélatrice du fer (Ferrozine) et un pouvoir d'inhiber la dénaturation de la BSA et les protéinases. Le choix de l'incorporation de miel monofloral M3 dans les formulations de pommade est en raison de sa valeur la plus basse de test  $IC_{50}$  DPPH (2,06 %).

L'addition de miel M3 et d'huile des graines de citrouille confèrent aux pommades des composés phénoliques ce qui justifie leurs potentiels antioxydant et anti-inflammatoire *in vitro* et leur stabilité microbiologique. Le suivi des tests de l'évaluation de la stabilité oxydative des pommades par les tests IP, diènes et triènes conjuguées et TBA montrent que les pommades miel P1 et P3 sont plus stables et ne sont pas oxydées durant les 30 jours de stockage. La cartographie externe des préférences (PREFMAP) révèle qu'uniquement la pommade P3 est la plus préférée par les experts avec un pourcentage de satisfaction de 74 % suivi des pommades P1 et P2, respectivement avec un pourcentage de 67 et 54 % et les pommades P0 (C-) et P4 (C+) sont les moins préférées (33 et 11 %, respectivement). La discrimination de tous les échantillons par ACP révèle un groupe homogène formé par les pommades élaborées P1, P2 et P3 et à l'intérieur de ce groupe un sous-groupe est représenté par les pommades P1 et P2 indiquant absence de différence significative entre elles. Les résultats de cette étude suggèrent que le miel et l'huile des graines de la citrouille ont un grand potentiel en tant que des ingrédients rentrant dans des nouvelles formulations à usage médical. Il est souhaitable de compléter le présent travail par :

- ❖ Etude du profil des composés phénoliques des miels Algériens.
- ❖ Etude *in vivo* des pommades élaborées sur des souris.
- ❖ Etude de l'évaluation de la tolérance et de la toxicité cutanée des pommades élaborées.

**Références**  
**bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Al M L, Daniel D, Moise A, Bobis O, Laslo L, Bogdanov S. Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*;2009; 112: 863-867.
- Albu A, Frunză G, Zaharia R, Pop IM. Estimation of some quality parameters of honey. *Journal of Agricultural Sciences*; 2020; 75(2): 145-158.
- Al-Farsi M, Al-Amri A, Al-Hadhrami A, Al-Belushi S. Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*; 2018; 4(10): 1-14.
- Amessis-Ouchemoukh N. Caractérisation phytochimique par UHPLC-ESI-QTOFMS/MS de quelques extraits de plantes médicinales et la détermination de leurs propriétés biologiques : anti- inflammatoire, anti- acétylcholinestérase et antioxydante. Thèse Doctorat en Sciences Alimentaires. Université Abderrahmane Mira- Bejaia ; 2014 ;p. 230
- Amessis–Ouchemoukh N, Maouche N, Otmani A, Terrab A, Madani K, Ouchemoukh S. Evaluation of Algerian's honey in terms of quality physicochemical analysis and their antioxidant powers. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*; 2021; 14: 305-324.
- Ayad R, Amessis-Ouchemoukh N, Ouchemoukh S, Madani K, Boulekbache-Makhlouf L. Pollen profiles, physicochemical characteristics, and antioxidant activities of two honey samples from Jijel city (Algeria). *Food Technology*; 2021; 45(2): 147-167.
- Bakchiche B, Habati M, Benmebarek A, Gherib A. Caractéristiques physico-chimiques, concentrations des composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locaux (Algérie). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* ; 2018 ;6(1) :118-23.
- Balthazar C F, Santillo A, Figliola L, Silva H L A, Esmerino E A, Freitas M Q, Cruz A G, Albenzio M. Sensory evaluation of a novel prebiotic sheep milk strawberry beverage. *Food Science and Technology* ; 2018 ; 98 : 94–98.
- Barbara R. *Le chemin du miel*. Agridea. Lausanne 6, Suisse ; 2009 ; p. 23.
- Bardaa S, Ben Halima N, Aloui F, Ben Mansour R, Jabeur H, Bouaziz M, Sahnoun Z. Oil from Pumpkin (*Cucurbita Pepo* L.) Seeds : Evaluation of Its Functional Properties on Wound Healing in Rats. *Lipids Health Dis* 2016; 15:73.
- Bertoncelj J, Dobersek U, Koroser M, Golob T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian Honey. *Food Chemistry*; 2007; 105(2): 822-828.
- Biluca F C, Da Silva B, Caon T, Mohr E T B, Vieira G N, Gonzaga L V, Costa A C O. Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (*Meliponinae*). *Food Research International*; 2020; 129:108576.
- Bogdanov S, Martin P, Lüllmann C. *Harmonised methods of the European honey commission*.1997; 59-pp.

- Bogdanov S, Ruoff K, Persano-Oddo L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie* ; 2004 ; 35(Suppl. 1) : S4–S17.
- Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P. Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition* ; 2008 ; 27 : 677–689.
- Bonté F, Rossant A, Archambault J C, Desmoulière A. Miels et plantes : De lathérapeutique à la cosmétique. *La Phytothérapie Européenne* ; 2011,63 : 22-28.
- Bonté F, Desmoulière A. Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques* ; 2013; 52 : 18–21.
- Bouhala A, Ouchemoukh S, Moussi A, Beldjoudi S. Altitude effect on the properties of honeys from the region of Jijel (Algeria). *Polish Journal Food Nutrition Science*; 2020 ;70: 169-178
- Boussaid A, Chouaibi M, Rezig L, Hellal R, Donsi F, Ferrari G, Hamdi S. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*; 2018; 11(2): 265–274.
- Brudzynski K, Abubaker K, Miotto D. Unraveling a mechanism of honey antibacterial action: polyphenol/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -induced oxidative effect on bacterial cell growth and on DNA degradation. *Food Chemistry*; 2012; 133:329-336.
- Brudzynski K, Miotto D, Kim L, Sjaarda C, Maldonado-Alvarez L, Fuks H. Active macromolecules of honey form colloidal particles essential for honey antibacterial activity and hydrogen peroxide production. *Scientific Reports*; 2017; 7: 1–15.
- Chen X, Zhou Y, Yu J. Exosome-like nanoparticles from Ginger Rhizomes inhibited NLRP3 Inflammasome Activation. *Molecular pharmaceutics*; 2019; 16(6):2690-2699.
- Choi S H, Nam M S. Classification of honeydew and blossom honeys by principal component analysis of physicochemical parameters. *Korean Journal of Agricultural Science* ; 2020; 47(1) :67–81
- Codex Alimentarius Commission 2001. Codex standard for honey, CODEX STAN, 12–1981.
- Commission Européenne (2002). Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 10, 47-5.
- Cornara L, Biagi M, Xiao J, Burlando B. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. *Frontiers in pharmacology*; 2017; 8: 412.
- Da-Silva P M, Left C, Gonzaga L V, Costa A C O, Fett R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*; 2016; 196: 309–323.
- Díez M J, Andrés C, Terrab A. Physicochemical parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. *International Journal of Food Science and Technology*; 2004; 39(2):167-176.
- Dold H, Du D H, Dziao ST. Nachweis antibakterieller, hitze-und lichtempfindlicher Hemmungsstoffe (Inhibine) im Naturhonig (Blütenhonig). *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*;1937; 120: 155-167.
- Dotto J M, Chacha J S. The potential of pumpkin seeds as a functional food ingredient: A review. *Scientific African*; 2020; 10: e00575.

- Draper H H, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methodology. Enzymology*;1990;186: 421 – 431.
- Faustino C, Pinheiro L. Analytical rheology of honey: A state-of-the-art review. *Foods*; 2021; 10: 1709.
- García S, Troncoso J M, Rondanelli-Reyes M. Study of honey according to botanical origin and physicochemical parameters in the Biobío Region, Chile. *Chilean Journal of Agriculture Research*; 2020; 80:675-685.
- Gavril R N, Stoica F, Lips a F D, Constantin O E, Stănciuc N, Aprodu I, Râpeanu G. Pumpkin and Pumpkin By-Products: A Comprehensive Overview of Phytochemicals, Extraction, Health Benefits, and Food Applications. *Foods*; 2024;13: 2694.
- Gill N S, Bali M. Isolation of Anti Ulcer Cucurbitane Type Triterpenoid from the Seeds of *Cucurbita Pepo*. *Research Journal of Phytochemistry*; 2011; 5:70–79.
- Guenauoui N, Ouchemoukh S, Amessis-Ouchemoukh N, Otmani A, Ayad R, Sadou D, Puscas A, Mureşan V. Structural behavior, FTIR spectra of five Algerian honeys, and sensory acceptance of margarine enriched with honey. *Journal of Food Science*; 2024; 89(1): 276-293.
- Gutierrez R. Review of Cucurbita Pepo (Pumpkin) Its Phytochemistry and Pharmacology. *Med. Chem* 2016;6: 1.
- Hammer K A, Carson C F, Riley T V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* ; 1999 ; 86(6) : 985-990.
- Hoyet C. Le miel : de la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy-I; 2005; p.16-32.
- ISO 3960:2017. (2017). Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value.
- Jiang W J, Daikonya A, Ohkawara M, Nemoto T, Noritake R, Takamiya T, Iijima H. Structure activity relationship of the inhibitory effects of flavonoids on nitric oxide production in RAW264.7 cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*; 2017; 25(2):1–5
- Johnston J E, Sepe H A, Miano C L, Brannan R L, Alderton A L. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Science*; 2005; 70(4):627-631.
- Kwakman P H S, Velde A A, de Boer L, Speijer D, Vandenbroucke-Grauls C M J E, Zaat A J. How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*; 2010; 24: 2576- 2582.
- Lakhmili H, El-Abbassi A, Warda K, Alamri A S, Galanakis C M. Comparative study on the physicochemical characteristics and botanical diversity of Moroccan honeys. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*;2024; 10: 1711-1723.
- Liu J, Ye Y, Lin T, Wang Y, Peng C. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*; 2013;139(1-4), 938– 943.
- Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. Methods of melissopalynology. *BeeWorld*; 1978; 59:139–157.
- Mato I, Huidobro J F, Sancho M T. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 2006;54(5):1541-50.

Nair S, Meddah B, Aoues A. Spectres polliniques des miels produits en Algérie. *Revue Africaine de Recherche Agricole* ;2013; 8(21): 2540-4.

Nawirska-Olszańska A, Kita A, Biesiada A, Sokół-Łętowska A, Kucharska A Z. Characteristics of antioxidant activity and composition of pumpkin seed oils in 12 cultivars. *Food chemistry*; 2013; 139(1-4):155-161.

Naithani V, Nair S, Kakkar P. Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*; 2006; 39:176-181.

Noumi E, Mejd S, Hajlaoui H, Trabelsi N, Ksouri R, Valentin E, Bakhrouf A. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *Journal of Medicinal Plants Research* ; 2011 ; 5(17) :4147–4156.

Otmani A. Paramètres physicochimiques, profils polliniques et phénoliques et propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et inhibitrices d'enzymes de miels d'Algérie. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée et Biotechnologie. Université de Bejaia ; 2021 ; p. 259.

Otmani A, Amessis-Ouchemoukh N, Birinci C, Yahiaoui S, Kolayli S, Rodríguez-Flores MS, Escuredo O, Seijo MC, Ouchemoukh S. Composés phénoliques et activités antioxydantes et antibactériennes des miels algériens. *Food Bioscience* ;2021 ;42 :101070.

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

Ouchemoukh S. Caractérisation physico-chimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de doctorat en Biochimie. Université de Bejaia; 2012; p:205.

Ouchemoukh S, Amessis-Ouchemoukh N, Gómez-Romero M, Aboud F, Giuseppe A, Fernández-Gutiérrez A, SeguraCarretero A. Characterization of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of flight mass spectrometry. *Food Science and Technology*; 2017; 85:460– 469.

Pauliuc D, Dranca F, Oroian M. Antioxidant activity, total phenolic content, individual phenolics and physicochemical parameters suitability for Romanian honey authentication. *Foods*; 2020; 9 :306.

Potočnik T, Cizej M R, Košir I J. Influence of seed roasting on pumpkin seed oil tocopherols, phenolics and antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*; 2018; 69: 7-12.

Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Limoges ; 2011 ; p :136.

Saavedra M J, Aires A, Dias C, Almeida J A, De Vasconcelos M C B M, Santos P, Rosa E A. Evaluation of the Potential of Squash Pumpkin By-Products (Seeds and Shell) as Sources of Antioxidant and Bioactive Compounds. *J. Food Sci. Technol* 2015; 52:1008–1015.

Sánchez-Camargo A, Mendiola J, Ibáñez E. *Supercritical Fluid Extraction Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Dalcanale, E., Krebs, B., Marquardt, R., Morbidelli, M., Nakai, H., Panza, L., Poole, C., Quack, M., Wandelt, K.R., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2013.

Siano F, Straccia M C, Paolucci, M, Fasulo G, Boscaino F, Volpe M G. Physico-chemical properties and fatty acid composition of pomegranate, cherry and pumpkin seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 2016; 96(5):1730-1735.

Sıcak Y, Şahin-Yağlıoğlu A, Öztürk M. Bioactivities and phenolic constituents relationship of Muğla thyme and pine honey of Turkey with the chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*; 2021; 15(4):3694-3707.

Silva T J, Fernandes G D, Bernardinelli O D, Silva E C R, Barrera-Arellano D, Ribeiro A P B. Organogels in low fat and high-fat margarine: a study of physical properties and shelf life. *Food Research International*; 2021;140:110036.

Singh A, Kumar V. Phyto-chemical and bioactive compounds of pumpkin seed oil as affected by different extraction methods. *Food Chemistry Advances*; 2023; 2:100211.

Stevenson D G, Eller F J, Wang L, Jane J L, Wang T, Inglett G E. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 2007; 55(10):4005–4013.

Syed Q A, Akram M, Shukat R. Nutritional and therapeutic importance of the pumpkin seeds. *Seed*; 2019; 21(2): 15798-15803.

Tahir H E, Zou X, Li Z, Shi J, Zhai X, Wang S, Mariod A A. Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry*; 2017; 226:202–211.

Vorobyova O A, Bolshakova A E, Pegova R A, Kol'chik O V, Klabukova I N, Krasilnikova E, Melnikova N B. Analysis of the components of pumpkin seed oil in suppositories and the possibility of its use in pharmaceuticals. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*; 2014; 6(5):1106-1116.

Wang H, Gao X, Zhou G, Cai L, Yao W. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*; 2008; 106(3): 888–895.

Wolff J P. *Manual of fat analysis*. Azoulay Ed.Paris; 1968; p. 519.

Yadav E, Singh D, Yadav P, Verma A. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Prosopis cineraria* based phenolic rich ointment in wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 2018; 108:1572-1583.

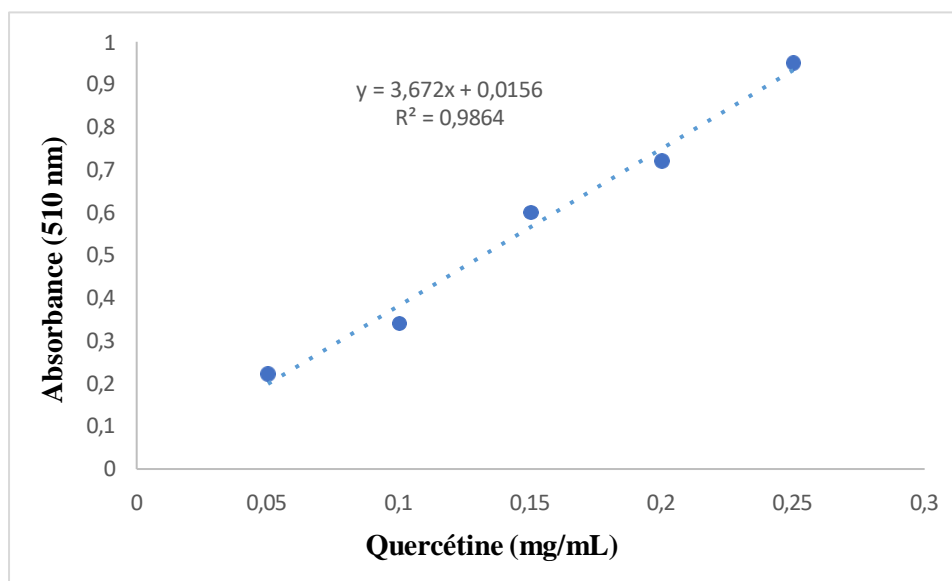
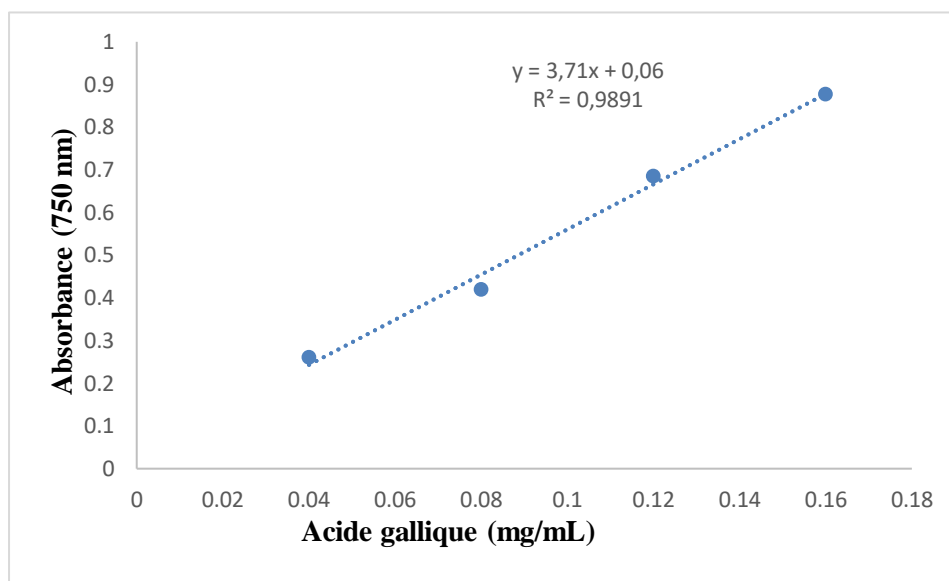
Yarom N, Hovan A, Bossi P, Ariyawardana A, Jensen S B, Gobbo M. Multinational association of supportive care in Cancer/International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO) mucositis study group systematic review of natural and miscellaneous agents for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines - part 2: Honey, herbal compounds, salivary stimulants, probiotics and miscellaneous agents. *Cancer supportive care*; 2020; 1 – 16.

Yeboue A K, Kabran M R G, Sorokina A E, Adou A D, Kouassi C K, Mamyrbekova-Bekro A J, Bekro Y A. Physical, physico-chemical and nutritional profile of honey produced in nine localities in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*; 2021; 15(2): 846-859.

Żyżyńska-Granica B, Gierlikowska B, Parzonko A, Kiss A K, Granica S. The bioactivity of flavonoid glucuronides and free aglycones in the context of their absorption, II phase metabolism and deconjugation at the inflammation site. *Food and Chemical Toxicology*; 2020; 135: 11092.

# **Annexes**

## Annexe 01 : Courbes d'étalonnage des composés phénoliques



## Résumé

Ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation de deux produits naturels : le miel et l'huile de graines de (*Cucurbita pepo*), en les intégrant dans la formulation de pommades dermiques. Une étude comparative est menée pour évaluer leurs propriétés physico-chimiques, leurs teneurs en composés phénoliques, leurs activités biologiques *in vitro* (antioxydante et anti-inflammatoire), leur stabilité oxydative ainsi que l'acceptabilité sensorielle des pommades élaborées. L'analyse pollinique a révélé que seul le miel M3 est monofloral (*Fabaceae*), tandis que les miels M1 et M2 sont polyfloraux. Tous les échantillons analysés respectent les normes de qualité. Le contenu en composés phénoliques varie selon l'échantillon, avec des concentrations maximales observées pour M1 et les valeurs les plus faibles pour M3. Toutefois, M3 a montré la meilleure capacité antioxydante avec une IC<sub>50</sub> DPPH de 2,06 %, ce qui justifie son choix dans la formulation des pommades. L'incorporation conjointe de M3 et d'huile de graines de courge a permis d'obtenir une pommade riche en composés bioactifs, présentant un fort potentiel antioxydant, anti-inflammatoire et une stabilité microbiologique comparable à celle d'un produit commercial (C+). De plus, après 30 jours de stockage à 4 °C, les pommades enrichies en miel (P1 et P3) présentent une stabilité à l'oxydation supérieure à celle de P2 et C+. L'analyse sensorielle menée par un panel expert révèle P3 comme la formulation la plus appréciée (74 %). L'ACP montre un groupe homogène formé par P1, P2 et P3. Ce travail met en évidence l'intérêt d'une synergie miel/huile végétale dans le développement de pommades naturels à visée thérapeutique.

**Mots clés :** Miels Algériens, huile des graines de citrouille, pommade, composés phénoliques, stabilité oxydative.

## Abstract

This study is part of an effort to valorize two natural products—honey and (*Cucurbita pepo*) seed oil—by incorporating them into dermal ointment formulations. A comparative analysis was conducted to evaluate their physicochemical properties, phenolic compound content, *in vitro* biological activities (antioxidant and anti-inflammatory), oxidative stability and the sensory acceptability of the formulated ointments. Pollen analysis revealed that only honey M3 is monofloral (*Fabaceae*), while M1 and M2 are polyfloral. All analyzed samples met established quality standards. The phenolic content varied depending on the sample, with M1 showing the highest concentrations and M3 the lowest. Nevertheless, M3 demonstrated the strongest antioxidant activity with the lowest DPPH IC<sub>50</sub> value (2.06%), justifying its selection for ointment formulation. The combined incorporation of M3 honey and pumpkin seed oil resulted in an ointment (P3) rich in bioactive compounds, exhibiting high antioxidant and anti-inflammatory potential, along with microbiological stability comparable to that of a commercial product (C+). Furthermore, after 30 days of storage at 4 °C, the honey-enriched ointments (P1 and P3) showed significantly greater oxidative stability than P2 and C+. Sensory analysis by an expert panel indicated that P3 was the most preferred formulation, with a satisfaction rate of (74%). Principal Component Analysis (PCA) revealed a homogeneous group formed by P1, P2, and P3. This study highlights the promising synergy between honey and vegetable oil in the development of natural topical formulations with therapeutic potential.

**Key words:** Algerian honeys, Pumpkin seed oil, Ointment, Phenolic compounds, Oxidative stability.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى تثمين منتج طبيعيين، هما العسل وزيت بذور اليقطين (*Cucurbita pepo*)، من خلال دمجهما في تركيب مرهم جلدية. وقد تم إجراء دراسة مقارنة لتقييم الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذين المكونين، ومحتواهما من المركبات الفينولية، ونشاطهما البيولوجي في المختبر (المضاد للأكسدة والمضاد للالتهاب)، بالإضافة إلى استقرارهما التأكسدي والتقييم الحسي للمراهم المحضرة. أظهرت نتائج التحليل الطليعي أن العسل (M3) فقط هو أحادي الزهرة (*Fabaceae*)، بينما العسلان (M1) و (M2) متعددا الأزهار. جميع العينات المدروسة تسوفي المعايير المعتمدة من حيث الجودة. وقد اختلفت تراكيز المركبات الفينولية حسب العينة، إذ سجلت القيم الأعلى في العسل (M1) والقيم الأدنى في العينة (M3). ورغم ذلك، أظهر العسل (M3) أفضل نشاط مضاد للأكسدة مع تسجيل أدنى قيمة ل (IC<sub>50</sub> DPPH) مقدرة ب (2,06 mg/mL)، ما يبرر اختياره في تركيبة المرهم. أدى دمج هذا العسل مع زيت بذور القرع إلى الحصول على مرهم غني بالمركبات النشطة بيولوجيا، يتميز بفعالية عالية مضاد للأكسدة والالتهاب، وبثبات ميكروبيولوجي مماثل لمرهم تجاري (C+). إضافة إلى أنه بعد تخزين المرهم لمدة 30 يوم في درجة حرارة 4 مئوية، أظهرت المرهم المحتوية على العسل (P1 و P3) استقرارا تأكسديا أعلى مقارنة ب (P2 و C+). بين التقييم الحسي الذي أجراه فريق من الخبراء أن المرهم (P3) هو الأكثر تفضيلا بنسبة (74%). وكشفت تحاليل المكونات الأساسية (ACP) عن مجموعة منجاسة تضم المرهم الثلاثة (P1 و P2 و P3). يبرز هذا العمل أهمية التآزر بين العسل والزيت النباتي في تطوير مستحضرات جلدية طبيعية ذات فعالية علاجية واعدة.

الكلمات المفتاحية: عسل جزائري، زيت بذور القرع، مرهم، مركبات فينولية، استقرار تأكسدي.