

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



Réf :.....

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

**MASTER**

***Thème***

**Caractéristiques physico-chimiques et  
activités antioxydantes des miels de  
Tizi-Ouzou**

Présenté par :

**Maloum Zaina**

Soutenu le : **14 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup>. B. KHETTAL

MCA

Présidente

M<sup>r</sup>. S. OUCHEMOUKH

MCA

Encadreur

M<sup>me</sup>. H. OUAHMED

MAA

Examinatrice

**Année universitaire : 2014 / 2015**

## Remerciements

*Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la patience, la force et le courage de mener à terme ce travail.*

*Mes chaleureux remerciements et profonde reconnaissance s'adressent à mon promoteur Mr. Ouchemoukhi S. d'avoir accepté de guider mes pas sur la dernière ligne droite de mon instruction pédagogique et particulièrement pour sa gentillesse, sa bienveillance, ses précieux conseils constructifs et pertinents, et sa présence permanente tout au long de la réalisation de mon travail. Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir rassuré quand il le fallait.*

*Mes hommages les plus respectueux s'adressent à mon enseignante Mme. Khettal B. qui m'a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de mon jury.*

*J'adresse également tous mes remerciements à Mme Ouahmed H. d'avoir accepté d'être examinatrice de mon mémoire.*

*Que mes vifs remerciements aillent aux personnels des laboratoires de biochimie alimentaire et d'écologie pour leurs sympathie et soutien moral.*

*Mes hommages également à tous mes Enseignants du Département de Biologie Physico-chimique pour avoir fortement contribué à enrichir mes connaissances en particulier à ceux qui m'ont le plus marqué: M<sup>me</sup> Khettal, M<sup>me</sup> Bedjou, M<sup>me</sup> Debbache, M<sup>r</sup> Ouchemoukhi et M<sup>r</sup> Ghidouche.*

*J'adresse également mes remerciements à toute la promotion Biochimie Appliquée 2014/2015.*

*Je voudrais adresser mes sincères reconnaissances et ma gratitude la plus profonde à tous ceux qui ont aidé à l'accomplissement de ce travail.*

## *Dédicaces*

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

*A mon défunt Père, que Dieu l'accueille dans son vaste  
paradis.*

*À ma très chère Mère, mon modèle d'amour, de gentillesse,  
de justice et de paix, sans toi tout cela n'aurait été  
possible.*

*Merci de m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes  
études et de m'avoir réconforté, soutenu et supporté  
tout au long de ma vie. Que ce travail soit le témoignage  
de ma sincère gratitude, reconnaissance et de tout mon  
amour.*

*A mes très chères Sœurs: Aziza, Saliha et Sonia, qui m'ont  
encouragé, aidé, rassuré dans les moments difficiles de ma  
vie.*

*A mon très chère Frère: Messaoud pour avoir toujours été  
là pour moi. A sa fiancé Linda.*

*A mes tantes: tata Ndjima, Hayet et Karima.*

*A mon oncle: tonton Khoudir et sa femme Ratiba, pour  
leurs encouragements.*

*A mes amis d'enfance et de lycée: Biba et Lilia. A mes très  
chères amis Ninis, Khira, Sara et Cylia pour votre amitié.*

*Zaina*

**SOMMAIRE**

**Liste des figures**  
**Liste des tableaux**  
**Liste d'abréviations**

**INTRODUCTION.....1**

**CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I.1- GENERALITES SUR LE MIEL.....2**

**I.1.1- Identification et importance de l'abeille.....2**

**I.1.2- Définition.....2**

**I.1.3- Flore mellifère.....3**

**I.1.4- Eléments récoltés par les abeilles butineuses.....3**

    I.1.4.1- Nectar.....3

    I.1.4.2- Miellat.....4

**I.1.5- Elaboration.....4**

**I.1.6- Récolte.....5**

**I.1.7- Conservation.....6**

**I.1.8- Composition chimiques.....6**

    I.1.8-1- Eau.....7

    I.1.8-2- Glucides.....7

    I.1.8-3- Acides organiques.....7

    I.1.8-4- Acides aminés et protéines.....8

    I.1.8-5- Sels minéraux et les oligo-éléments.....8

    I.1.8-6- Composés phénoliques.....8

    I.1.8-7- Autres.....9

**I.2- PROPRIETES DU MIEL.....9**

**I.2.1- Propriétés organoleptiques.....9**

I.2.1.1- Couleur.....	9
I.2.1.2- Cristallisation.....	10
<b>I.2.2- Propriétés physico-chimiques.....</b>	<b>10</b>
I.2.2.1- Densité et viscosité.....	10
I.2.2.2- Acidité et pH.....	10
I.2.2.3- Hygroscopicité.....	11
I.2.2.4- Pouvoir rotatoire.....	11
I.2.2.5- Conductivité électrique.....	11
I.2.2.6- Indice de réfraction et humidité.....	11
<b>I.2.3- Propriétés biologiques.....</b>	<b>11</b>
I.2.3.1- Propriété antioxydante.....	11
I.2.3.2- Propriété diététique.....	12
I.2.3.3- Propriété antimicrobienne.....	13
I.2.3.4- Propriété cicatrisante.....	14
I.2.3.5- Propriété anti-inflammatoire.....	16
I.2.3.6- Propriété anticancéreuse.....	16

## **CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES**

<b>II.1- ECHANTILLONS DE MIEL.....</b>	<b>18</b>
<b>II.2.- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....</b>	<b>18</b>
II.2.1- Humidité et brix.....	18
II.2.2- pH.....	19
II.2.3- Couleur.....	19
II.2.4- Conductivité électrique.....	19
II.2.5- Cendres.....	19

II.2.6- Proline.....	20
II.2.7- Pouvoir rotatoire.....	20
II.2.8- Protéines.....	21
II.2.9- Hydroxymethylfurfural.....	21
<b>II.3- DOSAGES PHYTO-CHIMIQUES.....</b>	<b>21</b>
II.3.2- Composés phénoliques totaux.....	21
II.3.2- Flavonoïdes.....	22
II.3.3- Proanthocyanidines.....	22
<b>II.4- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....</b>	<b>22</b>
II.4.1- Test avec le DPPH.....	22
II.4.2- Test avec l'ABTS.....	23
II.4.3- Piégeage du radical hydroxyle.....	23
II.4.4- Test FRAP.....	24
II.4.5- Pouvoir réducteur.....	24
II.4.6- Test au Phosphomolybdate.....	24
<b>II.5- ANALYSES STATISTIQUES.....</b>	<b>25</b>

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>III.1- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....</b>	<b>26</b>
III.1.1- Humidité.....	26
III.1.2- pH.....	27
III.1.3- Couleur.....	28
III.1.4- Brix.....	29
III.1.5- Conductivité électrique.....	30
III.1.6- Cendres.....	30
III.1.7- Protéines.....	31

III.1.8- Proline.....	32
III.1.9- Hydrox-méthylfurfural (HMF).....	33
III.1.10- Pouvoir rotatoire.....	34
<b>III.2- ANALYSES PHYTO-CHIMIQUES.....</b>	<b>35</b>
II.2.1- Composés phénoliques totaux.....	35
II.2.2- Flavonoïdes.....	36
II.2.3- Proanthocyanidines.....	37
<b>III.3- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....</b>	<b>38</b>
III.3.1- Activité antiradicalaire par DPPH.....	38
III.3.2- Activité antiradicalaire par l'ABTS.....	39
III.3.3- Piégeage du radical hydroxyle.....	40
III.3.4- Test de FRAP.....	41
III.3.5- Pouvoir réducteur.....	42
III.3.6- Méthode au phosphomolybdate.....	43
<b>III.4- CORRELATIONS ANTIOXYDANTS ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES.....</b>	<b>44</b>
<b>III.5- CORRELATIONS COULEURS, ANTIOXYDANTS ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES.....</b>	<b>45</b>
<b>III.6- CORRELATIONS PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET PROPRIETESANTIOXYDANTES.....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>48</b>
<b>ANNEXES</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Réduction du radical DPPH.....	22
<b>Figure 2:</b> Teneur en eau des échantillons de miels.....	27
<b>Figure 3:</b> pH des échantillons de miels.....	27
<b>Figure 4:</b> Couleur des échantillons de miels.....	28
<b>Figure 5:</b> Brix des échantillons de miels.....	29
<b>Figure 6:</b> Conductivité électrique des échantillons de miels.....	30
<b>Figure 7:</b> Teneur en cendres des échantillons de miels.....	31
<b>Figure 8:</b> Teneur en protéines des échantillons de miels.....	32
<b>Figure 9:</b> Teneur en proline des échantillons de miels.....	33
<b>Figure 10:</b> HMF des échantillons de miels.....	34
<b>Figure 11:</b> Teneur en phénols totaux des échantillons de miels.....	36
<b>Figure 12:</b> Teneur en flavonoïdes des échantillons de miels.....	37
<b>Figure 13:</b> Teneur en proanthocyanidines des échantillons de miels.....	37
<b>Figure 14:</b> Activité antiradiclaire DPPH des échantillons de miels.....	38
<b>Figure 15:</b> Pouvoir antiradicalaire ABTS des échantillons de miels.....	40
<b>Figure 16:</b> Activité antiradiclaire OH des échantillons de miels.....	41
<b>Figure 17:</b> Activité antioxydante FRAP des échantillons de miels.....	42
<b>Figure 18:</b> Pouvoir réducteur des échantillons de miels.....	43
<b>Figure 19:</b> Activité antioxydante au phosphomolybdate des échantillons de miels.....	44

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Echantillons de miel analysés.....	18
<b>Tableau II:</b> Protocole du dosage de la proline.....	20

## Liste d'abréviations

**%:** Pourcentage

**Abs :** Absorbance

**ABTS<sup>+</sup> :** Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

**ANOVA:** Analysis of variance

**AVUC :** Analyse de la Variance à Un seul Critère de Classification

**Bax:** Bcl-2 associated xprotéine.

**Bcl2:**B-cell lymphome protéine- 2.

**BSA :** Serum Albumin Bovin.

**°C:** Celsius

**CARI:** Centre Apicole de Recherche et d' Information

**cm:** centimètre

**CE :** Conseil Européen

**CE :** Conductivité Electrique

**CDK:** Cycline Dependent Kinase

**cm<sup>3</sup>:** centimètre cube

**COX-2:** Cyclooxygenase-2

**DPPH :** 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl

**EAG :** Equivalent Acide Gallique

**EBSA :** Equivalent Bovin Serum Albumin

**EC :** Equivalent Catéchine

**FRAP:** Ferric reducing antioxydant power

**G<sub>0</sub>:** Gap<sub>0</sub>

**G<sub>1</sub>:** Gap<sub>1</sub>

**G<sub>2</sub>:** Gap<sub>2</sub>

**h:** Heure

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

**HMF :** Hydroxyméthylfurfural

**IL-6:** Interleukine -6

**IL-8 :** Interleukine -8

**Ki-67:** Kiel-67

**kDa :** Kilodalton

**LOX-2:** Lipoxygenase-2

**m/v** : Masse/ Volume  
**meq** : Milliéquivalent  
**mS** : Milli siemens  
**M** : Miel  
**MGO** : Méthylglyoxal  
**Moiv** : Molybdate-IV  
**Mov** : molybdate-V  
**nm**: Nanomètres  
**NF $\kappa$ B** : Nuclear Factor-kappa B  
**OH**: Radical hydroxyle  
**P/V**: Poids / Volume  
**p53**:Phosphoprotéine P53  
**PH** : Potentiel d'hydrogène  
**PR** : Pouvoir réducteur  
**r** : Coefficient de corrélation  
**S**: Synthèse  
**T°** : Température  
**TNF- $\alpha$** : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$   
**TPTZ** : tripyridyletriazine  
**UV/VIS**: Radiation ultraviolette/ Visible  
**V/V**: Volume /Volume  
**VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor

# *INTRODUCTION*

Le miel a toujours eu une place privilégiée dans beaucoup de croyances et de civilisations. Il est notamment indissociable des rites et coutumes qui accompagnent la naissance et la mort. Les livres Saints comme la Bible et le Coran ne manquent pas de louer ses vertus (**Hoyet, 2005**).

L'appétence naturelle des abeilles pour tout ce qui est sucré les amène à butiner différentes sources. Le miel est ainsi élaboré par les abeilles à partir de substances sucrées végétales provenant soit des nectars de plantes (essentiellement de fleurs) ou du miellat (des exsudats rejetés par des insectes piqueurs et suceurs), produisant différents miels qui se distinguent par leur composition, directement dépendante de l'origine florale, du climat, des conditions environnementales et de la compétence des apiculteurs (**Küçük et al., 2007**).

Produit phare de la ruche, le miel est utilisé depuis toujours pour ses propriétés essentiellement antimicrobiennes, antioxydantes, cicatrisantes et curatives (**Al-waili et al., 2011**). C'est un produit dont la composition chimique est très variée. En moyenne, il est formé de près de 80 % de glucides (glucose, fructose, maltose, saccharose...), de 17 à 20 % d'eau et de 4 % de substances diverses (grains de pollen, levures, protéines, enzymes, eau oxygénée, acides aminés, acides organiques, polyphénols, vitamines, minéraux et de plus d'une centaines de substances volatiles) (**Adam, 2011**).

De nombreux chercheurs se sont attelés à expérimenter méthodiquement l'ensemble des vertus empiriques du miel accumulées au fil des millénaires, afin d'en dégager les véritables propriétés et de déterminer ainsi scientifiquement ce que notre santé pouvait en attendre réellement, créant ainsi, l'apithérapie ou l'usage médical des produits de la ruche (**Meda, 2005**).

Ce travail s'articule autour de trois grandes parties:

- Dans la première partie, les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du miel, sa fabrication, ses différents types, sa composition biochimique et ses propriétés physico-chimiques, organoleptiques et biologiques.
- Dans la deuxième partie, le matériel d'étude et les méthodes analytiques utilisées pour les analyses physico-chimiques et les activités antioxydantes seront évoquées.
- La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

*CHAPITRE I*

*REVUE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

## I.1- GENERALITES SUR LE MIEL

### I.1.1- Identification et importance de l'abeille

Les hommes ont progressivement appris à élever, à entretenir et à soigner l'abeille. C'est *Apis mellifera* qui est l'espèce la plus intéressante en apiculture. Originaires d'Asie, elles ont été disséminées par l'Homme à travers le monde (Hoyet, 2005). Les abeilles sont caractérisées par un comportement hautement social avec, au sein d'une colonie, trois castes assurant chacune une tâche particulière: la reine, les ouvrières et les faux-bourçons (mâles) (Bonté et Desmoulière, 2013). De plus, l'abeille est un agent pollinisateur remarquablement efficace car elle contribue à la reproduction sexuée d'environ 80 % des plantes à fleurs (Decourtye et al., 2007). En une journée, une colonie de 40 000 abeilles (dont 30 000 butineuses) visite environ 21 millions de fleurs, ce qui équivaut à 700 fleurs par abeille. La reproduction des espèces végétales dites mellitophiles (c'est-à-dire attractives pour les abeilles) dépend donc principalement du butinage des abeilles (Rossant, 2011).

L'abeille peut également être utilisée comme bio-indicateur de la santé de l'écosystème dans lequel elle évolue. En effet, les butineuses explorent une grande zone de plusieurs kilomètres carrés autour de la ruche et y rapportent leur récolte. En observant la mortalité et en détectant les résidus de pesticides, métaux lourds ou molécules radioactives dans les abeilles ou les produits stockés, il est possible d'apprécier le niveau de pollution de l'environnement (Toullec, 2008).

L'abeille contribue aussi à l'économie agricole: la production de trois quarts des plantes alimentaires cultivées sur la planète, notamment une grande majorité des fruits et légumes, dépend directement des pollinisateurs animaux, particulièrement des abeilles. Beaucoup d'agriculteurs louent des ruches pour augmenter leurs récoltes. La valeur économique de la pollinisation par les insectes a été estimée à au moins 150 milliards d'euros par an à l'échelle mondiale, plus de 15 milliards pour l'Europe (Bodin et al., 2013).

### I.1.2- Définition du miel

Le mot « miel » est issu du latin *mel*, *mellis* qui signifie « miel » et « douceur » (Meda, 2005). Le miel est défini par le décret n°2003-587 du 30 juin 2003 comme: « la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec

des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères. »

### **I.1.3- Flore mellifère**

La flore mellifère peut se définir comme l'ensemble des espèces de plantes susceptibles d'être à la base de la production de miel. Ce sont donc avant tout des plantes productrices de nectar ou permettent la fabrication du miellat par les Homoptères (**Lagacherie et Cabannes, 2009**). De la diversité de la flore mellifère, il existe différents miels qui se distinguent par leur composition chimique, directement dépendante de plusieurs paramètres. Ainsi, les miels monofloraux et polyfloraux sont produits (**Bodin et al., 2013**).

-Miels monofloraux:

Un miel monofloral provient principalement du butinage de l'abeille pour une seule plante (**Adam, 2011**). Il présente un pollen dominant  $\geq 45\%$  (**Decourtye et al., 2007**).

-Miels polyfloraux (mille fleurs)

Les miels multifloraux ou miels toutes fleurs proviennent de mélange de flores variées sans prédominance et donc sans origine florale précise (**Toullec, 2008**).

### **I.1.4- Eléments récoltés par les abeilles**

Les abeilles ont besoin d'une nourriture diversifiée pour être en bonne santé. Une ruche s'approvisionne en priorité dans un rayon de 1 à 3 km, mais jusqu'à 8 ou 10 km si nécessaire : plus la ressource est proche et concentrée, mieux la colonie en profite (**Bodin et al., 2013**).

#### **I.1.4.1- Nectar**

Le nectar est le suc mielleux sécrété par les glandes, dites nectarifères, présentes sur de nombreuses plantes à fleurs butinées par les abeilles. Il existe des nectaires floraux (situés par exemple sur le réceptacle floral, à la base des pétales) ou extra-floraux (situés par exemple sur les pétioles, sur le limbe ou sur la tige) (**Gharbi, 2011**). Il se forme à partir de la sève élaborée des plantes. Il n'est d'aucune utilité directe pour la plante et sa seule raison d'exister est d'attirer les insectes pollinisateurs (**Ouchemoukh, 2012**).

Les constituants essentiels du nectar sont les glucides (5 –75%), les acides aminés (0,25-15,5  $\mu\text{mol/ml}$ ), les protéines (petites quantités), les lipides (traces), les antioxydants (traces), les vitamines (traces), les pigments (faibles quantités), les huiles essentielles (1-3 %) et les enzymes. En fonction de sa teneur en eau, le nectar est plus ou moins visqueux (**Meda, 2005**).

Les nectaires sont généralement situés au fond de la corolle des fleurs. Pour y accéder, la butineuse doit pénétrer dans la fleur et allonger sa langue. Elle aspire le nectar, par pompage et par capillarité. Lorsque son jabot est rempli, elle rentre à la ruche (**Hoyet, 2005**).

#### **I.1.4.2- Miellat**

Le miellat est un liquide sucré que butinent les abeilles et autres insectes sur les feuilles et/ou l'écorce de divers arbres ou arbustes (**Gharbi, 2011**). Les insectes qui le produisent sont tous des hémiptères homoptères, c'est-à-dire qu'ils possèdent des pièces buccales leur permettant de piquer dans les tissus végétaux pour en prélever la sève: ce sont des cigales, des psylles, des cochenilles et surtout des pucerons. Ils perforent les tissus de la plante jusqu'aux faisceaux dans lesquels circule la sève élaborée. Celle-ci passe dans l'estomac et subit dans le tube digestif des transformations qui en font un miellat rejeté par l'anus (**Hoyet, 2005**).

Le miellat est plus dense en sucre que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et des osides (comme l'erlose, le raffinose et le mélézitose ) (**Ballot-Flurin, 2010**).

Les périodes de récolte de miellat se situent entre la fin du printemps et l'été. Les quantités récoltées sont très variables d'une année à l'autre, les pucerons étant très sensibles aux conditions météorologiques et aux attaques de prédateurs tels que les coccinelles, les punaises et surtout les guêpes (**Adam, 2011**). Les butineuses recueillent le miellat par léchage et remplissent progressivement leur jabot. Ce dernier plein, elles regagnent la ruche (**Hoyet, 2005**). Lorsque le nectar abonde, les butineuses le préfèrent au miellat. Cependant, le miellat est une source alimentaire intéressante quand les conditions climatiques sont défavorables à la récolte du nectar (**Lagacherie et Cabannes, 2009**).

#### **I.1.6- Elaboration**

Les abeilles butineuses prélèvent avec leur langue le nectar ou le miellat qu'elles emmagasinent dans leur jabot en y ajoutant de la salive contenant une enzyme, l'invertase qui transforme le saccharose en deux molécules de sucres simples: le fructose et le glucose. Cette réaction d'hydrolyse est appelée « inversion du saccharose », car le saccharose est dextrogyre et le produit de l'hydrolyse est lévogyre, tandis que la glucose-oxydase catalyse l'oxydation de certaines molécules de glucose en acide gluconique qui confère au miel son pH acide. Dans le même temps, elles abaissent déjà un peu la teneur en eau de la solution sucrée (**Meda, 2005; Lequet, 2010; Tomczak, 2010**). De retour à la ruche, les modifications physico-chimiques se poursuivent, la butineuse régurgite de son jabot le liquide récolté pour le transmettre à une ouvrière d'intérieur par trophallaxie (**Lequet, 2010; Gharbi, 2011**).

D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse et le liquide s'enrichit de substances salivaires : invertase, diastase et glucose-oxydase. Simultanément, d'autres sucres sont synthétisés, qui n'existaient pas au départ comme l'érlose et le raffinose. Sucée et étalée plusieurs fois, la solution sucrée va alors subir une nouvelle concentration par évaporation qui s'effectue sous la double influence de la chaleur régnant dans la ruche et de la ventilation assurée par les abeilles ventileuses qui créent, par un mouvement rapide de leurs ailes, un puissant courant d'air ascendant dans la ruche. En moins de cinq jours, le miel passe de 50 % à un peu moins de 18 % d'eau pour 80 % de sucre (du fructose et glucose). Une fois remplie de miel, l'alvéole est obturée par un opercule de cire qui permet de le garder dans de bonnes conditions (**Huchet et al., 1996; Tomczak, 2010; Rossant, 2011**).

Lors d'une récolte très abondante, la matière première subit peu de passages d'une abeille à l'autre et est assez rapidement entreposée. Lors des récoltes modérées, le processus de maturation a lieu pendant plus longtemps. Pour obtenir 1 kg de miel il faut : 3 kg de nectar, 100,000 voyages, 150 millions de fleurs visitées, 100,000 km de vol (environ 2,5 fois la circonférence de la terre) (**Lequet, 2010**).

### **I.1.7- Récolte**

La récolte est effectuée après une miellée, quand les apports en nectar ont cessé ou se sont ralentis et que les  $\frac{3}{4}$  au moins des alvéoles sont operculés. La miellée débute habituellement vers la fin du mois de mai pour se terminer en octobre (**Ouchemoukh, 2012**).

L'apiculteur retire les cadres de miel mais en laissant aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver, si la saison est avancée. C'est pourquoi la ruche est divisée en deux parties : une partie inférieure, le corps, qui contient de hauts rayons garnis non seulement de miel, mais aussi de pollen et de couvain: il ne faut pas y toucher. Au-dessus, il ya la hausse qui servira à la récolte de miel. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, il transporte les cadres dans la miellerie et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer (**Ballot-Flurin, 2010**).

D'après la commission du **Codex alimentarius (1981)**, le miel peut être désigné en fonction de la méthode d'extraction du rayon:

- Le miel extrait est le miel obtenu exclusivement par centrifugation de rayons désoperculés ne contenant pas de couvain, avec ou sans traitement thermique modéré.
- Le miel pressé est le miel obtenu par pressage de rayons ne contenant pas de couvain, avec ou sans traitement thermique modéré.

- Le miel égoutté est le miel obtenu en égouttant des rayons désoperculés ne contenant pas de couvain, avec ou sans traitement thermique modéré.

### **I.1.8- Conservation**

Le miel est un produit qui subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. La rapidité de la dégradation dépend de la composition du produit et des conditions de sa conservation.

Ainsi, étant très hygroscopique, le miel confiné en atmosphère humide absorbe l'eau rapidement. Dans la mesure du possible, les bords de conservation du miel seront secs et les emballages se feront en containers pleins et fermés hermétiquement. Si le produit est chauffé, alors une dégradation plus ou moins rapide des sucres s'effectue essentiellement au dépend du fructose et s'accompagne de la formation d'hydroxyméthylfurfural (HMF). Cette altération, à laquelle est associée une augmentation du taux de l'acidité et une disparition rapide des enzymes, est directement liée à de mauvaises conditions de stockage. Il convient donc de garder le miel dans des locaux frais où la température ne dépasse pas 20 °C. Si le miel à stocker présente un risque de fermentation, il faudra impérativement le pasteuriser ou le conserver à une température de 4 à 5 °C (**Huchet *et al.*, 1996; Hoyet, 2005**).

### **I.1.9- Composition chimique**

Le miel est un liquide naturel remarquablement complexe qui contient plus de 181 substances. Le miel est une solution sursaturée de sucres, dont le fructose (38 %) et de glucose (31 %) sont les principaux contributeurs. Une large gamme de constituants mineurs est également présente dans le miel, dont beaucoup sont connus pour avoir des propriétés antioxydantes. Ceux-ci comprennent des acides phénoliques, des flavonoïdes, certaines enzymes (glucose-oxydase, catalase), l'acide ascorbique et d'autres substances (les caroténoïdes, les acides organiques, les produits de réaction de Maillard, les acides aminés et les protéines (**Khalil *et al.*, 2012**)).

La composition du miel varie en fonction de la source florale, de la nature du sol, des conditions météorologiques, de la l'abeille elle-même, libre de choisir son bouquet floral, de la présence ou non d'autres insectes (puçerons, cochenilles), de l'environnement et des méthodes de traitement utilisées par l'apiculteur (**Ballot-Flurin, 2010**).

### I.1.9.1- Eau

La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais peut être influencée par de nombreux facteurs, parmi lesquels les conditions de stockage et les conditions climatiques lors de la récolte (**Louvain, 2005**).

L'humidité intervient également pour déterminer la capacité du miel à rester stable et à résister à la fermentation des levures: plus l'humidité est élevée, plus la probabilité que le miel va fermenter lors du stockage est élevé. Les normes légales admettent un miel jusqu'à 20 % à l'exception du miel de trèfle (*Trifolium*) jusqu'à 21 % au maximum et miel de bruyère (*Calluna*) jusqu'à 23 % au maximum (**Codex alimentarius, 1981; Bogdanov et al., 2004**).

### I.1.9.2- Glucides

Les glucides du miel forment à eux seuls 95 à 99 % de matière sèche (**Meda, 2005**). Une quinzaine de sucres différents ont été identifiés dans les miels, mais ils ne sont jamais tous présents simultanément (**Rossant, 2011**). **Bonté et Desmoulière (2013)** ont rapporté la présence de trois types de glucides:

-Des monosaccharides avec, en moyenne, 31 % de glucose et 38 % de fructose (ou lévulose). Ce sont les deux principaux sucres du miel. Ils proviennent en grande partie de l'hydrolyse du saccharose (présent dans le nectar ou le miellat) par l'invertase.

-Des disaccharides dont lesquels figurent le maltose (7,3 %) et le saccharose (1,3 %) et d'autres diholosides.

-Des tri- et polysaccharides représentent 1,5 à 8 %. Parmi eux, l'erlose, le raffinose, le mélézitose, le dextrantriose et le mélibiose.

D'après **Ouchemoukh et al. (2010)**, les sucres du miel sont formés par l'action de plusieurs enzymes sur le saccharose du nectar. Les glucides dans le miel sont responsables de quelques propriétés telles que la viscosité, l'hygrométrie, la granulation et la valeur énergétique.

La teneur totale en fructose et glucose ne doit pas être inférieure à 60 % d'un miel de fleurs et 45 % d'un miel de miellat ou mélange de miel de miellat avec du miel de fleurs.

La teneur maximale du saccharose est fixée à 5 % avec des exceptions pour certains miels qui naturellement sont plus riches (jusqu'à 15 % dans le miel de lavande) (**Codex Alimentarius, 1981**).

### I.1.9.3- Acides organiques

La forte acidité du miel est provoquée par la transformation du glucose en acide gluconique, qui est l'acide organique majoritaire dans ce produit (**Moniruzzaman et al., 2013**).

Cependant, une vingtaine d'acides organiques tels que les acides acétique, benzoïque, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique y sont également présents (**Bonté et Désomulière, 2013**).

#### **I.1.9.4- Acides aminés et protéines**

Les concentrations de protéines et d'acides aminés dans des miels varient en fonction de leur origine botanique et leur temps de stockage. La teneur en protéines dans les miels consiste principalement en enzymes qui sont ajoutées par les abeilles pendant le processus de maturation du miel (**Khalil et al., 2012**).

Le miel contient environ 0,2 % des protéines comme l' $\alpha$ -amylase, la gluco-invertase, la catalase, la glucose oxydase et la phosphatase (**Küçük et al., 2007**).

De faibles quantités d'acides aminés libres comme la proline, l'histidine, l'alanine, la glycine ou la méthionine sont également retrouvées (**Bodin et al., 2013**).

La proline est un acide aminé important qui provient principalement des sécrétions salivaires d'*Apis mellifera* lors de la conversion de nectar en miel. La proline est un des acides aminés les plus abondants dans le miel et est donc généralement choisie comme étalon pour la quantification de la teneur en acides aminés (**Ouchemoukh et al., 2007**).

La teneur en proline est un indicateur de qualité car le miel non falsifié a, en général, un taux qui dépasse 180 mg / kg (**Moniruzzaman et al., 2013; Moniruzzaman et al., 2014**).

#### **I.1.9.5- Sels minéraux et les oligo-éléments**

Les miels de fleurs contiennent 0,1 à 0,35 g de sels minéraux par /100 g de miel (exception : le miel de châtaignier avec plus de 1 g/100 g), les miels de miellat quant à eux jusqu'à 1 g / 100 g et plus (**Nair, 2014**). Le potassium est le minéral le plus abondant mais il en existe également du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium et du fer. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent (**Rossant, 2011**).

#### **I.1.9.6- Composés phénoliques**

Des études récentes ont montré que la concentration et le type de substances phénoliques dépendent de l'origine florale du miel, ils sont les principaux facteurs responsables pour ses activités biologiques (**Doukani et al., 2014**). Dans le miel, la plupart des composés phénoliques sont sous forme de flavonoïdes : les plus répandus sont la pinobanksine, le pinobanksine- 3-acétate, le pinobanksine-3-butyrate, le pinobanksine-3-hexanoate, le 3,7-dihydroxy-5-méthoxyflavanone et le 2,5-dihydroxy-7-méthoxyflavanone (**Küçük et al., 2007**).

Généralement, les miels les plus foncés, contiennent des quantités de flavonoïdes supérieures aux miels plus clairs, ainsi qu'une plus grande capacité antioxydante (**Canadanovic-Brunet, 2014**).

#### **I.1.9.7- Autres**

- ✓ **Les lipides** présents dans les miels sont sous forme de cholestérol libre et sous forme d'esters de cholestérol. Ces derniers pouvant après consommation devenir précurseurs d'hormones stéroïdiennes. Les autres lipides présents sont les triglycérides et les acides gras libres (**Gharbi, 2011**).
- ✓ **Les vitamines:** Le miel en est très pauvre. Il s'agit essentiellement de vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9) qui seraient apportées par le pollen (**Huchet et al., 1996**).
- ✓ **Les composés aromatiques:** plus de 100 substances aromatiques de miel ont été isolées et caractérisées. Ces arômes jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel. Les substances aromatiques se conservent le mieux si le miel est stocké au froid dans des récipients fermés (**Bogdanov et al., 2003**).
- ✓ **L'hydroxyméthylfurfural (HMF):** La teneur en HMF est largement reconnu comme un paramètre de fraîcheur d'échantillons de miel, parce qu'il est absent dans les miels frais et tend à augmenter au cours du traitement et /ou le vieillissement du produit. Plusieurs facteurs influencent sur les niveaux de l'HMF, tels que la température et le temps de chauffage, les conditions de stockage, le pH et la source florale, donc il donne une indication du surchauffage et le stockage dans de mauvaises conditions (Gomes, 2009). La limite maximale du Codex Alimentarius est de 80 mg / kg, alors que la limite de l'UE est de 40 mg / kg (**Bogdanov et al., 2004**).

## **I.2- PROPRIETES DU MIEL**

Du fait de la variété importante des produits de la récolte des butineuses, les caractéristiques physiques et gustatives du miel peuvent être très distinctes d'un miel à l'autre. De ce fait, il n'existe pas un type de miel mais une multitude de variétés de miels aux propriétés différentes.

### **I.2.1- Propriétés organoleptiques**

#### **I.2.1.1- Couleur**

La couleur est une caractéristique de classification du miel. Elle dépend de la source florale, de sa teneur en minéraux et indique également la présence des pigments tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes. La couleur du miel varie du blanc transparent au noir ambré.

Dès fois, même des miels de nuance rouge et vert peuvent avoir lieu. Le chauffage, le vieillissement ainsi que la lumière provoquent une intensification de la coloration du miel (Ajibola *et al.*, 2012; Khalil *et al.*, 2012).

### **I.2.1.2- Cristallisation**

La cristallisation du miel est un processus naturel et sa vitesse dépend surtout de sa teneur en glucose. Les miels dont la teneur en glucose est inférieur à 28 g / 100 g ou dont le rapport glucose/eau est inférieur à 1,7 restent plus longtemps liquides. Les miels à cristallisation rapide se cristallisent le plus souvent très finement, alors que les miels à cristallisation lente ont tendance à avoir une cristallisation grossière (Blanc, 2010).

Pour que les cristaux se forment, il faut que les molécules de glucose rencontrent des germes de cristallisation, appelés aussi particules d'ensemencement, et s'y agglutinent (Rossaant, 2011). La croissance de ces cristaux aboutit à la formation de 2 phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau (Hoyet, 2005).

La cristallisation est plus rapide à la température de 14 °C. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78 °C (Huchet *et al.*, 1996).

### **I.2.2- Propriétés physico-chimiques**

Le miel présente selon l'origine de la plante à partir de laquelle il a été fabriqué, et selon la composition de ses sucres, des caractéristiques physico-chimiques particulières dont certaines participent à l'identification de l'origine florale d'un miel et d'autres déterminent sa qualité et sa stabilité dans le temps.

#### **I.2.2.1- Densité et viscosité**

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g / cm<sup>3</sup>. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour estimer la teneur en eau des miels (Bogdanov *et al.*, 2003)

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé. Par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, composition chimique) entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (Petit, 2012).

#### **I.2.2.2- Acidité et pH**

L'acidité est un critère de qualité, due aux acides organiques présents dans le miel.

Le miel est acide, et son pH oscille en moyenne, entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectars et entre 4,5 et 5,5 pour les miels de miellats. La norme européenne pour le miel a fixé une valeur maximale d'acidité (50 milliéquivalent / kg) (**Bogdanov et al., 1999**).

### **I.2.2.3- Pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. Il est utilisé pour distinguer entre les miels de nectar et les miels de miellat. La majorité des miels de miellat ont des valeurs positives «dextrogyres» tandis que les miels de nectar ont des valeurs négatives «lévogyres » (**Bogdanov et al., 2003**).

### **I.2.2.4- Conductivité électrique**

La conductivité électrique est l'un des paramètres efficace pour la distinction entre les miels floraux et les miels de miellats. Elle dépend de la teneur du miel en minéraux et en acides. La conductivité électrique d'un miel est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est très importante (**Nair, 2014**).

### **I.2.2.5- Indice de réfraction et humidité**

L'indice de réfraction du miel oscille entre 1,47 et 1,50 suivant sa teneur en eau à la température de 20 °C. Il est souvent utilisé pour déterminer la teneur en eau dans le miel en se référant à la table de Chataway (**Rossant, 2011**). L'humidité du miel conditionne sa conservation : plus elle est élevée, plus le miel risque de se fermenter (**Huchet et al., 1996**).

La limite maximale fixée par la **Directive Européenne (2002)** est de 20 %.

## **I.2.3- Propriétés biologiques**

Grâce à ses nombreux principes actifs, le miel contribue à des propriétés pharmacologiques capables de contrebalancer des processus pathologiques tels que l'inflammation, l'oxydation et l'infection ou à l'aptitude de renforcer des phénomènes régénérateurs comme la cicatrisation, ou d'améliorer les performances physiologiques amenant au bien-être général (**Petit, 2012**).

### **I.2.3.1- Propriétés antioxydantes**

Bien que les radicaux libres d'oxygène sont des sous-produits naturels du métabolisme dans l'organisme, ils provoquent des dommages cellulaires qui causent le vieillissement prématuré, le cancer et l'athérosclérose. En effet, les antioxydants se lient à ces molécules dangereuses afin de prévenir leurs effets néfastes.

Contrairement aux composés synthétiques, le miel est un produit naturel qui n'a pas d'effets secondaires en général (**Jaganathan et Mandal, 2009**).

Parmi les composés trouvés dans le miel, certains polyphénols et flavonoïdes (comme l'acide caféique, l'acide caféique phénylester, la chrysin, la galangine, la quercétine,

l'acacétine, le kaempférol, le pinocembrine, le pinobanksine et l'apigénine), enzymes (telles que la glucose-oxydase, la catalase et les peroxydases) ainsi que d'autres composants (comme l'acide ascorbique, les caroténoïde et la vitamine C) ont des propriétés antioxydantes (**Othman, 2012; Sarfraz et Othman, 2013**). Des taux élevés de ces composants assurent une meilleure activité antioxydante dans le miel. La capacité antioxydante du miel contribue à la prévention de plusieurs troubles tels que le diabète, les troubles inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et le cancer. Le miel permet également d'agir comme un antidépresseur pendant un stress élevé émotionnel, physique et intellectuelle (**Sarfraz et Othman, 2013**).

La recherche a montré également une corrélation entre la couleur et la capacité antioxydante avec les miels sombres qui ont des concentrations élevées d'antioxydants. Généralement, la variation de l'activité antioxydante des miels est due à la nature quantitative et qualitative des composés phénoliques (**Beretta et al., 2005**).

### **I.2.3.2- Propriétés diététiques**

De par sa forte concentration en sucre, le miel est une source d'énergie par excellence (**Ajibola et al., 2007**). En effet, sa valeur énergétique est d'environ 350 kcal / 100 g . Par conséquent, **Kreider et al. (2002)** affirment que le miel améliore les performances physiques en augmentant l'endurance et en facilitant les efforts prolongés, notamment pour le sportif. Il contient des sucres simples (fructose et glucose) qui sont directement assimilables par l'organisme et qui ne passent pas par un processus complexe de digestion (**Ajibola et al., 2007; Kreider et al. 2002**).

Ce bénéfice est obtenu grâce à la prédigestion par les abeilles aboutissant à la formation de sucres simples. La qualité de sa composition en vitamines et oligo-éléments permet de recharger l'organisme lorsque le besoin se fait sentir. Chez les jeunes enfants, la consommation de miel améliore la fixation du calcium sur les os et prévient l'anémie. Riche en sels minéraux, phosphore, calcium, fer..., le miel favorise la croissance et fortifie le squelette (**Nair, 2014**).

Les affections circulatoires seraient améliorées par l'absorption de miel au cours de la convalescence et notamment de miels foncés (**Ajibola et al., 2012**).

### **I.2.3.3- Propriétés antimicrobiennes**

Un certain nombre de caractéristiques du miel contribuent à son activité antimicrobienne. L'oxydation enzymatique du glucose, la haute pression osmotique, la faible activité de l'eau, l'acidité, la viscosité élevée et certains composés chimiques sont considérés comme étant les

facteurs majeurs de l'activité antibactérienne. L'hydrogène peroxyde est aussi un composé antibactérien du miel qui agit comme un antiseptique (**Aline, 2005**).

- **Osmolarité**

L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel, présentant ainsi un effet bactéricide en provoquant une forte déshydratation des germes (**Bogdanov et al., 2004**).

Les sucres auraient une activité antibactérienne par leur pouvoir d'abaissement de l'activité de l'eau qui aussi appelée activité hydrique qui exprime le degré de disponibilité de l'eau dans un milieu donné. Dans le miel, l'activité de l'eau est comprise entre 0,562 et 0,62. En effet, la plupart des bactéries voient leur croissance inhibée pour des  $a_w$  comprise entre 0,94 et 0,99 (**French et al., 2005**).

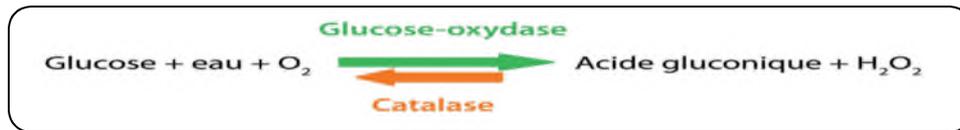
- **Acidité**

D'après **Tomczak (2010)**, grâce à la présence d'acides organiques, dont le plus abondant est l'acide gluconique, le miel présente dans la plupart du temps un pH peu élevé généralement compris entre 3,2 et 4,5. Les bactéries ne peuvent se multiplier dans un milieu aussi acide.

- **Système peroxyde d'hydrogène**

La principale "inhibine" que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) encore appelé eau oxygénée. De nombreuses études ont été réalisées afin de clarifier l'importance du peroxyde d'hydrogène dans les effets antibactériens du miel (**Bogdanov et al., 2003; Brudzynski et Lannigan, 2012**). Il s'agit d'un très bon antiseptique, produit par réaction enzymatique. C'est la glucose-oxydase sécrétée par l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet cette réaction (**Brudzynski et Lannigan, 2012; Couquet et al., 2013**). La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes (**Couquet et al., 2013**).

La catalase représente l'antagoniste de la glucose oxydase. Cette enzyme également présente dans de nombreux miels réduit l'eau oxygénée. Alors que la glucose oxydase produit l'eau oxygénée, celle-ci est éliminée par la catalase. La concentration en peroxyde dépend directement de l'activité de ces deux enzymes (**Brudzynski et Lannigan, 2012**). Pour que la catalase soit active, il faut une forte concentration en peroxyde d'hydrogène, mais elle montre une activité faible pour des niveaux de peroxyde d'hydrogène physiologiques. Lors de l'application de miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère de façon lente et prolongée, permettant ainsi une action locale efficace (**Rossant, 2011**).



- **Méthylglyoxal (MGO)**

Le méthylglyoxal (MGO) est un des composants dicarbonylés découlant de la réaction de Maillard qui s'effectue dans tous les produits très riches en sucres. C'est un antibactérien naturel identifié en tant qu'un élément responsable de l'activité antibactérienne. La concentration en MGO est plus ou moins forte selon les origines géographiques et florales du miel (Meda, 2005).

Le miel de manuka ou plus précisément de *Leptospermum Scoparium* (Famille des Myrtacées) très répandu en Nouvelle Zélande est aujourd'hui connu comme celui qui contient le plus de MGO (Rossant, 2011). Selon la concentration en MGO qui peut aller de 3 à 4 µg / g de miel à 800 µg / g, le miel aurait une activité plus ou moins grande sur un spectre de bactéries plus ou moins large, particulièrement sur les *Staphylococcus Aureus* résistants à la méthycilline, les Entérocoques résistants à la vancomycine, le *Pseudomonas aeruginosa* (Bacille pyocyanique) et contre lesquelles les antibiotiques actuels sont inopérants (French et al., 2005). Plusieurs études ont ainsi mis en évidence une corrélation entre les taux de méthylglyoxal particulièrement élevés contenus dans ces miels et leur activité antibactérienne (French et al., 2005; Tomczack, 2010).

- **Défensine-1**

La défensine-1 est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité innée. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. Il a été montré récemment que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel provient de cette protéine (Petit, 2012; Couquet et al, 2013; Elbanna et al., 2014).

#### **I.2.3.4- Propriétés cicatrisantes**

De nombreux travaux expérimentaux ont démontré les propriétés cicatrisantes du miel et les mécanismes impliqués commencent à être élucidés.

Du fait de son hyper-osmolarité au niveau des plaies, le miel draine la lymphe et le plasma des tissus sous-adjacent et périphériques, entraînant un afflux de fluides à la surface de la plaie et le pansement, ce qui contribue à maintenir un milieu humide (Gharbi, 2011; Desmoulièr, 2013).

Selon **Tomczak (2010); Desmoulière et Rigal (2013)**, le milieu humide est responsable de :

- ✓ L'amélioration de l'oxygénation tissulaire.
- ✓ Le débridement mécanique par les mouvements des fluides, ainsi un nettoyage de la plaie (détorsion).
- ✓ La résorption de l'œdème lésionnel.

Par sa forte concentration en glucose-lévulose (80 %), le miel dévie le substrat préférentiel des bactéries. Celles-ci délaissent les acides aminés, les débris cellulaires dont les produits de dégradation aminés et sulfurés sont responsables des odeurs putrides, elles se tournent vers la fermentation lactique. Par ce mécanisme, le miel empêche le développement des odeurs nauséabondes ainsi que le développement des bactéries pathogènes responsables des surinfections (**Petit, 2012**).

Le miel est considéré comme l'agent potentiel d'acidification efficace des plaies du fait de son pH acide et ce, malgré sa dilution par les exsudats (**Tomczak 2010; Al-Waili et al., 2011**), créant ainsi, un environnement légèrement acide qui favorise le déchargement de l'oxygène de l'hémoglobine, la suppression de l'activité des protéases dans les plaies à cause du pH qui n'est pas favorable pour leurs activités et la stimulation de l'activité des cellules fibroblastiques (**Alam et al., 2014**). Ces dernières jouent un rôle fondamental dans le processus de cicatrisation. Car, leur migration, leur prolifération et surtout la synthèse de collagène sont optimales dans un milieu acide (**Hoyet, 2005**).

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) existant dans le miel est communément utilisé dans la prise en charge des plaies pour ses propriétés antiseptiques. Ses concentrations sont suffisamment élevées pour bénéficier de l'effet antibactérien du peroxyde d'hydrogène mais suffisamment faible pour ne pas être à l'origine de dommages cellulaires (**Tomczak, 2010**).

Le  $H_2O_2$  produit par le miel n'est pas cytotoxique car sa concentration est d'environ 1000 fois inférieure à celle de la solution à 3 % utilisée comme antiseptique.

La faible concentration de peroxyde d'hydrogène peut agir comme un «messenger» dans la promotion de la guérison ainsi elle peut stimuler à la fois les fibroblastes et les cellules épithéliales. Une étude expérimentale utilisant le poisson zèbre a révélé un nouveau mécanisme de migration des leucocytes au site de blessure, suite au gradient de concentration créé par  $H_2O_2$ . Les macrophages arrivent à la plaie en réponse à des stimuli environnementaux et libèrent le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF: vascular endothelial growth factor), un facteur angiogénique qui est essentiel dans le processus de cicatrisation (**Alam et al., 2014**).

### I.2.3.5- Propriétés anti-inflammatoires

Les processus inflammatoires sont causés suite à des blessures cellulaires et à des agressions infectieuses (bactérie, virus, levures...), chimiques (antigènes, allergènes, ...), ou physique (traumatismes, corps étrangers, radiations...) (Hoyet, 2005; Sarfraz et Othman, 2013).

Dans le cas où un stimulus inflammatoire persiste, l'activité de phagocytose provoque la libération de radicaux libres, qui stimulent la production de cytokines ce qui amplifie la réponse inflammatoire (Tomczack, 2010).

L'activité des macrophages et polynucléaires neutrophiles entraînent la libération de radicaux superoxydes et de peroxydes d'hydrogène, ceux-ci activent le facteur de transcription nucléaire NF $\kappa$ B (NF- $\kappa$  B:nuclear factor-kappa beta), qui est un marqueur important de l'inflammation. Il améliore l'activité pro-inflammatoire, contribuant ainsi à une réponse inflammatoire amplifiée, et active les gènes codant pour les lipoxigénase-2 (LOX-2), les cyclooxygénase-2 (COX-2), des cytokines pro-inflammatoires, l'interleukine 6 et 8 et le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ), qui va induire la production de cytokines amplifiant davantage la réponse inflammatoire via le recrutement et l'activation de leucocytes.

Tant que le stimulus inflammatoire persiste, il y 'aura une amplification progressive de la réponse inflammatoire (Gharbi, 2011). Cependant, les antioxydants présents parfois en grande quantité dans le miel permettent de limiter l'activation du NF $\kappa$ B et donc de réduire l'inflammation en neutralisant aussi les radicaux libres. Le miel joue ainsi un rôle d'un puissant agent anti-inflammatoire à travers ses composés phénoliques et flavonoïdes qui sont impliqués dans la suppression des activités pro-inflammatoires de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (Othman, 2012; Sarfraz et Othman, 2013)

### I.2.3.6- Propriété anticancéreuse

Les cellules épithéliales se divisent tout au long de la vie. Le cycle cellulaire comprend les phases connues sous le nom de G0, G1, S, G2 et M. Tous les événements dans le cycle cellulaire sont réglementés et surveillés par plusieurs protéines différentes (Andersen *et al.*, 2005).

Les contrôleurs du cycle cellulaire comprennent des cyclines et des kinases dépendantes de cycline (CDK) dont l'inhibition est la caractéristique d'un cancer. La protéine nucléaire Ki-67 est un nouveau marqueur pour sonder la prolifération cellulaire (Tomasin et Gomes-

**Marcondes, 2011**). Il est absent dans la phase de repos (G0), mais exprimée au cours du cycle cellulaire dans toutes les phases de prolifération (G1, S, G2, et la mitose). Le plus grand nombre de Chimiothérapeutiques actuellement utilisés pour le traitement du cancer sont des inducteurs d'apoptose. L'apoptose suit généralement deux voies: la voie des récepteurs à domaine de mort et la voie mitochondriale (**Pichichero et al., 2010**).

Les flavonoïdes qui composent le miel ont créé beaucoup d'intérêts parmi les chercheurs en raison de leurs propriétés anticancéreuses qui sont explicables par le fait que les miels proviennent de diverses sources florales, et chaque source florale peut présenter différents composés actifs (**Othman, 2012**). En effet, le miel a été démontré pour affecter l'arrêt du cycle cellulaire. Plusieurs des polyphénols et flavonoïdes du miel comme l'acide caféique, l'acide caféique phénylester, la chryisine, la galangine, la quercétine, l'acacétine, le kaempférol, le pinocembrine, le pinobanksine et l'apigénine sont rapportés pour bloquer le cycle cellulaire. De ce fait, ils sont considérés comme des agents pharmacologiques prometteurs dans le traitement du cancer (**Khalil et al., 2012**).

**Tomasin et Gomes-Marcondes (2011)** ont montré que le miel induisait une diminution marquée de l'expression de la protéine Ki-67 dans les cellules tumorales du rat, il suggère ainsi qu'une thérapie avec du miel pourrait conduire à une baisse de prolifération des cellules tumorales en arrêtant le cycle cellulaire.

**Sarfraz et Othman (2013)** ont rapporté quant à eux que le miel induit l'apoptose dans différents types de cellules cancéreuses par dépolarisation de la membrane mitochondriale. Le miel régule ainsi l'expression des protéines de pro- et anti-apoptotiques en entraînant l'élévation du niveau d'activation de caspase 3, p53, et la protéine pro-apoptotique Bax et en régulant négativement l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2. Le miel génère aussi des espèces réactives de l'oxygène conduisant à l'activation de p53 qui module l'expression des protéines de pro- et anti-apoptotiques comme Bax et Bcl-2 (**Jaganathan et Mandal, 2010**). En effet, la p53 agit sur la protéine pro apoptotique Bax qui stimule les mitochondries pour libérer le cytochrome C, à son tour active les caspases 9 qui activent les caspases 3 déclenchant ainsi le processus apoptotique de la cellule cancéreuse (**Sarfraz et Othman, 2013**).

*CHAPITRE II*

*MATÉRIEL ET*

*METHODES*

## II.1- ECHANTILLONS DE MIEL

Vingt et un miels (2014) provenant de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou sont obtenus auprès de l'association d'apiculteurs de cette wilaya. Le tableau I indique l'origine botanique de ces miels ainsi leur couleur.

**Tableau I:** Echantillons de miel analysés.

Echantillons	Origine botanique	Couleur
01	Multifloral	Jaune ambré
02	Eucalyptus	Jaune ambré
03	Multifloral	Jaune ambré
04	Multifloral	Ambre clair
05	Ericaceae	Marron
06	Fabaceae	Jaune
07	Eucalyptus	Brun
08	Fabaceae	Jaune
09	Multifloral	Marron
10	Ericaceae	Marron
11	Multifloral	Marron clair
12	Fabaceae	Brun
13	Fabaceae	Marron clair
14	Eucalyptus	Brun
15	Multifloral	Moutarde
16	Fabaceae	Marron clair
17	Multifloral	Vert transparent
18	Multifloral	Jaune
19	Multifloral	Marron foncé
20	Eucalyptus	Marron foncé
21	Multifloral	Marron foncé

## II.2- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

La plupart des protocoles utilisés pour les analyses physico-chimiques des miels étudiés sont ceux décrit par **Bogdanov *et al.* (1999)**.

### II.2.1-Humidité et brix

Les indices de réfractations des miels sont obtenus sur la base de la méthode réfractométrique à 20 °C. Une goutte de miel liquide est déposée sur le prisme du réfractomètre Abbé (ABBE AR 12 S/N 32624).

La lecture est faite à travers l'oculaire de l'appareil au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure. Cette ligne coupe une échelle verticale graduée directement en indice de réfraction et en pourcentage de brix dans le miel. La teneur en eau est déterminée par l'indice de réfraction du miel en se référant à la table de Chataway (annexe I).

### II.2.2- pH

Une quantité de 2,5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée et le pH est lu avec le pH-mètre (HANNA PH 213Microprocessor).

### II.2.3- Intensité de la couleur

Une quantité de 1 g de miel est dissoute dans 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la densité optique de la solution de miel est lue par spectrophotomètre (Spectrophotomètre visible UV Line 9400) à 450 nm.

### II.2.4- Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la capacité de l'échantillon de miel à transmettre un flux électrique ou conductance. La détermination de celle-ci est réalisée sur une solution contenant 20 % de la matière sèche du miel à 20 °C.

Une quantité de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (1,22  $\mu\text{S} / \text{cm}$ ). La lecture est faite directement après l'immersion de la cellule du conductimètre (EUTECH INSTRUMENTS con 510) dans la solution de miel et les résultats sont exprimés en  $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

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

CE : Conductivité électrique

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

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

0,032 : Facteur de correction

### II.2.5- Cendres

5 g d'échantillons de miel (M0) sont pesés dans un creuset en porcelaine et pesé à vide (M2). L'ensemble été incinéré dans un four à moufle (Linn Electro Therm) à 600 °C pendant 6 heures. Le creuset contenant les cendres est ensuite pesé (M1) et le taux de cendres, exprimé en g / 100 g de miel, est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Cendres (\%)} = [(M1 - M2) / M0] \times 100$$

**II.2.6- Proline**

Les solutions utilisées sont: acide formique (98-100 %), solution éthanolique de ninhydrine (3 %) solution aqueuse de proline (0,032 mg/ml), solution aqueuse de 2-propanol (50 %) et solutions aqueuses de miel (0,05 g/ml). Le protocole expérimental utilisé est résumé dans le tableau II.

**Tableau II:** Protocole du dosage de la proline

	<b>Solution d'échantillons</b>	<b>Blanc</b>	<b>Solution du contrôle</b>
<b>Echantillon miel</b>	0,5 ml	-	-
<b>H<sub>2</sub>O</b>	-	0,5 ml	-
<b>Proline</b>	-	-	0,5 ml
<b>Acide formique</b>	1 ml	1 ml	1 ml
<b>Ninhydrine (3 %)</b>	1 ml	1 ml	1 ml
Agitation pendant 15 min et chauffage à 100 °C pendant 15 min .			
Transfert à 70 °C (bain marie) pendant 10 min			
<b>2-propanol</b>	5 ml	5 ml	5 ml
Absorbance à 510 nm après 45 min			

La concentration en proline est déterminée selon l'équation suivante :

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

Es : Absorbance de la solution d'échantillon.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

E2 : Quantité prise du miel en kg.

80 : Facteur de dilution

**II.2.7- Pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire est déterminé par un polarimètre en utilisant une solution aqueuse de miel claire et filtrée. La rotation optique spécifique est l'angle de la rotation de la lumière polarisée à la longueur d'onde de la raie D du sodium à 20 °C d'une solution aqueuse d'une profondeur de 1 dm de profondeur et contenant 1g/ml de la substance. La valeur est liée à la composition en glucides (**Bogdanov, 2004**).

Une masse de 12 g de miel est dissoute dans de l'eau distillée. La solution obtenue est transférée dans une fiole de 100 ml puis 2 ml de la solution de Carrez I (hexacyanoferrate de potassium, 15 %, p/v) et 2 ml de la solution de Carrez II (acétate de zinc, 30 %) y sont additionnés. De l'eau distillée est ajoutée afin d'avoir un volume final de 100 ml et après 24h, les solutions sont filtrées.

Le filtrat est versé dans le polarimètre (Polaser-SI) ayant un tube de 10 cm de longueur. La valeur du pouvoir rotatoire est affichée sur l'appareil à l'échelle de la solution de saccharose.

### II.2.8- Protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**. 5 ml de la solution de Bradford sont ajoutés à 0,1 ml de la solution de miel (50 %, p / v). Le bleu de coomassie forme un complexe bleu avec les protéines. Après un temps d'incubation de 2 min, l'absorbance est lue à 595 nm (Spectrophotomètre VIS-7220G). Les résultats sont exprimés en mg de sérum d'albumine bovine (BSA) / 100 g de miel (figure 1, annexe II).

### II.2.9- Hydroxy-méthylfurfural (HMF)

Une quantité de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée et homogénéisée avec 0,5 ml de la solution de Carrez I et ensuite avec 0,5 ml de la solution de Carrez II. Le volume du mélange est complété à 50 ml avec de l'eau distillée et la solution est filtrée avec du papier filtre Whatman. 5 ml du filtrat sont mélangés avec 5 ml de la solution de sodium bisulfite (0,2 %, p/v) (solution de référence) et le même volume du filtrat est mélangé avec 5 ml d'eau distillée (solution échantillon). Après homogénéisation, l'absorbance de la solution d'échantillon est lue contre celle de la solution de référence à 284 nm et 336 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UvLine 9400). La teneur en HMF est calculée selon la formule suivante:

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

A<sub>284</sub>: absorbance à 284 nm

A<sub>336</sub>: absorbance à 336 nm

W : masse en grammes de l'échantillon de miel

149,7 = (126 x 1000x1000) / 16830 x 10 x 5 = constante

126 = poids moléculaire de HMF

16830 = absorptivité molaire  $\mathcal{E}$  de HMF à une

1000 = conversion de g en mg

5 = poids nominal théorique de l'échantillon

1000 = conversion de g de miel en kg

10 = conversion de 5 à 50

## II.3- DOSAGES PHYTOCHIMIQUES

### II.3.1- Composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents types de miels est effectué suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon le protocole de **Naithani et al. (2006)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu est formé d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>4</sub>) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

Un volume de 100 µl de la solution miel (0,1 g/ml) est mélangé avec 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu (50 %, v/v) et 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (2 %, p/v).

Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm. L'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 gramme de miel (mg EAG/100 g) (figure 2, annexe II).

### II.3.2- Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les différents miels est effectué suivant la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium décrite par la **Directive du Conseil de l'Union Européenne, (2002)**

Un volume de 1 ml de la solution miel (0,05 g/ml) est mélangé avec 4 ml d'eau distillée et avec 0,3 ml de la solution nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ , 5 %). Après 5 min, 0,3 ml de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10 %) sont additionnés, suivie par l'ajout de 2 ml de la solution hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ , 1M) et de 2,40 ml d'eau distillée six minutes plus tard. L'absorbance du mélange est lue à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par 100 g de miel (mg EC/100 g) (figure 3, annexe II).

### II.3.3- Proanthocyanidines

Le dosage des proanthocyanidines dans les différents miels étudiés est effectué selon le protocole rapporté par **Vermeris et Nicholson (2006)**. Un volume de 100  $\mu\text{l}$  de la solution miel (0,025 g/ml) est mélangé avec 2 ml du réactif acide chlorhydrique/butanol (2:3). Le mélange réactionnel est placé au bain marie pendant 10 min à 95 °C. L'absorbance est lue à 530 nm. La concentration des poranthocyanidines est estimée en mg EC / 100 g (figure 4, annexe II).

## II.4- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

### II.4.1- Test DPPH ( 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine (figure 1). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Khalil et al., 2012**).

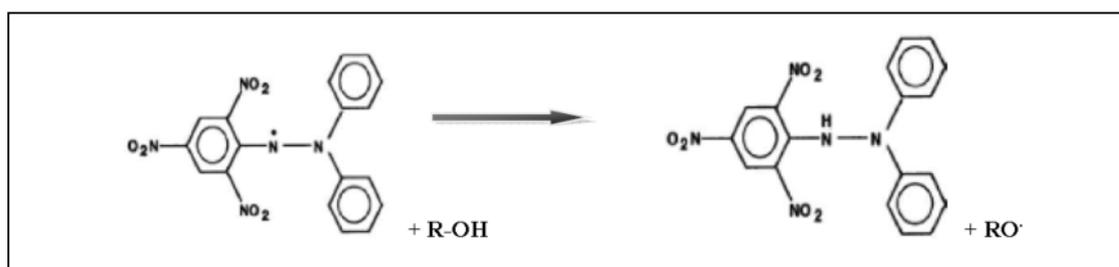


Figure 1: Réduction du radical DPPH (**Re et al., 1999**).

L'évaluation de la capacité antiradicalaire via le DPPH est réalisée par la méthode décrite par **Meda et al. (2005)**. un volume de 1 ml de la solution éthanolique de DPPH ( $6 \times 10^{-2}$  mM) est mélangé avec 0,5 ml de la solution miel (0,025 g/ml). Après 15 min, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition (PI %) est calculé suivant la formule suivante:

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

**Abs<sub>t</sub>** : Absorbance du témoin (1 ml de solution DPPH + 0,5 ml d'éthanol).

**Abs<sub>e</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

#### II.4.2- Test ABTS ([2, 2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt])

L'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels est également estimé à partir de leurs capacités à inhiber le radical cationique ABTS<sup>•+</sup>. La solution d'ABTS ne contient pas de radicaux libres au départ. Après mélange avec du persulfate de potassium, des radicaux libres ABTS<sup>•+</sup> se forment par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS formant ainsi une solution de couleur bleu-vert (**Re et al., 1999**). Le contact entre le radical ABTS<sup>•+</sup> et un donneur d'électron conduit à la formation d'un radical neutre ABTS et la décoloration de la solution dont le maximum d'absorbance est à 734 nm (**Isla et al., 2011**).

L'évaluation de la capacité antioxydante avec l'ABTS est effectuée suivant la méthode rapportée par **Re et al. (1999)**. Un volume de 0,1 ml de la solution miel (0,025 g / ml) est additionné à 1 ml de la solution ABTS (7 mM). Après 7 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 734 nm. Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante :

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

**Abs<sub>t</sub>**: Absorbance du témoin

**Abs<sub>e</sub>**: Absorbance de l'échantillon

#### II.4.3- Piégeage du radical hydroxyle (HO•)

L'évaluation de la capacité antiradicalaire via le radical hydroxyle est réalisée selon la méthode décrite par **Vermerris et Nicholson (2006)**.

Un volume de 1ml de la solution miel (0,025 g/ml) est mélangé avec 0,25 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8 mM), 0,30 ml de FeSO<sub>4</sub> (20 mM) et 1 ml d'acide salicylique (3 mM). Le mélange réactionnel été placé dans un bain marie à une température de 37 °C pendant 30 min.

L'absorbance est lue à 593 nm après 24h d' incubation. La capacité des antioxydants présents dans les différents échantillons de miels à piéger le radical hydroxyle est donné selon la formule suivante:

$$\text{PI (\%)} = [(\text{Abs}_e - \text{Abs}_t) / \text{Abs}_e] \times 100$$

**Abs<sub>t</sub>**: Absorbance du témoin

**Abs<sub>e</sub>**: Absorbance de l'échantillon

#### II.4.4- Test FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Le test FRAP est une autre méthode de détermination d'activité antioxydante totale. Le principe de la méthode est basé sur la réduction du complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-s-triazine (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) en sa forme ferreux coloré (Fe<sup>2+</sup>-TPTZ) formant un complexe ferreux bleu dont le maximum d'absorbance est à 593 nm (**Alvarez-Suarez et al., 2010**).

Un volume de 0,5 ml de la solution miel (0,025 g/ml) est additionné de 0,75 ml de la solution de FRAP [300 mM de la solution acétate de sodium; 40 mM TPTZ; 20mM de la solution de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O)]. L'absorbance du mélange réactionnel est lue à 593 nm après incubation pendant 5 min à 37 °C. Les résultats sont exprimés en mg EAG / 100 g (figure 5, annexe II).

#### II.4.5- Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des échantillons de miel testé à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). En effet, le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Liu et al., 2013** et **Canadanovic-Brunet et al., 2014**).

L'étude du pouvoir réducteur du miel est réalisée selon la méthode décrite par **Beretta et al. (2005)**. Un volume de 0,5 ml de la solution miel (0,05 g/ml) est additionné de 0,5 ml du tampon phosphate (pH 6,6; 0,2 M) et 0,5 ml d'hexacyanoferrate de potassium (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, 1 %). Le mélange est incubé pendant 20 min au bain marie à 50 °C. Après, 0,5 ml de la solution trichloroacétique (FeCl<sub>3</sub>, 10 %) sont rajoutés à ce mélange. Dans un tube à essai, 0,5 ml du mélange réactionnel sont prélevés et sont additionnés de 0,8 ml d'eau distillée et de 100 µl de chlorure ferrique (0,1 %). L'absorbance est lue à 700 nm après 10 min. Les résultats sont exprimés en mg EAG / 100 g (figure 6, annexe II).

#### II.4.6- Test au phosphomolybdate

Le test au phosphomolybdate repose sur la réduction des molybdates en molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable à une longueur d'onde de 695 nm (**Habib et al., 2014**).

Un volume de 0,1 ml de la solution de miel (0,002 g / ml) est additionné à 1 ml du réactif phosphomolybdate (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate du sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange réactionnel est placé dans un bain marie à une température de 95 °C pendant 90 min. L'absorbance est lue à 695 nm. Les résultats sont exprimés en mg EAG / g de miel.

#### II.5- ANALYSES STATISTIQUES

Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écarts types) sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007.

Les données obtenues sont la moyenne de 3 essais à l'exception de l'humidité (2 essais). Le logiciel STATISTICA 5.5 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (AVUC) entre les différents échantillons de miel. Les corrélations entre les paramètres étudiés sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation.

Les résultats sont classés par ordre décroissant a> b>c>d>e> f> g> h> i>j. Les valeurs obtenues, pourtant la même lettre, ne présentent aucune différence du point de vue statistique et les barres verticales représentent les écarts types.

*CHAPITRE III*

*RESULTATS ET*

*DISCUSSION*

### III.1- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

#### III.1.1- Humidité

Selon **Moniruzzaman et al. (2014)**, l'humidité est l'une des caractéristiques les plus importantes du miel car c'est un facteur clé qui détermine sa qualité. Elle intervient dans la viscosité, la cristallisation, la saveur et la fermentation lors du stockage.

La teneur en eau des échantillons de miels analysés est entre 11,24 et 17,92 % (figure 3) correspondant à des indices de réfraction entre 1,4930 et 1,5102. Ces résultats sont inférieurs à la limite maximale (20 %) fixée par **la Commission Européenne (1981)**, ceci indique que les miels étudiés sont mûrs.

La moyenne de la teneur en eau des échantillons analysés est de  $14,82 \pm 0,07$  %. Le miel M10 d'*Erica* présente l'humidité la plus faible ( $11,24 \pm 0,21$  %) et diffère significativement de celle des autres miels. Cependant, l'échantillon M5 de même origine botanique enregistre l'humidité la plus élevée ( $17,92 \pm 0,03$  %).

Les échantillons de miel M2, M5, M6, M10, M11, M12, M13, M15, M16, M20 et M21 présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ) dans leur humidité. Ceci est probablement due à la saison, à la teneur en eau du nectar de la plante butinée par l'abeille butineuse, à la force des colonies d'abeilles, aux conditions de stockage et à la compétence de l'apiculteur (**Bogdanov, 2004; Doukani et al., 2014**). Cependant, les miels suivants: M8, M9 et M14; M1 et M17; M7 et M19; M3 et M18 n'enregistrent pas de différence significative, ceci est peut être due à l'origine géographique des miels.

Les humidités obtenues dans cette présente étude sont proches à celles rapportées par **Tornuk et al. (2013)** (8,99 à 17,40 %) , **Doukani et al. (2014)** (13,4 à 17,2 %), **Habib et al. (2014)** (13,63 à 20,60 %) et **Silvano et al. (2014)** (13,40 à 17,20 %).

D'après **Lequet (2010)**, la faible teneur en eau dans le miel assure sa capacité à résister à la fermentation quel que soit le nombre de levures présentes dans le miel assurant ainsi sa meilleur qualité pour une longue durée de stockage.

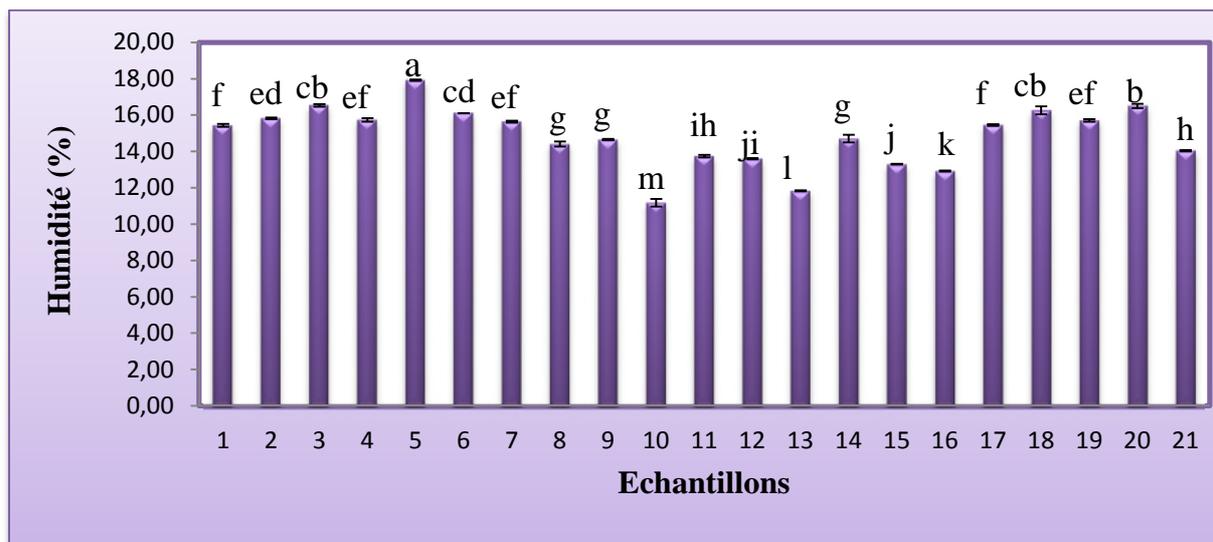


Figure 2: Teneur en eau des échantillons de miels.

### III.1.2- pH

Belay *et al.* (2013) ont rapporté que le pH du miel se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar et entre 4,5 et 5,5 pour les miels de miellat.

Le pH des miels analysés (figure 4) oscille entre  $3,42 \pm 0,01$  (M6) pour le miel de *Fabaceae* à  $6,38 \pm 0,06$  (M7) pour le miel d'*Eucalyptus*.

La plupart des miels étudiés ont une acidité élevée. Ils sont probablement issus du miel du nectar car leur pH est  $\leq 4$ . Par ailleurs, les échantillons M7 et M12 présentent des pH élevés (5,80 et 6,38, respectivement) qui diffèrent significativement de ceux des autres miels, ceci peut signifier que ce sont des mélanges de miels de miellat et de nectar.

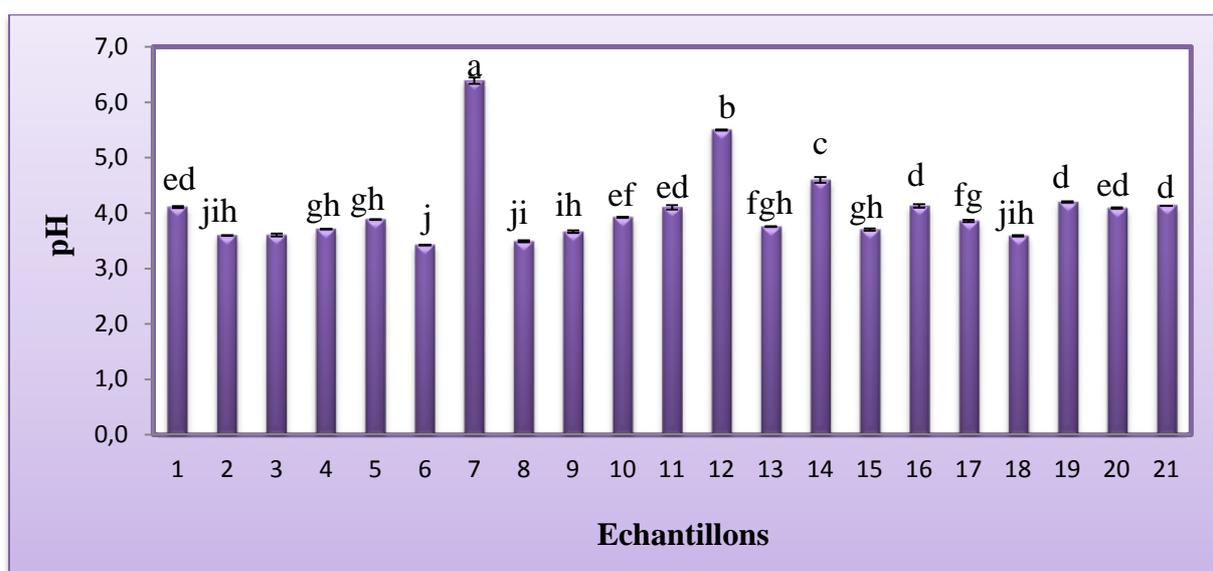


Figure 3: pH des échantillons de miels.

Ces résultats rentrent dans l'intervalle des pH obtenus par **Makhloufi et al. (2010)** sur soixante-six miels Algériens, **Serem et Bester (2012)** pour les miels d'Afrique du sud, **Tornuk et al. (2013)** pour les miels de Turkey et **Nair (2014)** pour les miels d'Algérie.

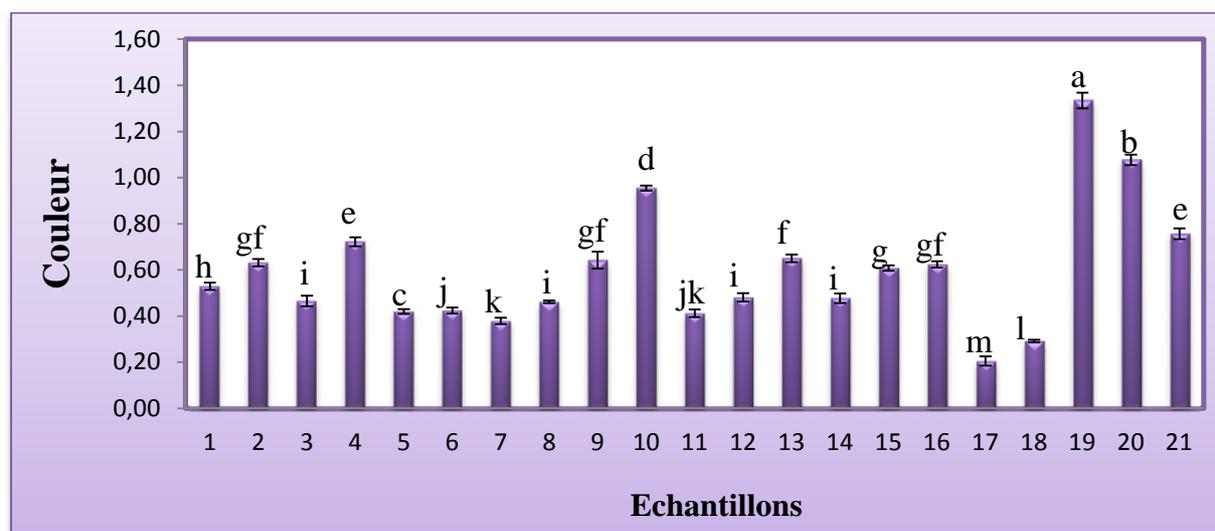
Généralement, le miel est acide en nature, indépendamment de son origine géographique (**Ribeiro et al., 2014**). Le pH du miel peut être influencé par les différentes sources de nectar, le sol, l'action de la glucose oxydase et la quantité des minéraux (**Finola et al., 2007**).

### III.1.3- Couleur

La couleur du miel est l'une des propriétés sensorielles perçues par les consommateurs. Les résultats de la couleur varient entre  $0,20 \pm 0,02$  à  $1,33 \pm 0,03$  qui correspondent à la couleur verdâtre et brun foncé, respectivement, avec une moyenne de  $0,62 \pm 0,02$ .

Les échantillons M5 (*Erica*), M20 et M19 (multifloral) présentent des densités optiques élevées (1,02, 1,07 et 1,33, respectivement) qui diffèrent significativement de celles des autres miels. Neufs miels (M8, M3, M14 et M12; M16, M2 et M9; M4 et M21) ont la même couleur ( $p < 0,05$ ). Selon les valeurs de la densité optique, les autres miels analysés sont classés par ordre croissant: M17 < M18 < M7 < M11 < M6 < M1 < M15 < M13 < M10 < M5 < M20 < M19. Ces résultats sont dans l'intervalle des valeurs rapportées par **Mouniruzzman et al. (2013)**; **Bentabol Manzanares et al. (2014)**; **Das et al. (2015)**.

La couleur d'un miel est étroitement liée à son origine botanique, à sa composition chimique, à sa teneur en minéraux, pollen et principalement à la présence des pigments (caroténoïdes, flavonoïdes, dérivés des tannins et polyphénols), qui sont également connus pour avoir des propriétés antioxydantes (**Ribeiro et al., 2014**).



**Figure 4:** Couleur des échantillons de miels.

### III.1.4- Brix

Le miel est principalement constitué de glucides qui sont exprimés par degré de brix (Conti *et al.*, 2014). Ils sont responsables de sa viscosité, de son hygroscopicité et de sa cristallisation. La répartition entre les différents sucres permet de prévoir la vitesse de cristallisation d'un miel. Selon la directive de Commission européenne (1981), le taux de glucose et de fructose du miel devraient dépasser 60 g/100 g de miel pour le miel normal.

Le brix des miels analysés (figure 5) varie entre  $81 \pm 0,00$  % (M5) et  $87 \pm 0,00$  % (M10) avec une moyenne de  $83,82 \pm 0,00$  %. Ces données sont supérieures à celles obtenues par Islam *et al.* (2012) sur des miels du Bangladesh (42,8 à 60,6 %), Belay *et al.* (2013) sur des miels d'Ethiopie (60 à 85 %), Habib *et al.* (2014) sur des miels de régions arides (79 à 84,10 %).

Le miel M10 d'*Erica* et M13 de *fabaceae* possèdent les brix les plus élevés (88 % et 87 %, respectivement) qui diffèrent significativement de ceux des autres miels. Toutefois, l'échantillon M5 indique le taux de glucides le plus bas et diffère significativement par rapport aux autres échantillons.

Il n'y a aucune différence significative dans la teneur en glucides pour les échantillons de miels M3 et M5; M2, M6, M7, M18 et M19; M1, M4 et M17; M8, M9, M14 et M21.

La composition en glucides dans le miel dépend de l'origine botanique des plantes à partir desquelles le miellat ou le nectar a été récolté, de l'environnement, du climat et des conditions de stockage (Ouchemoukh *et al.*, 2012).

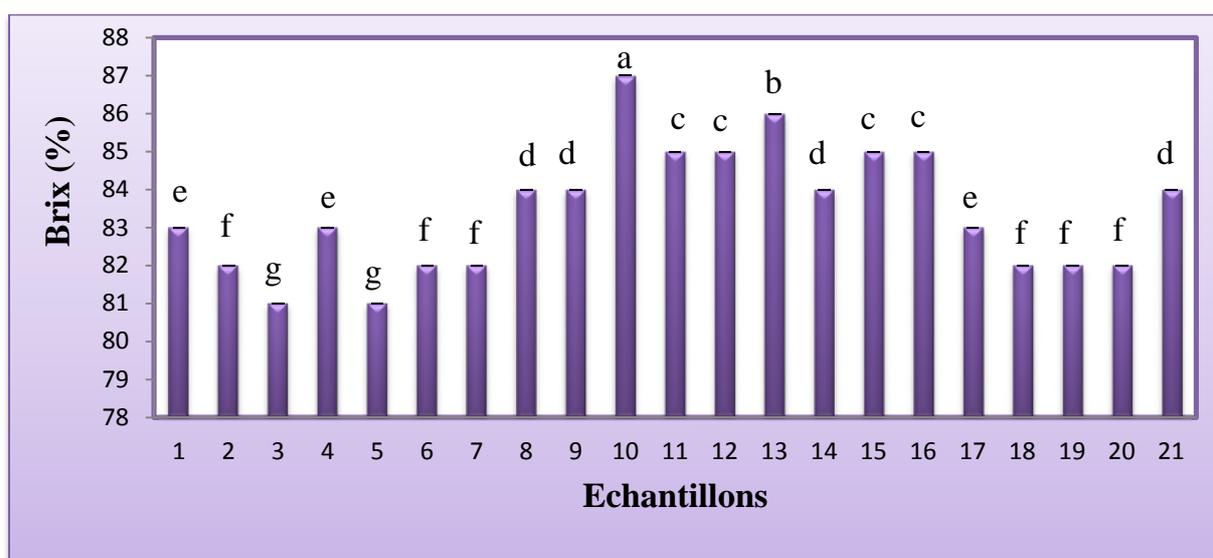


Figure 5: Brix des échantillons de miels.

### III.3.5-Conductivité électrique

La conductivité électrique est un critère valide pour déterminer l'origine botanique de celui-ci (miel de nectar et / ou miel de miellat) (**Silvano et al., 2014**). **Doukani et al. (2014)** ont rapporté que les miels de nectar ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm, ceux des miels de miellat supérieurs à 0,8 mS/cm et les valeurs médianes correspondent à des mélanges de deux origines (nectar et miellat).

La conductivité électrique des miels analysés (Figure 6) est comprise entre  $0,13 \pm 0,01$  mS / cm (M17) et  $1,67 \pm 0,04$  mS / cm (M19) avec une moyenne de 0,79 mS / cm. La plupart des miels analysés sont issus du nectar. Cependant, les miels M1, M2, M5, M7, M9, M12, M19, M20 et M21 sont issus du miellat ( $\geq 0,8$  mS / cm).

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux obtenus par **Lazarevic et al. (2012)** (0,16 à 0,64 mS / cm), **Belay et al. (2013)** (0,63 à 0,79 mS / cm), **Habib et al. (2014)** (0,15 à 0,69 mS / cm) et **Bettar et al. (2015)** (0,22 à 0,87 mS / cm).

La conductivité électrique est un paramètre qui varie considérablement selon l'origine florale (**Bettar et al., 2015**). Elle dépend des minéraux, des acides organiques, des teneurs en polyols et en protéines. Puisque des minéraux sont introduits dans le miel principalement avec le pollen, leur contenu dépend du pollen prédominant dans le miel (**Belay et al., 2013**).

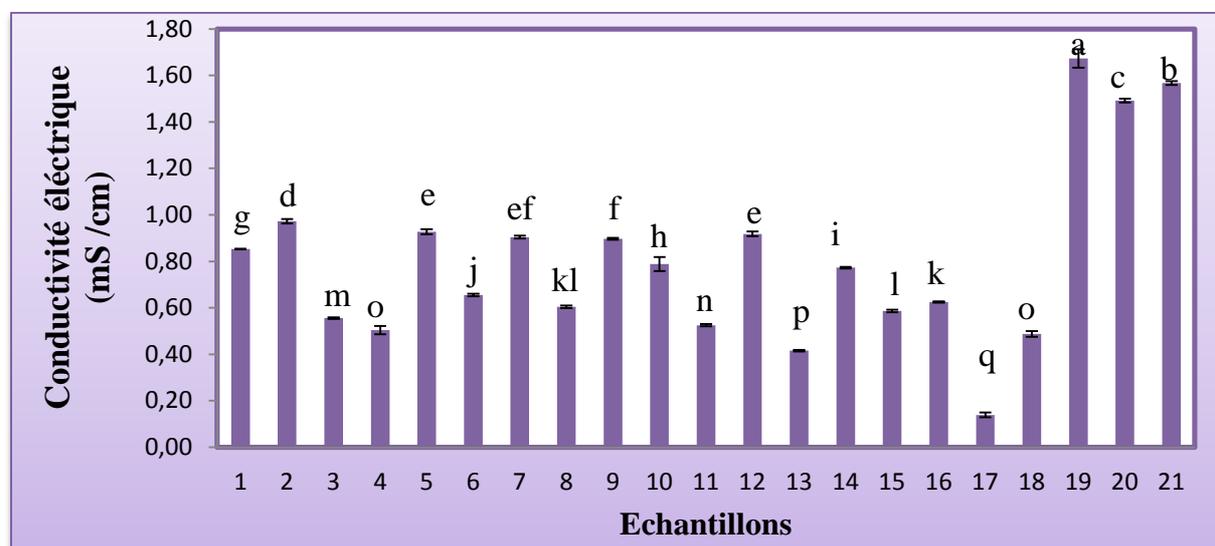
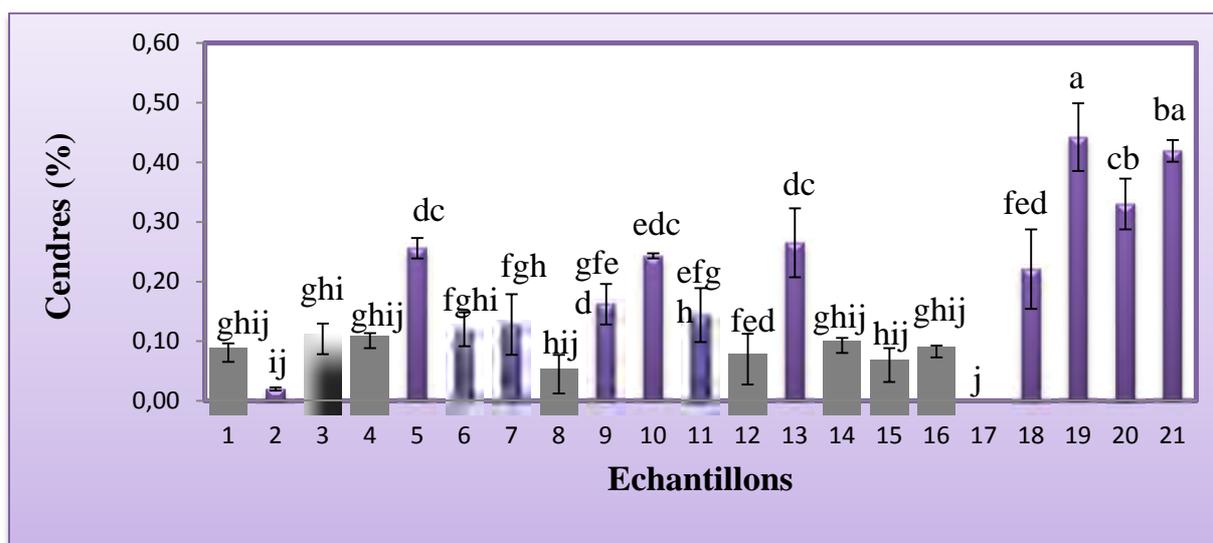


Figure 6: Conductivité électrique des miels.

### III.1.6- Cendres

La teneur en cendres est un critère de qualité utilisé pour déterminer l'origine botanique du miel. Les miels de fleurs ont une teneur en cendres inférieure ( $\leq 0,6$  %) que les miels de miellat ( $\leq 1,2$  %) (**Isla et al., 2011**).



**Figure 7:** Teneur en cendres des miels.

La teneur en cendres des miels analysés (figure 7) oscille de 0,00 (M17) à 0,44 % (M19) avec une moyenne de 0,23 %. Ces résultats sont en accord avec la limite autorisée (0,60 %) par **Codex Alimentarius (1981)**. Les miels M19 et M21 d'origine multifloral présentent la teneur en cendres la plus élevée (0,42 et 0,44, respectivement) et distinctes significativement de celle des autres miels. Tous les échantillons analysés présentent des différences significatives à l'exception de M8 et M15; M1, M4, M14 et M16. Les échantillons M12 et M18 exhibent une teneur en cendres identiques.

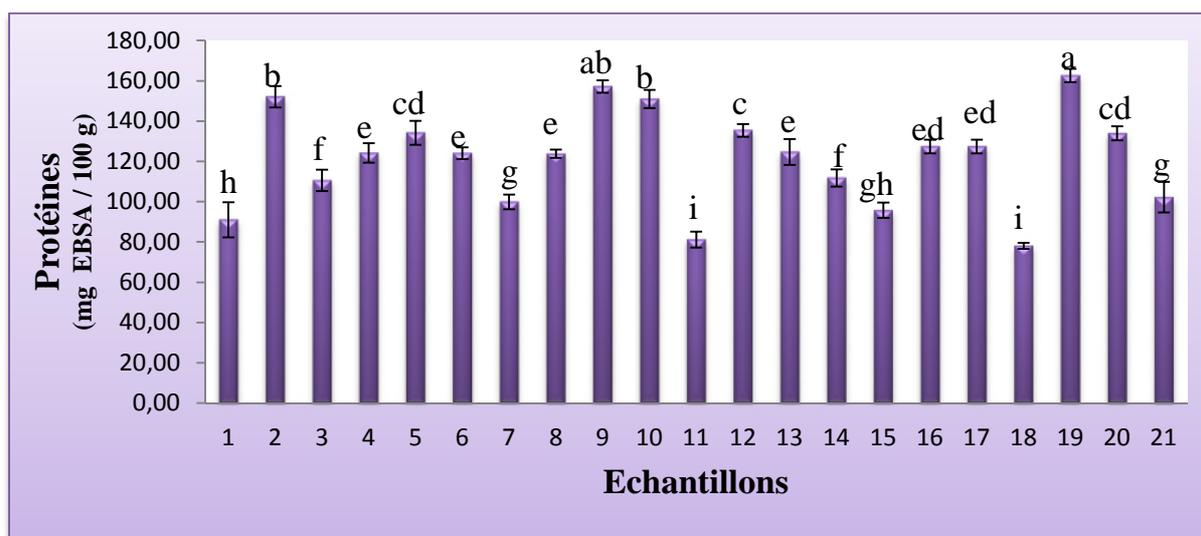
Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux de **Finola et al. (2007)** et **Isla et al. (2011)** sur les miels d'Argentine, **Doukani et al. (2014)** sur les miels d'Algérie et **Habib et al. (2014)** sur les miels des régions arides.

Les différentes variations du miel en cendres peuvent être attribuées à la variabilité du type de sol, à la concentration des minéraux existants dans le nectar des plantes utilisées par les abeilles butineuses, aux facteurs environnementaux, géographiques et aux procédés de récolte par l'apiculture (**Finola et al., 2007; Belay et al., 2013**).

### III.1.7- Protéines

La teneur en protéines des miels étudiés (figure 8) varie de  $78,03 \pm 1,56$  (M18) pour le miel multifloral à  $162,63 \pm 3,51$  mg EBSA / 100 g (M19) pour le miel de même origine florale, avec une moyenne de  $121,44 \pm 4,31$  mg EBSA / 100 g.

L'échantillon M19 (multifloral) présente la teneur en protéines la plus élevée qui diffère significativement de celle des autres miels, ceci peut être expliqué par la présence d'une concentration élevée du pollen dans ce miel et à l'origine botanique.



**Figure 8:** Teneur en protéines des miels.

Les miels de Fabaceae (M16) et multifloral (M17) présentent des teneurs en protéines identiques ( $p < 0,005$ ). Selon les taux en protéines, les miels analysés sont classés par ordre croissant:

M18 < M11 < M1 < M15 < M7 < M21 < M3 < M14 < M8 < M6 < M4 < M13 < M17 = M16 < M20 < M5 < M12 < M10 < M2 < M9 < M19.

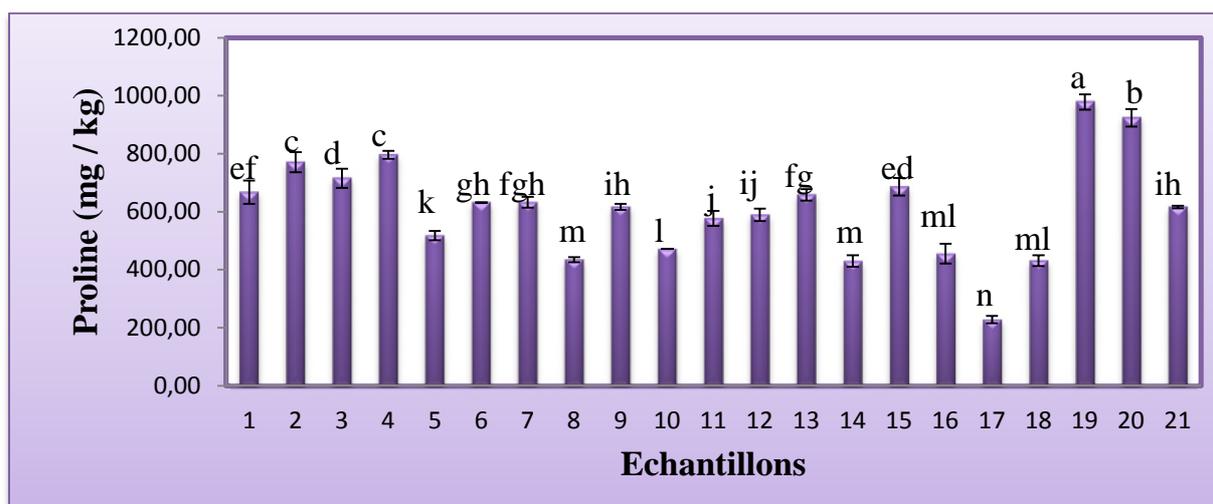
Les résultats sont similaires à ceux rapportés par **Küçük et al. (2007)** (16 à 170 mg EBSA / 100 g) et **Yucel et Sultanoglu (2013)** (13 à 115 mg EBSA / 100 g).

Les concentrations en protéines des miels varient suivant leurs origines botanique et géographique, les conditions et le temps de leur entreposage, la présence des enzymes ajoutées par des abeilles pendant le processus de mûrissement et aux grains de pollen y présents (**Alvarez-Suarez et al., 2010; Moniruzzaman et al., 2013**).

### III.1.8- Teneur en proline

La proline est un acide aminé important qui est produit la plupart du temps à partir des sécrétions salivaires des abeilles pendant la conversion du nectar et/ou miellat au miel. Le taux en cet amino-acide est un signe de maturité de miel (**Mouniruzzaman et al., 2013**).

La concentration en proline dans les différents miels analysés (figure 9) varie de  $517,49 \pm 12,22$  (M17) à  $987,25 \pm 26,61$  mg / kg (M19) pour des miels toutes fleurs, respectivement. Ces valeurs sont supérieures à 180 mg / kg, limite minimale pour les miels authentiques (**Bogdanov et al., 1999**).



**Figure 9:** Teneur en proline des échantillons de miels.

Ces résultats indiquent la maturité des miels analysés et l'absence d'adultération. Les miels M19 et M20 présentent des teneurs en proline les plus élevées (987,25 et 923,88 mg / kg, respectivement) qui diffèrent significativement de celles des autres miels. Tous les échantillons étudiés présentent des différences significatives. Les miels polyfloraux à savoir M1, M2, M3, M4, M1 et M19 indiquent des concentrations en proline les plus élevées qui sont significativement distinctes par rapport à celles des miels monofloraux.

Les résultats de cette étude sont en accord avec ceux de **Ouchemoukh et al. (2007)** sur les miels Algériens, **Bentabol Manzanares et al. (2014)** sur les miels d'Espagne et **Can et al. (2015)** sur les miels de Turquie. Ces valeurs distinctes peuvent être dues à la source florale visitée par les butineuses et la force de la colonie d'abeilles. Quelques auteurs ont également rapporté que les concentrations élevées de la proline sont également typiques des miels de miellat (**Ouchemoukh et al., 2007; Khalil et al., 2012**).

### III.1.9- Teneur en 5- hydroxy-3- méthyl-2-furfural (HMF)

La teneur de l' HMF dans le miel est largement utilisée comme paramètre de fraîcheur. Sa teneur est faible dans les miels frais et tend à augmenter pendant le traitement et/ou le vieillissement du produit (**Bogdanov et al., 2004**).

L'analyse spectrométrique des échantillons de miels (figure 10) révèle des teneurs en HMF qui sont situées entre 0,00 (M14) et 47,25 mg / kg (M8) avec une moyenne de 10,24 mg / kg .

Tous les échantillons analysés ont des teneurs en HMF inférieurs à 40 mg / kg, limite maximale fixée par le **Codex alimentarius (1981)**. Par conséquent, ils sont des miels frais et de bonne qualité.

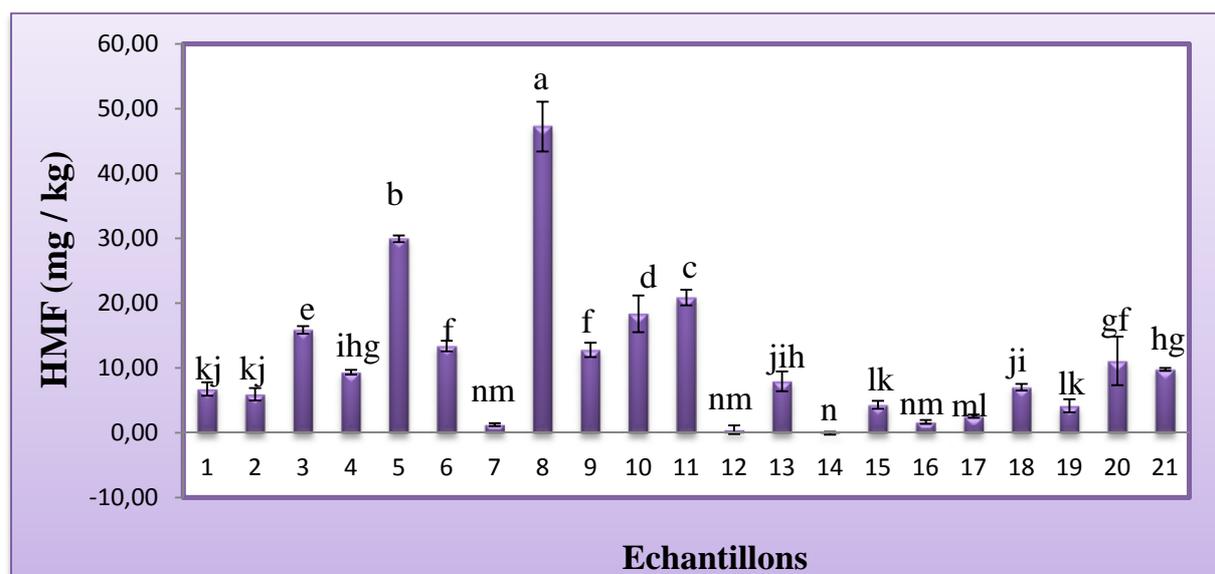


Figure 10: HMF des échantillons de miels analysés.

Le miel M8 présente un taux en HMF supérieure à la norme. Ceci pourrait s'expliquer par son chauffage ou à son stockage dans de mauvaises conditions. Ces résultats sont différents des concentrations d'HMF rapportées par **Isla et al. (2011)** (4 à 26, 28 mg / kg); **Doukani et al. (2014)** (5,3 à 55,29 mg / kg); **Habib et al. (2014)** (0,17 à 79,26 mg / kg) et **Bettar et al. (2015)** (2,54 à 85,48 mg / kg).

Plusieurs facteurs influencent le taux de l' HMF tels que le pH, la source florale, la température, le temps du chauffage et les conditions de stockage (**Bogdanov et al., 2004;** **Habib et al., 2014**).

### III.1.10- Pouvoir rotatoire

L'activité optique du miel dépend des types et des proportions relatives de glucides. En raison de la fraction de masse élevée en fructose, le miel de nectar tourne l'angle de lumière polarisée vers la gauche (lévogyre), d'une part; d'autre part, en raison de la fraction de masse plus élevée d'oligosaccharide (principalement mélézitose et erlose), le miel de miellat tourne l'angle de lumière polarisée vers la droite (dextrogyre). La mesure de la rotation optique est employée pour distinguer le miel de nectar du miel du miellat (**Lazarevic et al., 2012**).

La plupart des échantillons analysés sont lévogyres. Les valeurs de la rotation optique des miel étudiés varient entre  $-18,86 \pm 0,18$  (M11) et  $+1,47 \pm 0,02$  (M21) (Tableau II). Le M11 ( $-18,86$ ) et M15 ( $-11,31$ ) sont très lévogyres. Les échantillons M20 et M21 sont dextrogyres ( $+0,74 \pm 0,03$  et  $1,47 \pm 0,02$ , respectivement). Ils pourraient être des mélanges de miel de nectar et de miellat.

**Tableau II:** Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons	Pouvoir rotatoire	Echantillons	Pouvoir rotatoire	Echantillons	Pouvoir rotatoire
M1	- 3,17 ± 0,03	M8	- 6,88 ± 0,01	M15	- 11,31 ± 0,04
M2	- 6,32 ± 0,01	M9	- 4,83 ± 0,05	M16	- 1,54 ± 0,12
M3	- 6,35 ± 0,05	M10	- 3,16 ± 0,01	M17	- 1,55 ± 0,12
M4	- 6,84 ± 0,04	M11	- 18,86 ± 0,18	M18	- 6,39 ± 0,04
M5	- 3,79 ± 0,02	M12	- 1,24 ± 0,02	M19	- 1,98 ± 0,00
M6	- 7,36 ± 0,06	M13	- 2,94 ± 0,02	M20	+ 0,74 ± 0,03
M7	- 0,66 ± 0,01	M14	- 6,14 ± 0,05	M21	+ 1,47 ± 0,02

## III.2- ANALYSES PHYTO-CHIMIQUES

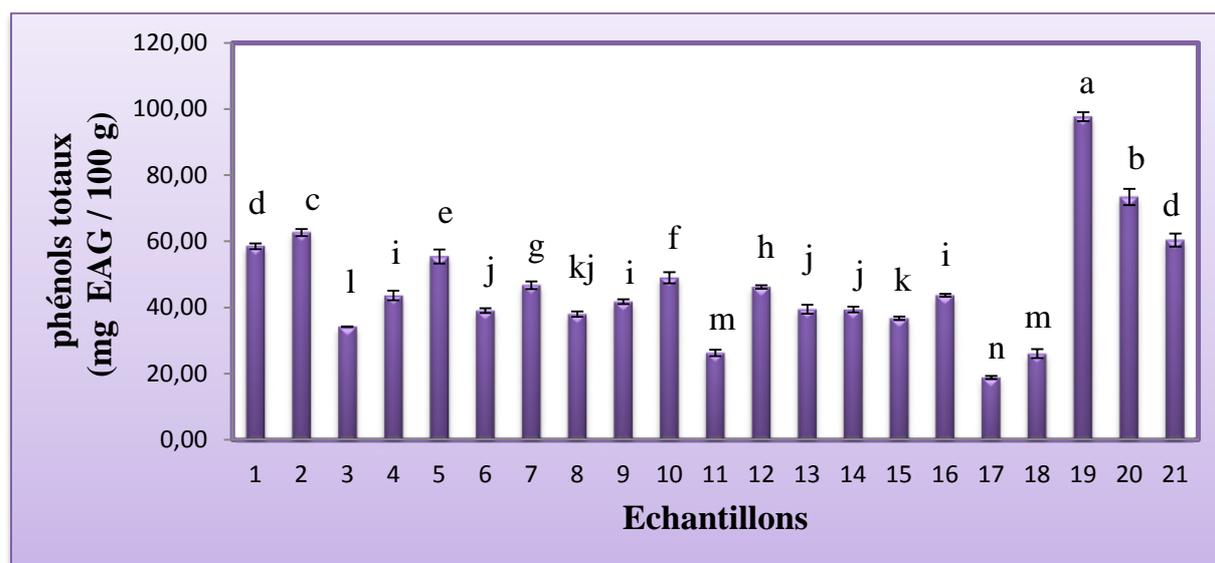
### III.2.1- Composés phénoliques totaux

Les polyphénols sont un groupe important de composés déterminant l'aspect et les propriétés fonctionnelles du miel (**Alvarez-saurez et al., 2010**).

Les résultats obtenus ont montré que la concentration en polyphénols enregistrée dans les miels varient considérablement de  $18,85 \pm 0,51$  (M17) à  $97,63 \pm 1,34$  mg d' EAG / 100 g de miel (M19) avec une moyenne de  $46,55 \pm 1,09$  mg d'EAG / 100 g de miel (figure 11). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Al waili et al. (2013)** (23,90 à 72,80 mg d'EAG / 100 g) et **Anjos et al. (2015)** (11,79 à 84,31 mg d'EAG / 100 g). Cependant, ils sont distincts de ceux d' **Escuredo et al. (2013)** (92,2 à 140,6 mg d'EAG / 100 g) et **Rodriguez Flores et al. (2015)** (79,5 à 187 mg d'EAG / 100 g).

Le miel M19 enregistre le taux le plus élevé en polyphénols totaux (97,63 mg d' EAG /100 g) qui diffère significativement par rapport aux autres miels. Toutefois, le miel M17 présente le taux le plus faible en ces composés (18,85 mg d' EAG /100 g de miel). Les échantillons M18 et M11 (Multifleurs); M6 (Fabaceae), M14 (*Eucalyptus*) et M13 (Fabaceae); M16 (Fabaceae), M4 et M9 (Mulifleurs) n'indiquent pas de différences significatives dans leurs concentrations en phénols totaux.

Les miels M17, M18, M11, M3, M15, M1, M21 et M19 (Multifleurs); M15 et M8 (*Fabaceae*); M12, M7, M2 et M20 (*Eucalyptus*); M5 et M10 (*Erica*) enregistrent des différences significatives dans la teneur en phénols totaux.



**Figure 11:** Teneur en phénols totaux des échantillons de miels.

La concentration et le type de substances phénoliques du miel dépendent de l'origine géographique et surtout de l'origine florale (Rodriguez Flores *et al.*, 2015). Il est plausible que le contenu phénolique élevé dans les plantes soit transféré dans le nectar et le pollen qui sont récoltés par les abeilles et introduit par la suite au miel, contribuant ainsi, au contenu phénolique élevé observé dans le produit (Anjos *et al.*, 2015). En général, les miels les plus foncés contiennent des quantités phénoliques supérieures aux miels plus clairs, ainsi, ils possèdent une plus grande capacité antioxydante (Doukani *et al.*, 2014).

### III.2.3- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés à faible poids moléculaire responsables de l'arôme et du potentiel antioxydant du miel ainsi que d'activités antimicrobienne et anticancéreuse (Mouniruzzman *et al.*, 2014).

Le taux de flavonoïdes des miels analysés indique un intervalle allant de  $1,06 \pm 0,03$  (M17) à  $17,60 \pm 0,14$  mg EC/100 g (M19) avec une moyenne de  $5,12 \pm 0,12$  mg EC/100 g (figure 12).

L'échantillon M19 (multifleurs) présente une teneur en flavonoïdes la plus élevée ( $17,60 \pm 0,14$  mg EC/100 g) qui diffère significativement de celle des autres miels analysés.

Les échantillons M6 (*Fabaceae*) et M11 (miltifleurs); M3 (multifleurs), M7 (*Eucalyptus*) et M8 (*Fabaceae*); M16 (*Fabacea*) et M12 (*Eucalyptus*); M21 et M15 (Multileurs) avec M13 ne présentent pas de différences significatives. Cependant, les miels M19, M5, M20, M4, M9, M10, M14, M1, M18 et M17 enregistrent des différences significatives dans la teneur en ces composés.

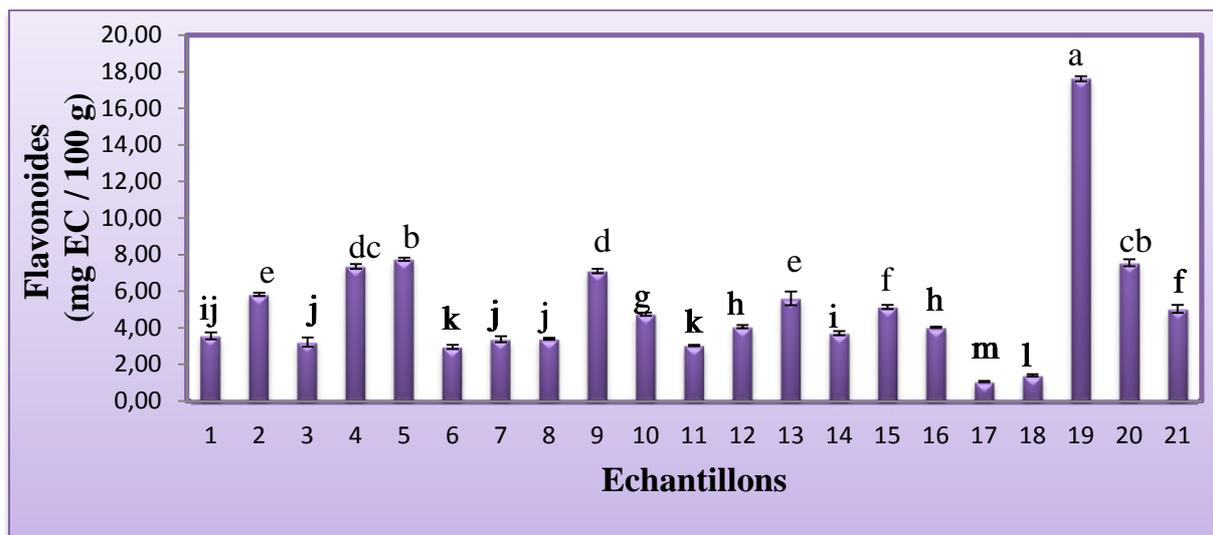


Figure 12: Teneur en flavonoïdes des échantillons de miels.

Les résultats obtenus sont en accords avec ceux rapportés par **Escuredo *et al.* (2013)** (4,3 à 9,6 mg EC / 100 g); **Canadanovic-Brunet *et al.* (2014)** (6,53 à 19,02 mg EC / 100 g ) et **Rodriguez Flores *et al.* (2015)** (6,6 à 13,1 mg EC / 100 g).

**Ouchemoukh (2012)** a identifié dans les miels Algériens 16 flavonoïdes appartenant à 4 classes différentes: flavone (galangine, apigénine, chrysine et lutéoline), flavonol (kaempferol, quercétine, isorhamnetine, myricétine et kaempferide), flavonone (isosakuranetine, pinobanksine, pinocembrine) et isoflavones (génistéine et daidzéine).

### III.2.3- Teneur en proanthocyanidines

Le taux de proanthocyanidines pour les échantillons de miels étudiés varie de  $1482,7 \pm 18,48$  (M8) à  $6176,31 \pm 419,70$  mg EC / 100 g (M21) avec une moyenne de  $2854,24 \pm 132,20$  mg EC / 100 g (figure 13).

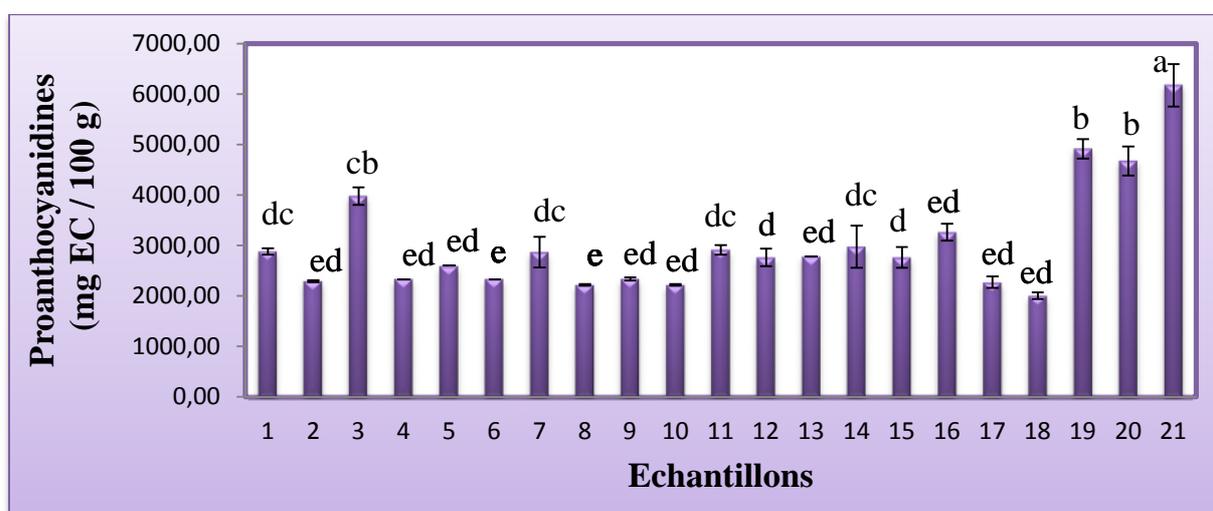


Figure 13: Teneur en proanthocyanidines des échantillons de miels.

Les miels analysés présentent des différences significatives dans leurs teneurs en proanthocyanidines: M21 > M19 > M20 > M3 > M14 > M11 > M1 > M7 > M15 > M12 > M5 > M4 > M9 > M2 > M10 > M17 > M16 > M18 > M13 > M6 > M8.

### III.3- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

#### III.3.1- Activité antiradicalaire par DPPH

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Zhou *et al.*, 2012).

Le pourcentage d'inhibition des échantillons des miels étudiés varient entre  $7,82 \pm 2,58$  (M17) et  $74,81 \pm 1,61$  % (M19) avec une moyenne de  $23,11 \pm 1,40$  % (figure 14). Cet intervalle de valeurs est supérieur à celui signalé par Doukani *et al.* (2014) (3,42 à 22,06 %). Néanmoins, il est similaire à celui indiqué par Zhou *et al.* (2012) (37,2 à 56,4 %).

L'échantillon de miel M19 (Multifleur) révèle une intéressante activité antioxydante (74,81 %) qui diffère significativement en comparaison avec d'autres miels. Ceci confirme la possibilité qu'il contient la plus grande quantité de composés accepteurs de radicaux libres et le plus grand potentiel antioxydant. Par contre, un faible pourcentage d'inhibition caractérise le miel M17 (23,11 %) (Multifleur).

L'activité antiradicalaire des autres échantillons se présente comme suit : M21 > M20 > M7 > M5 > M10 > M9 > M12 > M2 > M14 > M8 > M1 > M6 > M3 > M15 > M13 > M4 > M16 > M18 > M11.

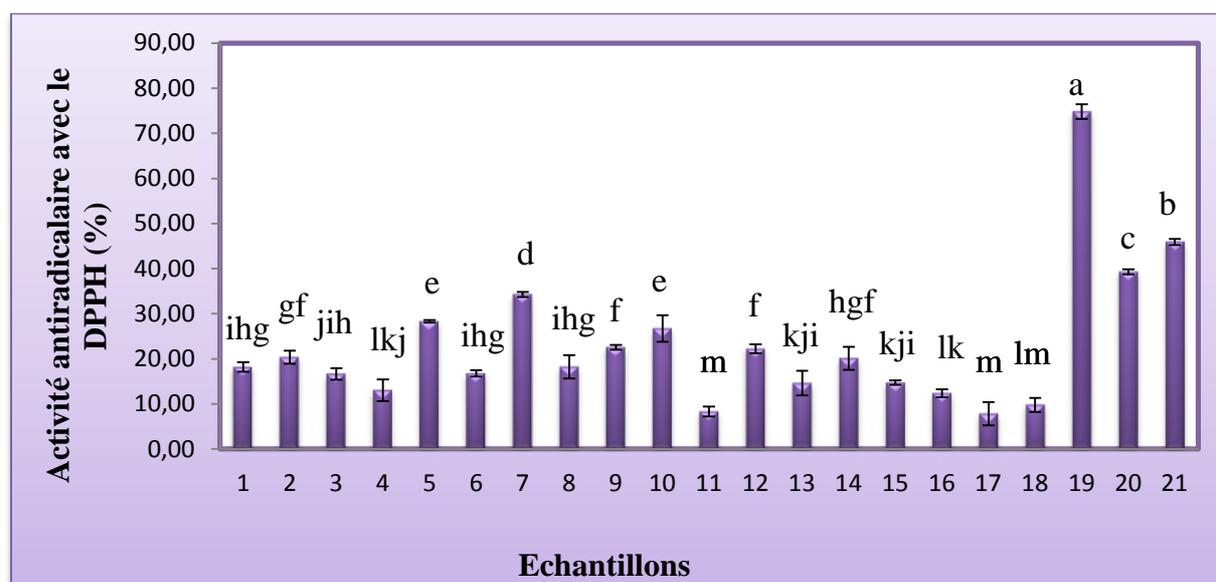


Figure 14: Activité antiradicalaire DPPH des échantillons de miels.

L'activité antioxydante des miels dépend en grande partie de leur composition chimique (telle que les phénols, les flavonoïdes, les enzymes, les acides organiques, les acides aminés, l'acide ascorbique et les caroténoïdes) (**Rodriguez Flores et al., 2015**).

Par ailleurs, la quantité de ces composants varie largement en fonction de l'origine florale et géographique du miel (**Doukani et al., 2014**).

**Beretta et al. (2005)** ont constaté que les miels de couleur foncé ont une teneur élevée en composés phénoliques totaux et par conséquent une capacité antioxydante élevée.

### III.3.2- Activité antiradicalaire par l'ABTS

L'activité antiradicalaire par l'ABTS est une autre méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> et le réduire en sa forme neutre ABTS sans couleur (**Khalil et al., 2012**).

L'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels étudiés est comprise entre 11,33 et 69,04 % avec une moyenne de 29,04 % (figure 15). Ces résultats sont distincts de ceux rapportés par **Isla et al. (2011)** et **Habib et al. (2014)**: 65 à 80 % et 40 à 80 %, respectivement.

Le pouvoir antioxydant du miel M19 (multifloral) est le plus élevé ( $96,04 \pm 1,29$  %) parmi tous les miels, ceci est probablement dû aux phénols totaux car ce sont les principaux facteurs responsables des activités antioxydantes. Néanmoins, le miel M3 (multifleur) indique la plus faible capacité antioxydante ( $11,33 \pm 1,03$  %) qui diffère significativement par rapport aux autres miels, témoignant de ce fait du contraire concernant sa teneur en composés antioxydants.

Les miels M2 et M8 présentent une activité antiradicalaire identique même s'ils proviennent d'une source florale différente à savoir *Eucalyptus* et *Fabaceae*, respectivement, ceci est peut-être dû à leur composition chimique.

Les propriétés antioxydantes du miel sont d'une part liées aux substances enzymatiques (catalase, glucose oxydase et la peroxydase) et d'autre part, elle est liée aux composés non-enzymatiques (acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérol, caroténoïdes, acides aminés, protéines, produits de réaction de Maillard, flavonoïdes et acides phénoliques). La quantité et le type de ces antioxydants dépendent en grande partie de la source florale ou de la variété du miel. Une corrélation entre l'activité antioxydante avec le contenu phénolique total est établie (**Khalil et al., 2012**).

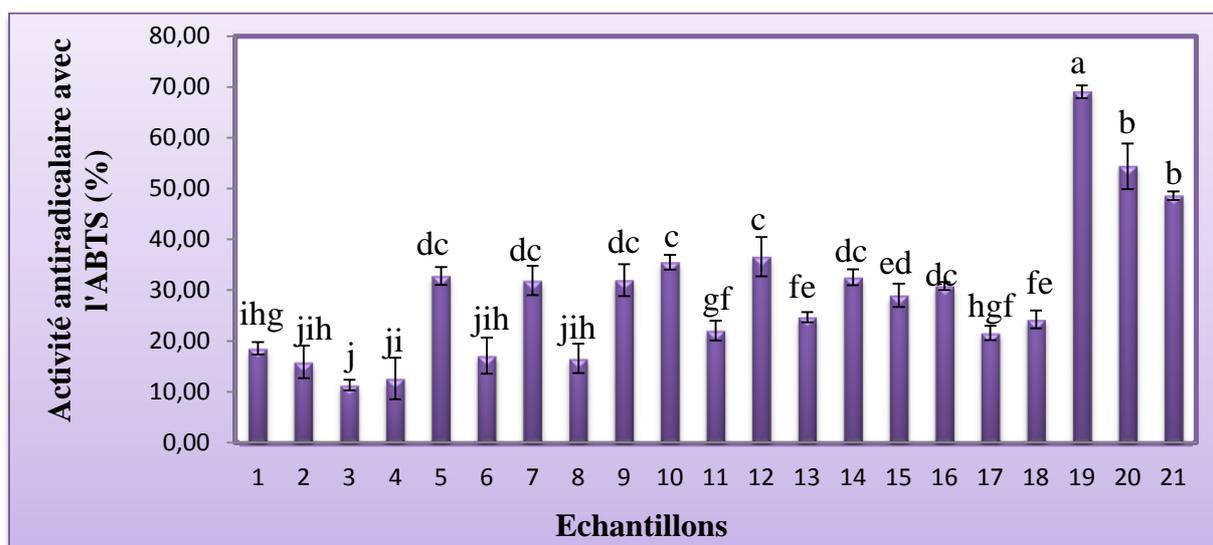


Figure 15: Activité antiradicalaire ABTS des échantillons de miels.

### III.3.3- Piégeage du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle est l'un des radicaux libres les plus actifs, ils provoquent l'hydroxylation de l'ADN, des protéines et des lipides et causent la mort cellulaire. Le radical hydroxyle est produit à partir du peroxyde d'hydrogène et ions ferreux par l'intermédiaire de la réaction de Fenton (Liu *et al.*, 2013).

Le piégeage du radical hydroxyle par les différents échantillons de miels étudiés varient de 0,00 à 87,91 % avec une moyenne estimée à  $73,37 \pm 1,06$  % (figure 16). Ces résultats sont distincts de ceux rapportés par Zhou *et al.* (2012) (23 à 44 %) et Liu *et al.* (2013) (15 à 85 %).

L'échantillon M17 indique la valeur la plus faible ( $0,0 \pm 9,57$  %) donc il ne présente aucune capacité à inhiber le radical hydroxyle. Toutefois, le miel M19 possède l'activité antioxydante la plus élevée ( $87,88 \pm 0,47$  %) et se distingue significativement par rapport à celle des autres miels. Ce potentiel antioxydant important est dû probablement à leur teneur élevée en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et proline.

Une capacité antiradicalaire non significative est observée pour les miels M8 (*Fabaceae*), M15 et M3 (Multifleurs); M1 (Multifleurs) et M12 (*Eucalyptus*); M6 (*Fabaceae*), M21 (Multifleurs) et M2 (*Eucalyptus*); M20 et M14 (*Eucalyptus*); M11 et M4 (Multifleurs) ainsi que M7 (*Eucalyptus*). Ceci peut être dû à leur composition chimique, essentiellement en leur teneur en phénols totaux.

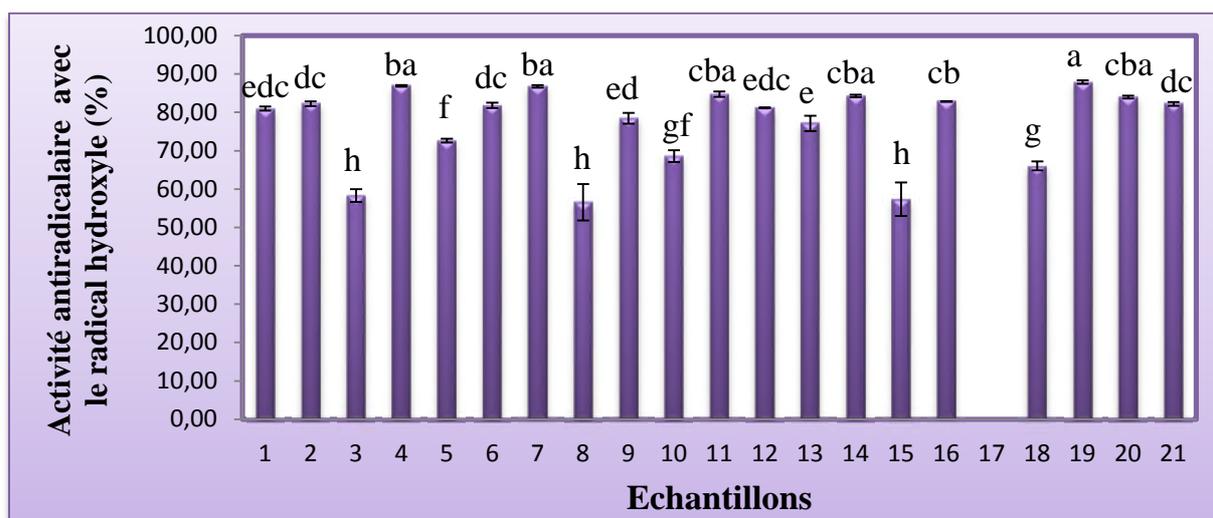


Figure 16: Activité antiradicalaire OH· des échantillons de miels

Zhou *et al.* (2012) ont rapporté une forte corrélation entre les composés phénoliques totaux et la propriété scavenging des radicaux libres.

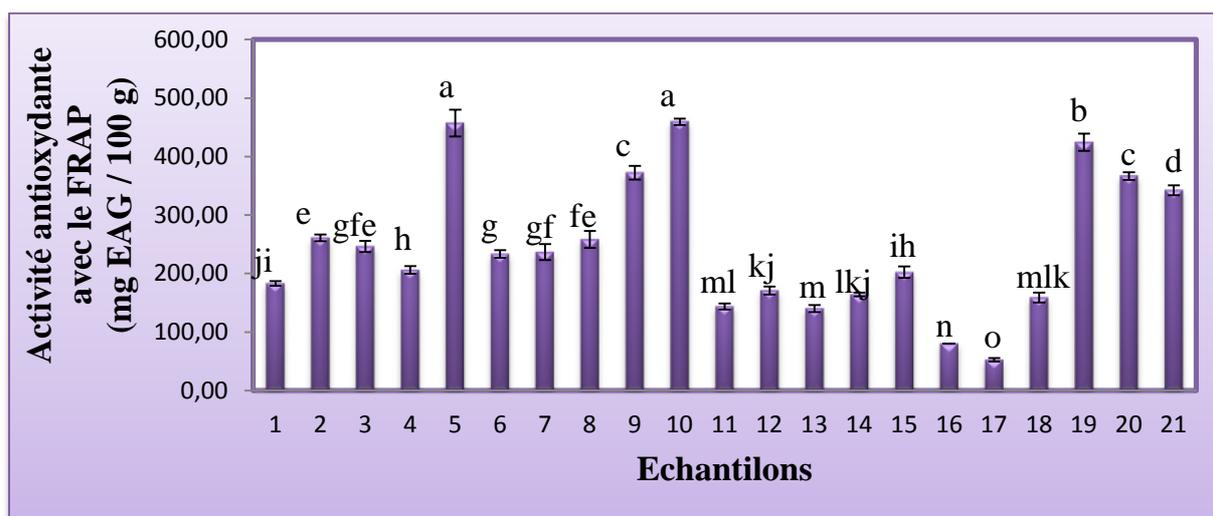
Généralement, les miels multif floraux ont des propriétés antioxydantes plus élevées car ils sont riches en phénols totaux comparés aux miels monofloraux. Cette différence est due à l'origine botanique du miel (Islam *et al.*, 2012)

### III.3.4- Test de FRAP

Le test de FRAP est un test simple et direct employé couramment pour la détermination de l'activité antioxydante dans beaucoup de substances, y compris le miel. Il donne une estimation directe des antioxydants présents dans l'échantillon. Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique en fer ferreux ( $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ ) (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

L'activité antioxydante des différents miels étudiés (figure 17) varie de  $52,65 \pm 2,84$  à  $459,42 \pm 5,35$  mg EAG/100 g avec une moyenne de  $246,83 \pm 8,20$  mg EAG/100 g. Ces résultats sont supérieurs à ceux de Suan Chua *et al.* (2013) et Doukani *et al.* (2014) : 52,38 à 82,52 mg EAA/100 g et 8,3 à 240 mg EAA/100 g, respectivement.

Les échantillons M5 et M10 ont un potentiel antioxydant le plus élevé: 457,07 et 459,42 mg EAG/100 g, respectivement, qui se distinguent significativement par rapport à celui des autres miels. Ceci indique leur grande réduction du fer ferrique en fer ferreux et leur puissant potentiel antioxydant. Le miel M17 indique la plus faible activité 52,65 mg EAG/100 g, témoignant ainsi de sa faible capacité antioxydante.



**Figure 17:** Activité antioxydante FRAP des échantillons de miels.

Le potentiel antioxydant enregistré diffère d'un miel à un autre et ceci est forcément dû à la qualité et quantité des composés phénoliques présents dans le miel.

Bien que les composés phénoliques contribuent remarquablement à la capacité antioxydante des miels, celle-ci est notamment le résultat de l'activité des peptides, des caroténoïdes, de l'acide ascorbique, des acides organiques et d'enzymes présents dans le miel (Tornuk *et al.*, 2013).

### III.3.5- Pouvoir réducteur

Tous les miels analysés ont la capacité de réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Les miels étudiés enregistrent un pouvoir réducteur (figure 18) allant de  $12,19 \pm 1,71$  (M17) à  $92,84 \pm 1,58 \pm 1,58$  mg EAG / 100 g (M19) avec une moyenne de  $26,76 \pm 1,09$  mg EAG / 100 g.

Les miels M19 (Multifleurs) et M20 (*Eucalyptus*) indiquent un potentiel antioxydant le plus élevé (92,84 mg EAG / 100 g et 54,15 mg EAG / 100 g, respectivement) et présentent une différence significative vis-à-vis des autres miels. Cependant, le miel M17 (Multifleurs) enregistre le potentiel antioxydant le plus faible (12,19 mg EAG / 100 g)

Les échantillons de miels M18 et M3 (Multifleurs); M13 et M11 (*Fabaceae* et Multifleurs, respectivement); M14 et M7 (*Eucalyptus*); M9 et M12 (Multifleurs et *Eucalyptus*, respectivement) n'enregistrent pas de différences significatives dans leur capacité à réduire le fer.

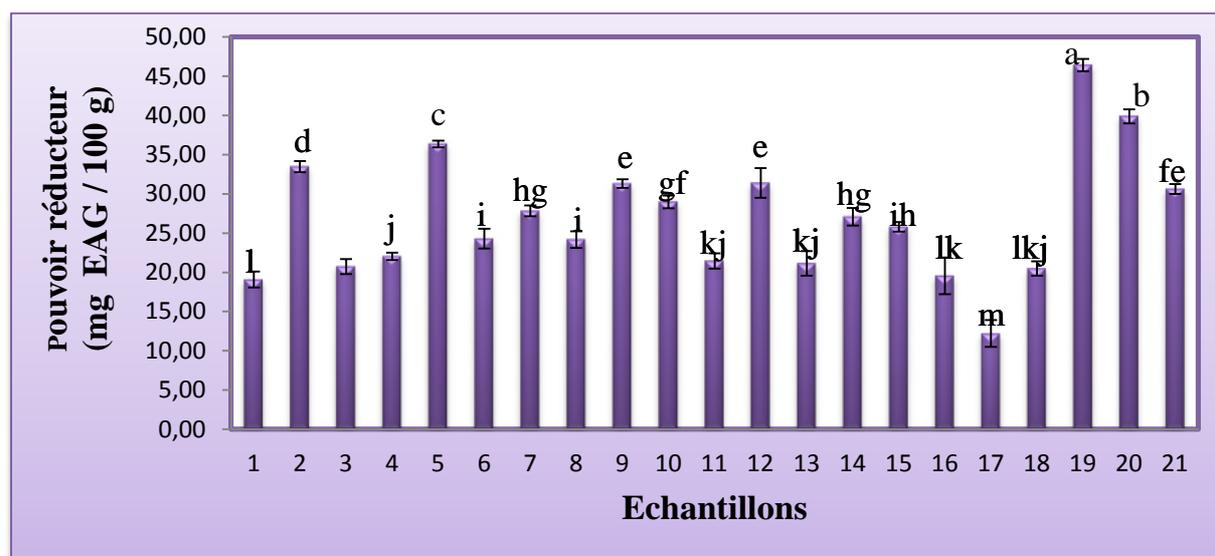


Figure 18: Pouvoir réducteur des échantillons de miels.

L'activité antioxydante des miels M17, M1, M16, M4, M15, M10, M21, M2 et M5 exhibent des différences significatives par rapport aux autres échantillons de miels.

Les résultats obtenus dans cette présente étude sont supérieurs à ceux de **Liu *et al.* (2013)** et **Canadanovic *et al.* (2014)**.

### III.3.6- Méthode au phosphomolybdate

La capacité de réduction de molybdate par les miels étudiés varie de 73,05 à 121,53 mg EAG / g de miel (figure 19). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Tournuk *et al.* (2013)** à savoir : 58,92 à 80,80 mg AAE / g.

Le M21, M17 (Multifleurs) et M20 (Eucalyptus); M8 (Fabaceae) et M2 (Eucalyptus); M6 (Fabaceae) et M7 (Eucalyptus); M9 (Multifleurs) et M14 (Eucalyptus), M10 (Erica) et M11 (Multifleurs) ne marquent pas de différences significatives dans leurs activités antioxydantes.

Des différences significatives pour les miels: M19, M18, M5, M3, M12, M16 et M13 sont constatées en leurs activités antioxydantes.

Il existe une grande variation dans le potentiel antioxydant des échantillons de miel. Ceci peut être attribué au climat et aux conditions environnementales dans lesquels les miels sont produits. D'ailleurs, les composés phénoliques totaux, la composition chimique et par conséquent l'activité antioxydante des miels dépendent de leur source florale (**Tournuk *et al.*, 2013**).

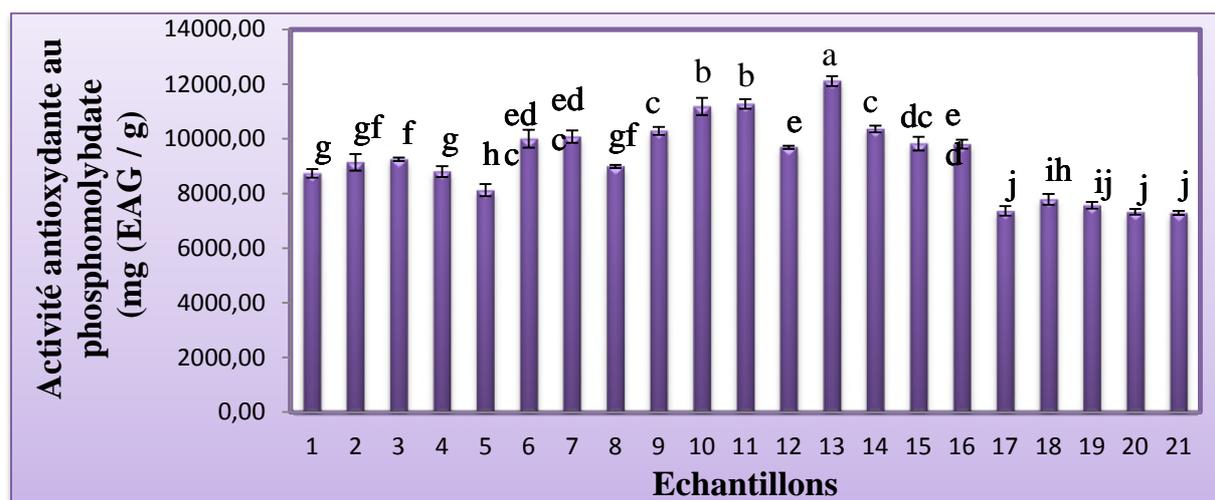


Figure 19: Activité antioxydante au phosphomolybdate des échantillons de miels.

### III.4- CORRELATIONS ANTIOXYDANTS ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES

L'analyse de la matrice de corrélation a révélé des relations très hautement significatives entre les antioxydants et le potentiel antioxydant.

La teneur en composés phénoliques totaux signalent des corrélations très hautement significatives ( $p < 0,001$ ) avec les différentes activités antioxydantes: pouvoir réducteur et les tests DPPH, FRAP, ABTS et radical hydroxyle dont les coefficients de corrélations sont:  $r = 0,86; 0,87; 0,65; 0,69$  et  $0,47$ , respectivement (figure 2, 3, 4, 5, 6, annexe III).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par certains auteurs dont **Saxena *et al.* (2010)**; **Ouchemoukh (2012)** et **Mouniruzzman *et al.* (2014)**.

De même que des corrélations observées à  $p < 0,001$  sont signalées entre les flavonoïdes et le pouvoir réducteur ( $r = 0,91$ ) et les tests avec DPPH ( $r = 0,80$ ), FRAP ( $r = 0,62$ ) et ABTS ( $r = 0,67$ ) (figure 7, 8, 9, 10, respectivement, annexe III). Ceci est en accord avec les résultats de **Escuredo *et al.* (2013)** et **Suan chua *et al.* (2013)**.

En outre, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des miels analysés présentent des valeurs très hautement significatives ( $r = 0,86$ ) (figure 1, annexe III). Ceci est en accord avec les résultats de **Ouchemoukh (2012)**; **Escuredo *et al.* (2013)** et **Canadanovic *et al.* (2014)** ( $r = 0,83; 0,63; 0,87$ , respectivement).

La teneur en proanthocyanidines présente une corrélation très hautement significative avec le pouvoir réducteur ( $r = 0,50$ ) et les activités antiradicalaires ( $r = 0,63$ , test avec DPPH;  $r = 0,69$ , test avec ABTS (figure 11, 12, 13, annexe III).

Le taux de proanthocyanidines est en parfaite corrélation ( $p < 0,001$ ) avec les composés phénoliques et flavonoïdes ( $r = 0,53$  et  $r = 0,40$ , respectivement,) (figure 14 et 15, respectivement, annexe III).

L'interdépendance étroite entre les phénols totaux et la capacité antioxydante du miel indique qu'elle est due à ces composés qui peuvent agir avec des substances biochimiques réactives. En effet, les échantillons de miels avec des teneurs élevées en ces composés exhibent une capacité antioxydante importante.

### III.5- CORRELATIONS COULEURS, ANTIOXYDANTS ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES

Une très forte corrélation ( $p < 0,001$ ) est établie entre la couleur des différents miels étudiés et les composés phénoliques ( $r = 0,84$ ), les flavonoïdes ( $r = 0,87$ ) (figure 1 et 2, Annexe IV), ainsi qu'avec quatre méthodes d'activités antioxydantes: pouvoir réducteur ( $r = 0,80$ ), DPPH ( $r = 0,75$ ), FRAP ( $r = 0,78$ ) et ABTS ( $r = 0,69$ ) (Figure 3, 4, 5, 6, respectivement, annexe IV).

Les résultats obtenus sont en accord à certains travaux des auteurs dont **Serem et Bester (2012)** et **Ouchemoukh (2012)** qui ont rapporté l'existence de corrélation très hautement significative entre la couleur, les polyphénols et les flavonoïdes ( $r = 0,87$ ;  $0,89$  et  $r = 0,74$ ;  $0,81$ , respectivement).

En outre, la présence de valeur très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre la couleur et le potentiel antioxydant est indiqué par **Canadanovic et al. (2014)** ( $r = 0,87$ ) et **Mouniruzzman et al. (2014)** ( $r = 0,83$  et  $0,89$  pour DPPH et FRAP, respectivement) et **Ouchemoukh (2012)** ( $r = 0,86$  et  $r = 0,60$  pour l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur, respectivement).

Le taux des phénols et flavonoïdes est habituellement inférieur pour les miels clairs comparés à des miels foncés. En outre, des concentrations élevées en pigments tels que les caroténoïdes trouvés dans les miels peuvent contribuer à sa couleur plus foncée et de ce fait à ses propriétés antioxydantes (**Khalil et al., 2012**). Ceci est relativement confirmé par la présente étude. Ainsi, l'échantillon M17 de couleur très clair enregistre de faibles teneurs en antioxydants et par conséquent, un potentiel antioxydant minime. D'autre part, les échantillons de couleur foncé révèlent de meilleures activités antioxydantes et des taux élevés en phénols totaux.

### III.6- CORRELATIONS PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET PROPRIETES ANTIOXYDANTES

L'analyse statistique des résultats de la présente étude indique l'existence d'une corrélation très hautement significative entre la teneur en cendres et l'activité antioxydante ( $r = 0,62$  avec le pouvoir réducteur;  $r = 0,69$  avec test au DPPH;  $r = 0,55$  avec le test d'ABTS et  $r = 0,72$  avec le test de FRAP) (figure 4, 5, 6 et 7, respectivement, annexe V).

De même que, des corrélations positives sont obtenues entre le taux de cendres et les composés phénoliques ( $r = 0,58$ ) et les flavonoïdes ( $r = 0,55$ ) ainsi qu'avec la couleur ( $r = 0,64$ ) (figure 1, 2, 3, respectivement, annexe V). Ces résultats confirment ceux obtenus par **Escuredo et al. (2013)** qui rapportent des corrélations positives entre la couleur, les polyphénols totaux ( $r = 0,55$ ) et les flavonoïdes ( $r = 0,84$ ).

Les protéines peuvent contribuer à l'activité antioxydante du miel. Ainsi, la teneur en protéines des différents échantillons de miels analysés révèlent des corrélations très hautement significatives entre les protéines et la couleur ( $r = 0,58$ ) (figure 8, annexe V), les antioxydants ( $r = 0,50$  et  $0,59$  qui correspondent, respectivement, aux polyphénols et flavonoïdes) (figure 9 et 10, Annexe V) et le potentiel antioxydant ( $r = 0,52$  pour le pouvoir réducteur;  $r = 0,41$  pour l'activité antiradicalaire par DPPH et  $r = 0,52$  pour le test de FRAP (figures 11, 12 et 13 respectivement, annexe V). Ces résultats sont supérieurs à ceux **d'Alvarez-Suarez et al. (2010)** qui rapportent un coefficient  $r = 0,34$  entre le taux de protéines et le test de FRAP; tandis que, **Mouniruzzman et al. (2014)** a obtenu un coefficient  $r = 0,96$  entre la teneur en protéines et le test de FRAP.

**Beretta et al. (2005)** ont signalé que le potentiel antioxydant dépend de la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes présents dans le miel. Cependant, cette propriété est due notamment à sa composition chimique tels que des enzymes, des acides organiques, des acides aminés, l'acide ascorbique et les caroténoïdes (**Rodriguez-Flores et al., 2015**).

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

- ❖ **Adam, G. (2011).** Botanique apicole, production du nectar et pollen. Ecole d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, p: 1- 11.
- ❖ **Ajibola, A., Idowu, G.O., Amballi, A.A., Oyefuga, O.H. et Iquot, I.S. (2007).** Improvement of some haematological parameters in albino rats with pure natural honey. *Journal of Biological Science Research*, 2: 67–69.
- ❖ **Ajibola, A., Chamunorwa, J.P. et Erlwanger, K.H. (2012).** Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition & Metabolism*, 9 (61): 1-12.
- ❖ **Alam, F., Islam, M.d., Gan, S.H. et Khalil, M.d. (2014).** Honey: A Potential Therapeutic Agent for Managing Diabetic Wounds: Review Article. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-6.
- ❖ **Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. et Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- ❖ **Al-Waili, N.S., Salom, K. et Al-Ghambi, A.A. (2011)** Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. *The scientific World Journal*, 11: 766-787.
- ❖ **AL-Waili, N., Al Ghamdi, A., Javed Ansari, M., Al-Attal, Y. Al-Mubarak, A. et Salom, K. (2013).** Differences in Composition of Honey Samples and Their Impact on the Antimicrobial Activities against Drug Multiresistant Bacteria and Pathogenic Fungi. *Archives of Medical Research*, 44: 307-316.
- ❖ **Andersen, M.H., Becker, J.C. et Straten, P.T. (2005).** Regulators of apoptosis: suitable targets for immune therapy of cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4 (5): 399–409.
- ❖ **Anjos, O., Iglesias, C., Peres, F. Martinez, J., Garcia, A. et Taboada, J. (2015).** Neural networks applied to discriminate botanical origin of honeys. *Food Chemistry*, 175: 128–136.
- ❖ **Ballot-Flurin, C. (2010).** Les fondements de la santé par les abeilles: l'apithérapie. *Les bienfaits de l'apithérapie*, 36268:1-162.
- ❖ **Bath, P.K. et Singh, N. (1999).** A comparison between helianthus annus and ecaliptus lanceolatus honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.

- ❖ **Belay, A., Solomon, W.K., Bultossa, G., Adgaba, N. et Melaku S. (2013).** Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.
- ❖ **Bentabol-Manzanares, A., Hernández-García, Z., Rodríguez-Galdón, B., Rodríguez, E. et Díaz Romero, C. (2014).** Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *Food Science and Technology*, 55: 572-578.
- ❖ **Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. et Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533: 185-91.
- ❖ **Bettar, I., Gonzalez-Miret, M.L., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia, F.J. et Terrab, A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry*, In press.
- ❖ **Bodin, J., Baudel, J., Piana, C., Celse, R., Ripert, C., Estève, R., Lopez, J.-M., Guéra, F., Martin, W. et Lemoine, T. (2013).** *Débroussaillement réglementaire et apiculture en forêt méditerranéenne*. Aix-en-Provence (Irstea): Vennetier. 1-40.
- ❖ **Bogdanov, S. et al. (1999).** Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 90: 108-125 .
- ❖ **Bogdanov, S., Bieri, K., Gremaud, G., Iff D., Kanzig, A., Seiler, K., Stockli, H. et Zurcher, K. (2003).** Produits Apicoles. *Miel*, 23: 1-37.
- ❖ **Bogdanov, S., Ruoff, K. et Persano Oddo, L. (2004).** Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4–17.
- ❖ **Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- ❖ **Bonte, F. et Desmoulière, A. (2013).** Le miel : origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 18-21.
- ❖ **Brudzynski, K. et Lannigan, R. (2012).** Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's hydrogen peroxide. *Front Microbiology*, 3: 1-36.
- ❖ **Canadanovi-Brunet, J., Cetkovic, G., Saponjaca, V.T., Stajcica, S., Vulica, J., Djilas, S., Stajnerb, D. et Popovic, B. (2014).** Evaluation of phenolic content,

- antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, 62: 1–7.
- ❖ **Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Akyuz Turumtay, E., Silici, S. et Kolayli, S. (2015).** An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180: 133–141.
  - ❖ **Codex Alimentarius (1981).** Revised codex standard for honey. *Codex stan*, 12: 1-10.
  - ❖ **Conti, M.E., Finoia, M.G., Fontana, L. Mele, G., Botrè, F. et Iavicoli, I. (2014).** Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters, *Chemistry Central Journal*, 8 (44): 2-10.
  - ❖ **Council Directive of the European Union. (2002).** Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. *Official Journal of the European Communities*, 10: 47–52.
  - ❖ **Couquet, Y., Desmolière, A. et Rigal, M.L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 22-25.
  - ❖ **Das, A., Datta, S., Mukherjee, S., Bose, S., Ghosh, S. et Dhar, P. (2015).** Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *Food Science and Technology*, 61: 244-250.
  - ❖ **Decourtye, A., Lecompte, P., Pierre, J., Chauzat, M.P. et Thiébeau, P. (2007).** Introduction de jachères florales en zones de grandes cultures : comment mieux concilier agriculture, biodiversité et apiculture?. *Courrier de l'environnement de l'INRA*, 54: 33-52.
  - ❖ **Desmoulière, A. (2013).** Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 17.
  - ❖ **Desmoulière, A. et Rigal, M.L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 22-25.
  - ❖ **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A. et Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*, 10: 37-49.
  - ❖ **Elbanna, K., Attalla, K., Elbadry, M., Abdeltawab, A., Gamal-Eldinl, H. et Ramadan, M.F. (2014).** Impact of floral sources and processing on the antimicrobial activities of different unifloral honeys. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4 (3): 194-200

- ❖ **European Union Directive. (2002).** European Union Directive. *Council Directive 2001/110/EC relating to honey*, 10: 47-52.
- ❖ **Escuredo, O., Miguez, M., Fernandez-Gonzalez, M. et Carmen Seijo, M. (2013).** Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138: 851–856.
- ❖ **Finola, M.S., Lasagno, M.C. et Marioli, J.M. (2007).** Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100: 1649-1653.
- ❖ **French, V.M, Cooper, R.A et Molan, P.C. (2005).** The antibacterial activity of honey against coagulase negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemother.*,56:228-31.
- ❖ **Gharbi, M. (2011).** *Les produits de la ruche: Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire*, Thèse de doctorat, Médecine-Pharmacie, Université Claude-Bernard-Lyon, 234 p.
- ❖ **Habib, H.M., Al Meqbali, F.T., Kamal, H., Souka, U.D. et Ibrahim, W.H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153: 35–43.
- ❖ **Hoyet, C. (2005).** *Le miel: De la source à la thérapeutique*, Thèse en vue d' obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy-I, 87 p.
- ❖ **Huchet, E., Julie, C. et Laurent, G. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. *Science et Medecine*, 4: 1-7.
- ❖ **Isla, M.I., Craig A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J. Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V. et Maldonado, L. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Science and Technology*, 44: 922-1930.
- ❖ **Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *Biology Mollecular and Cellular Complementary and Alternative Medicine*, 12 (177): 1-10.
- ❖ **Jaganathan, S.K. et Mandal, M. (2009).** Antiproliferative Effects of Honey and of Its Polyphenols. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-13.

- ❖ **Jaganathan, S.K. et Mandal, M. (2010).** Involvement of non-protein thiols, mitochondrial dysfunction, reactive oxygen species and p53 in honey-induced apoptosis. *Investigational New Drugs*, 28 (5): 624–633.
- ❖ **Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M.A, Islam, M.N., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules*, 17: 11199-11215.
- ❖ **Kreider, R.B., Rasmussen, C.J., Lancaster, S.L., Kerksick, C. et Greenwood, M. (2002).** Honey: An alternative sports gel. *Strength Conditioning Journal*, 31 (24): 50–51.
- ❖ **Küçük, M., Kolayli, S., Şengül, K., Ulusoy, E., Baltacı, C. et Candan, F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2): 526-534.
- ❖ **Lagacherie, M. et Cabannes, B. (2009).** La forêt fleurit aussi: Le programme Sylvapi et les plantations mellifères. *Forêt Méditerranéenne*, 2: 179-188.
- ❖ **Lazarevic, K.B., Andric, F., Trifkovic, J., Tešić, Z. et Milojkovic-Opsenica, D. (2012).** Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132: 2060–2064.
- ❖ **Lequet, L. (2010).** *Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur*, Thèse de Doctorat, Médecine - Pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, 192 p.
- ❖ **Liu, J.R., Ye, Y.L., Lin, T.Y., Wang, Y.W. et Peng, C.C. (2013).** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139: 938–943.
- ❖ **Louvain, L.N. (2005).** L'essentiel du programme européen miel: Voyage au cœur du miel. *Actualité Apiculture*, 31(3): 3-8.
- ❖ **Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli-D'albore, G., Choukri, A. et Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physic-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.
- ❖ **Meda, A. (2005).** *utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude photochimique et activités biologiques des miels du Burkina Faso*, Thèse de Doctorat, Biochimie, Université de Ouagadougou, 139 p.

- ❖ **Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M. et Nacoulma, O.G. (2005).** Physicochemical Analyses of Burkina Fasan Honey. *Acta Veterinaria Brno*, 74: 147-152.
- ❖ **Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. et Gan, S.H. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7: 138.
- ❖ **Moniruzzaman, M., An, C.Y., Rao, P.V., Hawlader, M.N., Amirah, S., Bintimohd, A., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2014).** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of antioxidant capacity. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-13.
- ❖ **Nair, S. (2014).** *Identification des plantes mellifères et analyse physicochimiques des miels algériens*, Thèse de Doctorat en Biologie, Biochimie, Université d'Oran, 202 p.
- ❖ **Naithani, V., Nair, S. et Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181.
- ❖ **Othman, N.H. (2012).** Honey and cancer: sustainable inverse relationship particularly for developing nations. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-10.
- ❖ **Ouchemoukh, S., Louaileche, H. et Schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Chemistry*, 18: 52-58.
- ❖ **Ouchemoukh, S. (2012).** *Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens*, Thèse Doctorat, Biochimie, Université Abderrahmane Mira, Bejaia,. 162 p.
- ❖ **Petit, N. (2012).** Le miel au secours de la médecine conventionnelle. *Santé*, 13-17.
- ❖ **Pichichero, E., Cicconi, R., Mattei, M., Muzi, M.G. et Canini, A. (2010).** Acacia honey and chrysin reduce proliferation of melanoma cells through alterations in cell cycle progression. *International Journal of Oncology*, 37 (4): 973–981.
- ❖ **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.
- ❖ **Ribeiro, R.O.R., Mársico, E.T., Da Silva Carneiro, C., Guerra Monteiro, M.L., Conte, J.C.A., Mano, S. et De Jesus E.F.O. (2014).** Classification of Brazilian honeys

- by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF 1H NMR). *Food Science and Technology*, 55: 90-95.
- ❖ **Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribéreau-Gayon, P. (1982).** Composés phénolique. In « traité d’oenologie, science et technique du vin ». Edition Dunod, 477-499.
  - ❖ **Rodriguez-Flores, M.S. Escuredo, O. et Carmen Seijo, M. (2015).** Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys *.Food Chemistry*, 166: 101–106.
  - ❖ **Rossant A. (2011).** *Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoges, 136 p.
  - ❖ **Sarfraz, A. et Othman, N.H. (2013).** Honey as a Potential Natural Anticancer Agent: A Review of Its Mechanisms. *Hindawi Publishing Corporation*, 7.
  - ❖ **Saxena, S., Gautam, S. et Sharma, A. (2010).** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118 (2): 391–397.
  - ❖ **Serem, J.C. et Bester, M. J. (2012).** Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food Chemistry*, 133: 1544–1550.
  - ❖ **Silvano, M.F., Varela, M.S., Palacio, M.A., Ruffinengo, S. et Yamul, D.K. (2014).** Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. *Food Chemistry* , 152: 500–507.
  - ❖ **Suan Chua, L., Rahaman, N.L.A., Adnan, N.A. et Tan, T.T.E. (2013).** Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-8.
  - ❖ **Tomasin, R.M. et Gomes-Marcondes, C. (2011).** Oral administration of *Aloe vera* and honey reduces walker tumour growth by decreasing cell proliferation and increasing apoptosis in tumour tissue. *Phytotherapy Research*, 25 (4): 619- 623.
  - ❖ **Tomczak, C. (2010).** *Utilisation du miel dans le traitement des plaies*, Thèse de Doctorat, Science Vétérinaire, Université de Lyon, 185 p.
  - ❖ **Toullec, A.N.K. (2008).** *Abeille noire, Apis mellifera mellifera: Historique et Sauvegarde*, Thèse de Doctorat, Science Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d’Alfort, 162 p.
  - ❖ **Tornuk, F., Karaman,S., Ozturk, I. Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M. et Kayacier ,A. (2013).** Quality characterization of artisanal and retail Turkish

- blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46: 124-13.
- ❖ **Vermerris, W. et Nicholson, R. (2006)**. Phenolic compound chemistry: Families of phenolic compound and means of classification. *The Netherlands*, 1-267.
  - ❖ **Yucel, Y. et Sultanoglu, P. (2013)**. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience* 1, 16 - 25.
  - ❖ **Zhou, J., Li, P., Cheng, N., Gao, H. Wang, B. Wei, Y. et Cao, W. (2012)**. Protective effects of buckwheat honey on DNA damage induced by hydroxyl radicals. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 2766–2773.

*ANNEXES*

Table de CHATAWAY.

<b>Indice de réfraction à 20 °C</b>	<b>Teneur en eau (%)</b>	<b>Indice de réfraction à 20 °C</b>	<b>Teneur en eau (%)</b>
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

## Courbes d'étalonnages

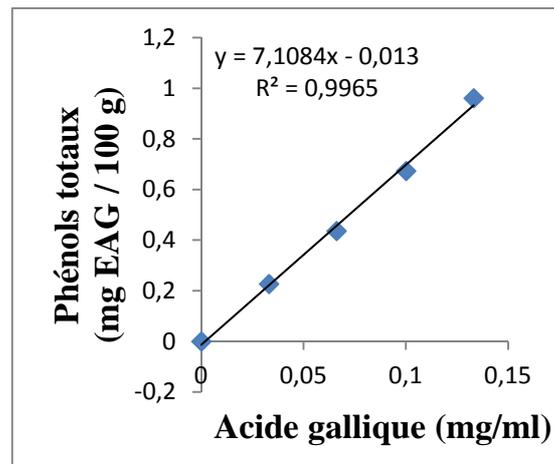
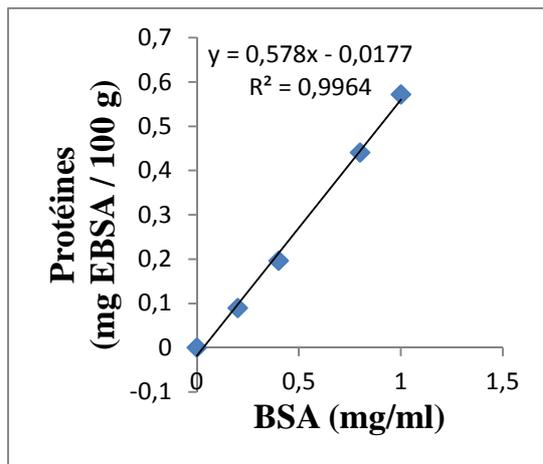


Figure 1: Courbes d'étalonnage des protéines. Figure 2: Courbes d'étalonnage des phénols totaux.

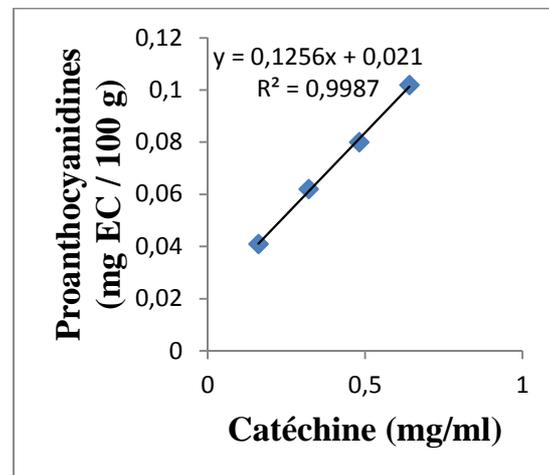
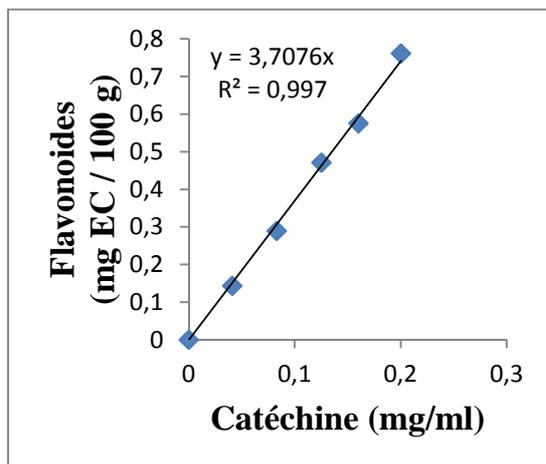


Figure 3: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes Figure 4: Courbe d'étalonnage des proanthocyanidines

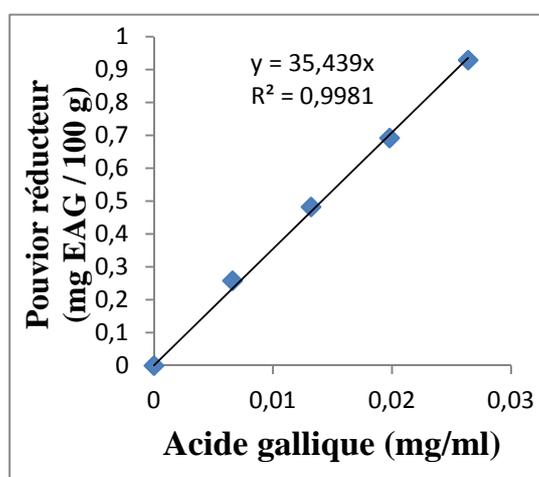
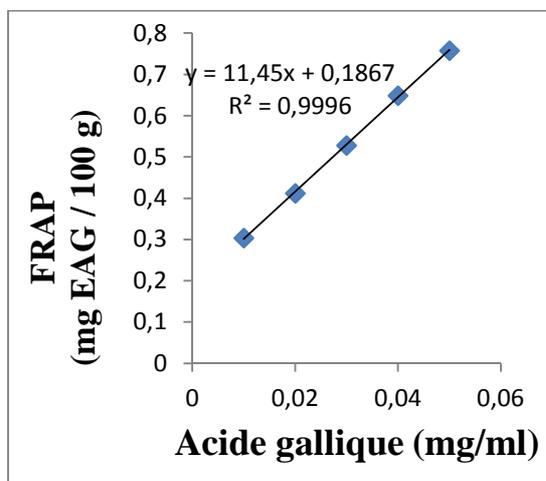
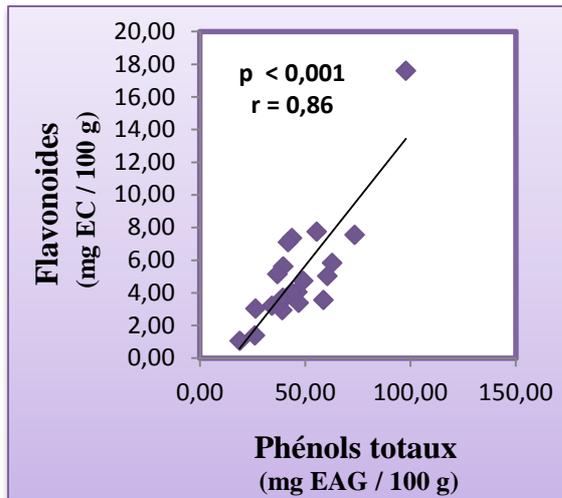
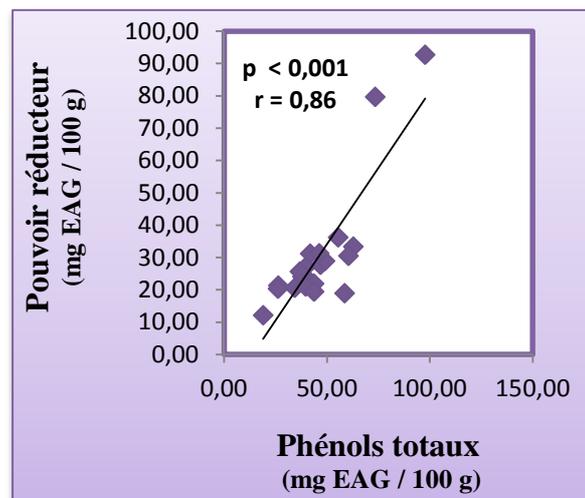


Figure 5: Courbes d'étalonnage du test FRAP Figure 6: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

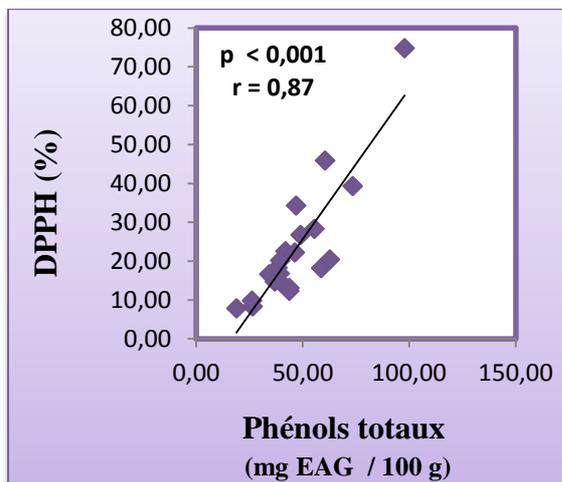
## Corrélations antioxydantes et activités antioxydantes



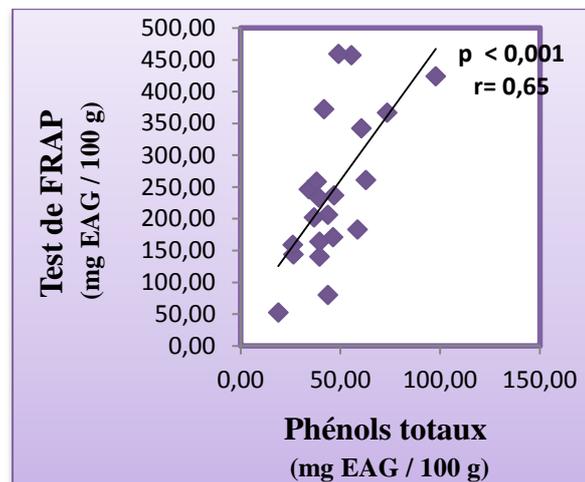
**Figure 1:** Corrélation phénols totaux et flavonoïdes.



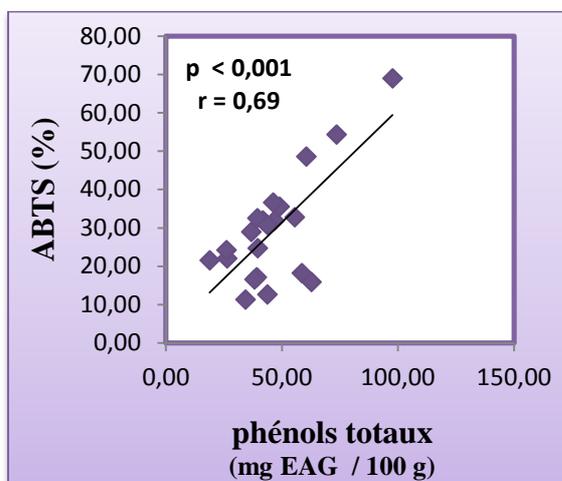
**Figure 2:** Corrélation phénols totaux et pouvoir réducteur.



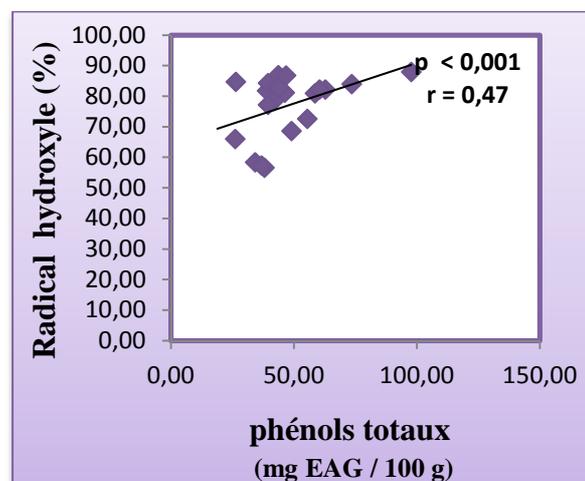
**Figure 3:** Corrélation phénols totaux et DPPH.



**Figure 4:** Corrélation phénols totaux et test de FRAP.



**Figure 5:** Corrélation phénols totaux et ABTS.



**Figure 6:** Corrélation phénols totaux et le radical hydroxyle.

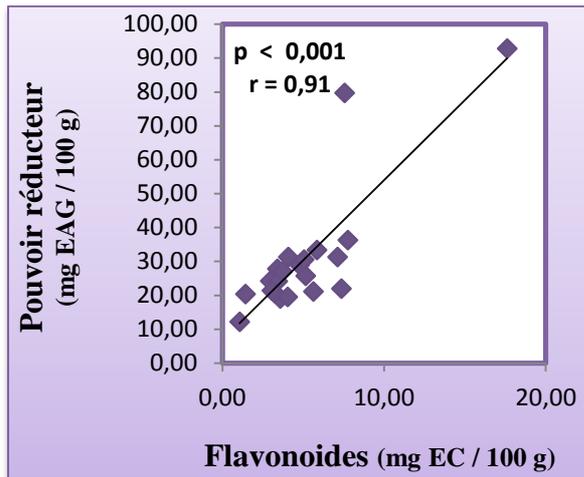


Figure 7: Corrélation flavonoïdes et pouvoir réducteur.

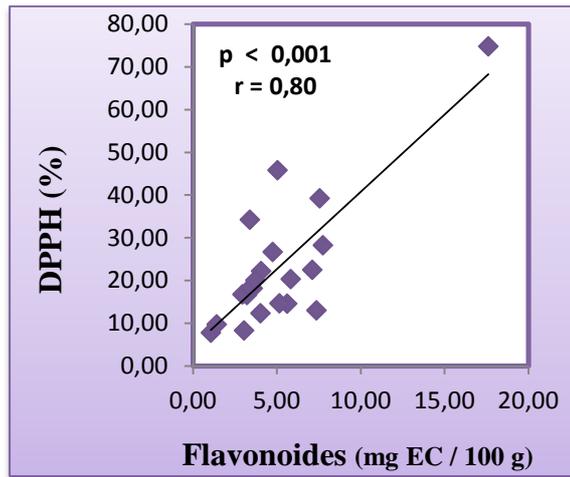


Figure 8: Corrélation flavonoïdes et DPPH.

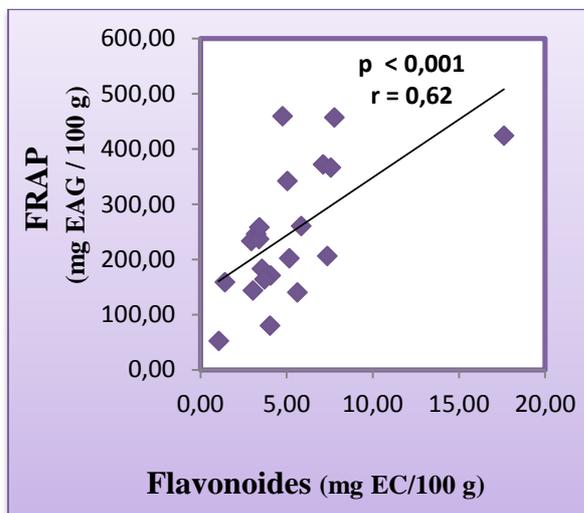


Figure 9: Corrélation flavonoïdes et FRAP.

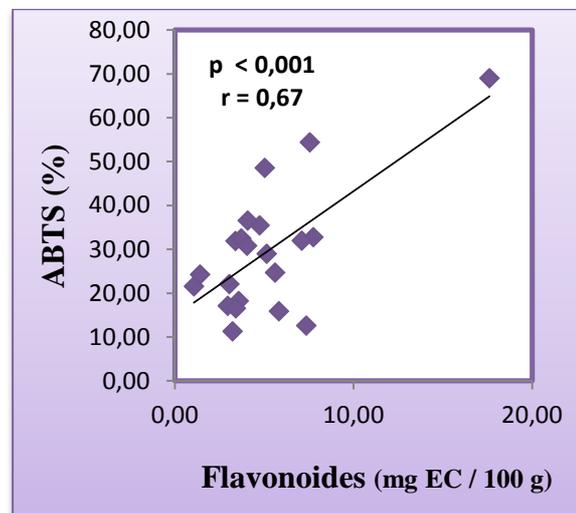


Figure 10: Corrélation flavonoïdes et ABTS.

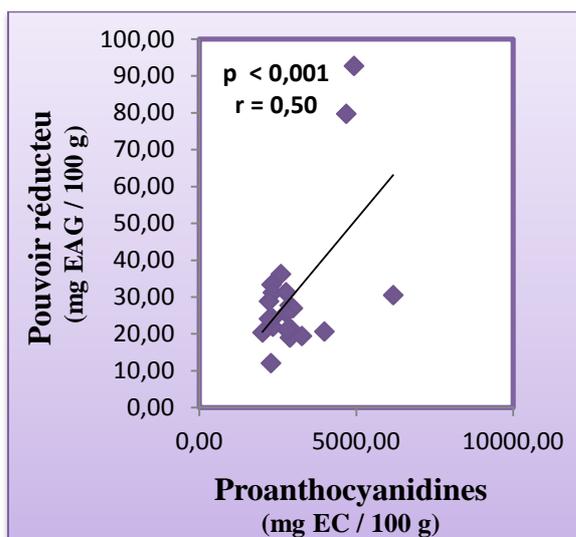


Figure 11: Corrélation proanthocyanidines et pouvoir réducteur.

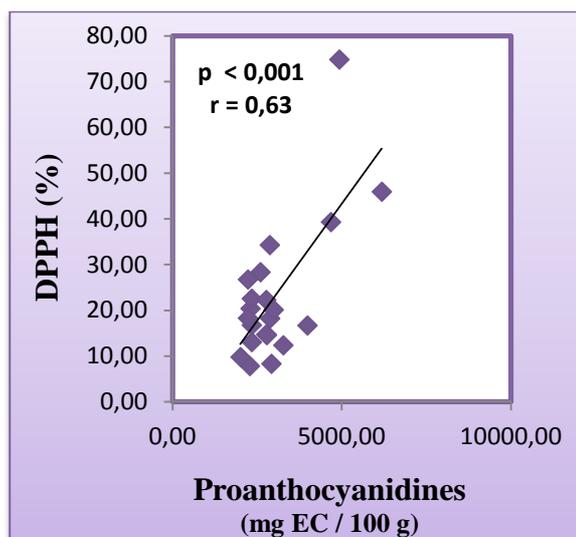
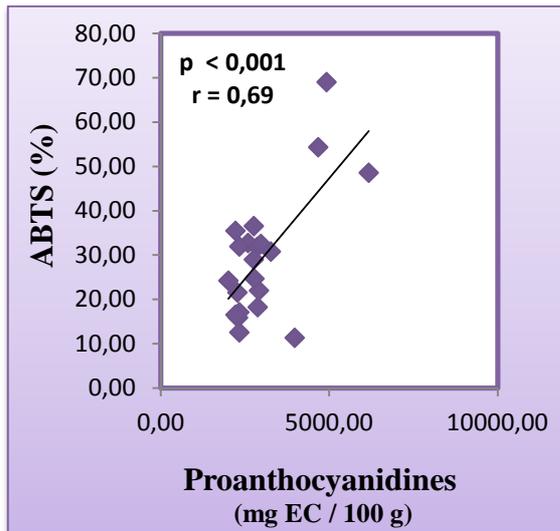
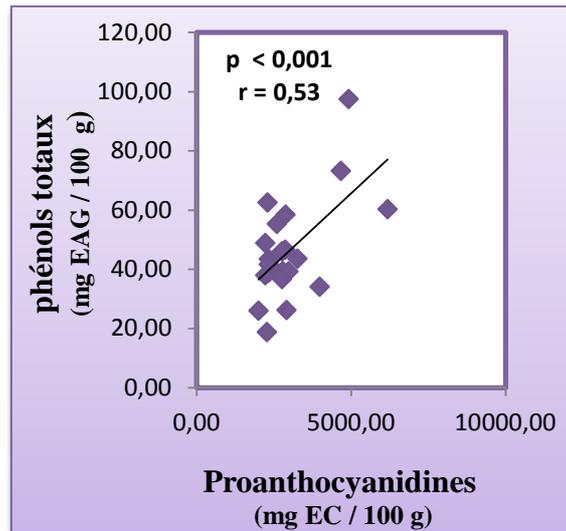


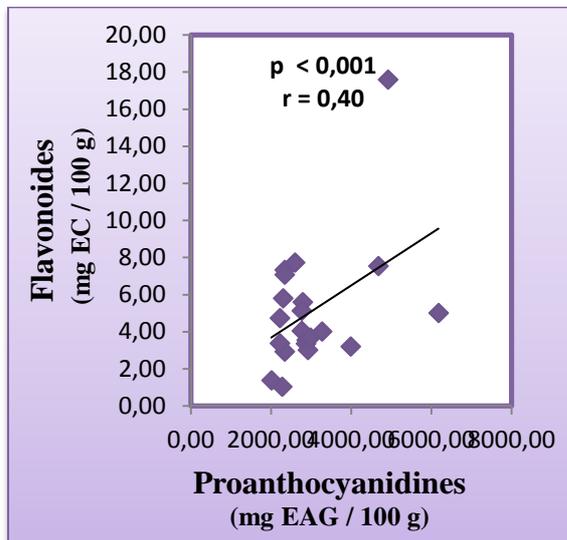
Figure 12: Corrélation proanthocyanidines et DPPH.



**Figure 13:** Corrélation proanthocyanidines et ABTS.



**Figure 14:** Corrélation proanthocyanidines et phénols totaux.



**Figure 15:** Corrélation proanthocyanidines et flavonoïdes.

## Corrélations couleurs, antioxydants et activités antioxydantes

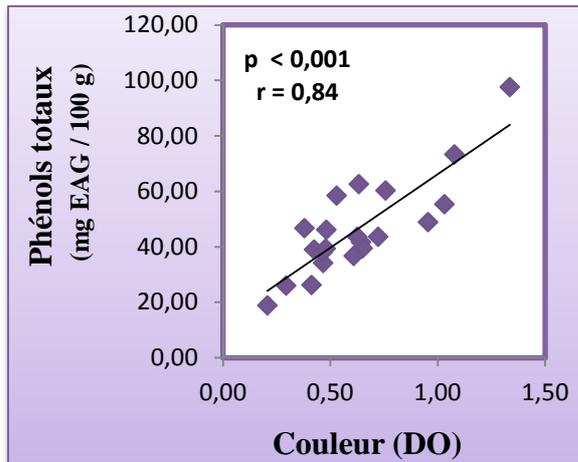


Figure 1: Corrélation couleur et phénols totaux.

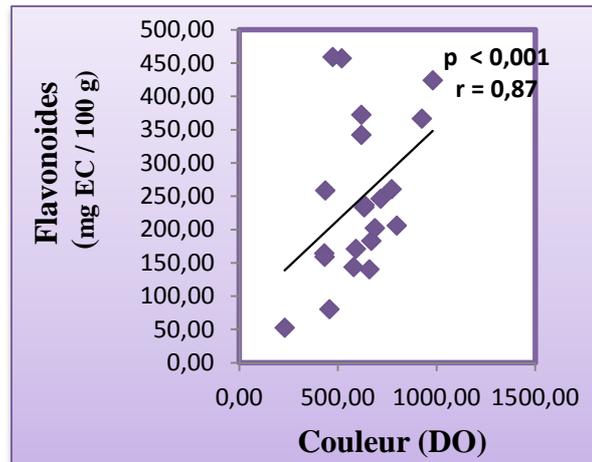


Figure 2 : Corrélation couleur et flavonoïdes.

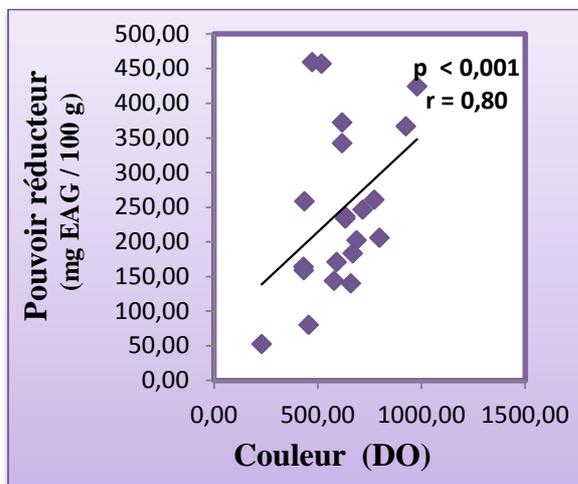


Figure 3: Corrélation couleur et pouvoir réducteur.

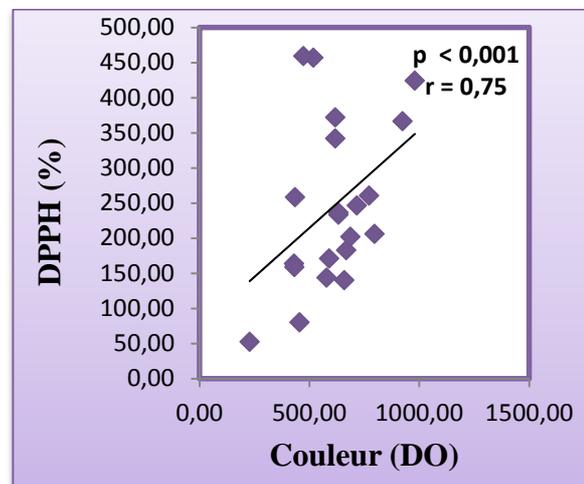


Figure 4: Corrélation couleur et DPPH.

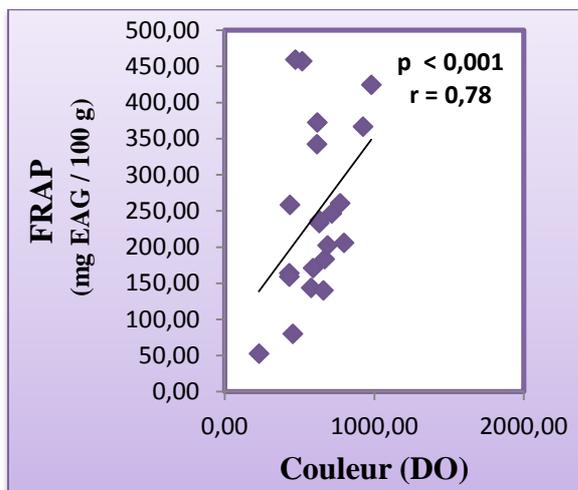


Figure 5: Corrélation couleur et FRAP.

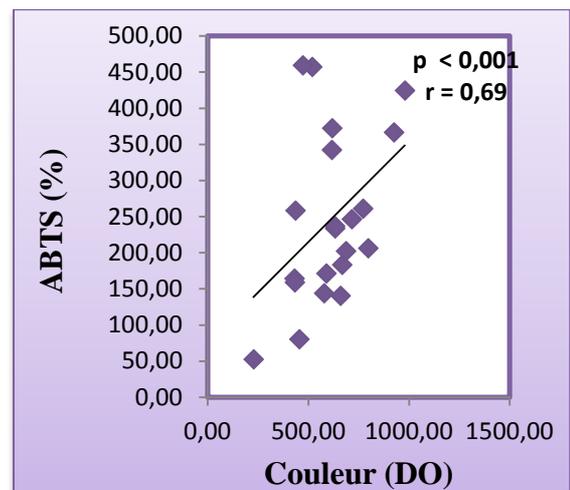


Figure 6: Corrélation couleur et ABTS.

## Corrélations paramètres biochimiques et propriétés antioxydantes

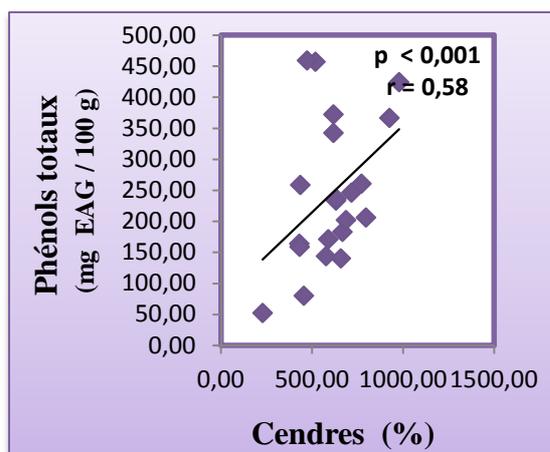


Figure 1: Corrélation cendres et phénols totaux .

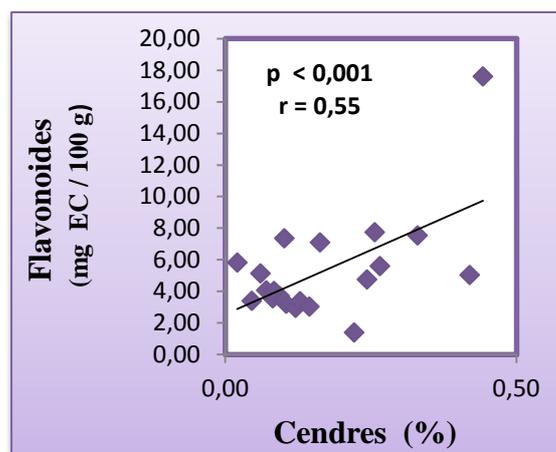


Figure 2: Corrélation cendres et flavonoïdes.

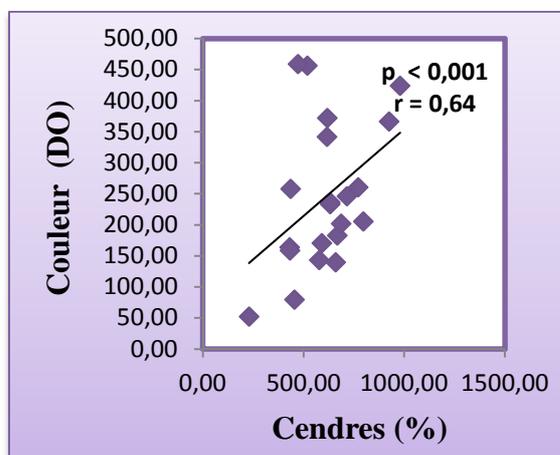


Figure 3: Corrélation cendres et couleur.

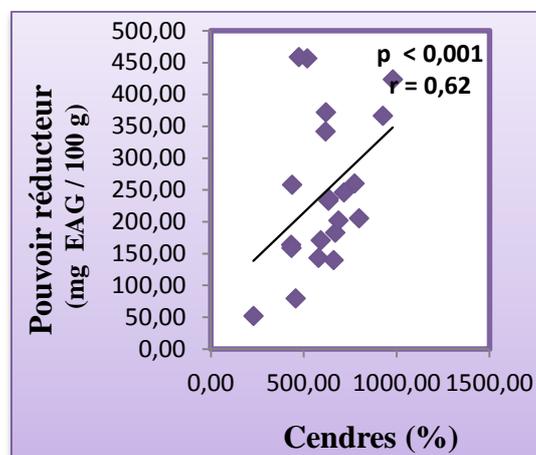


Figure 4: Corrélation cendres et pouvoir réducteur.

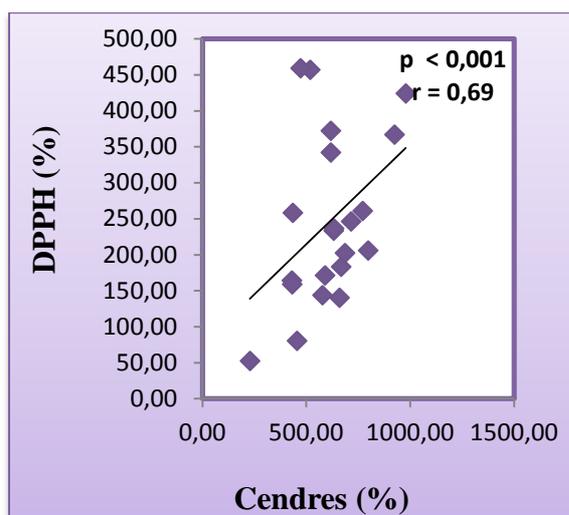


Figure 5: corrélation couleur et DPPH.

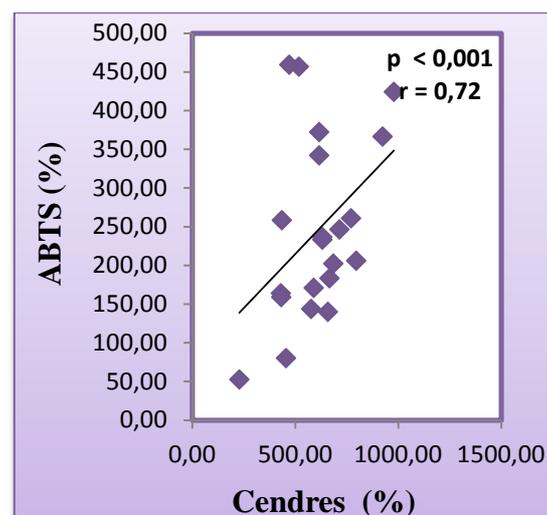


Figure 6: Corrélation cendres et ABTS.

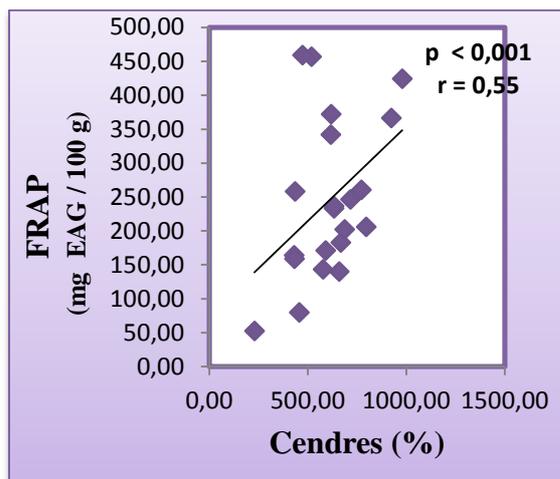


Figure 7: Corrélation cendres et FRAP.

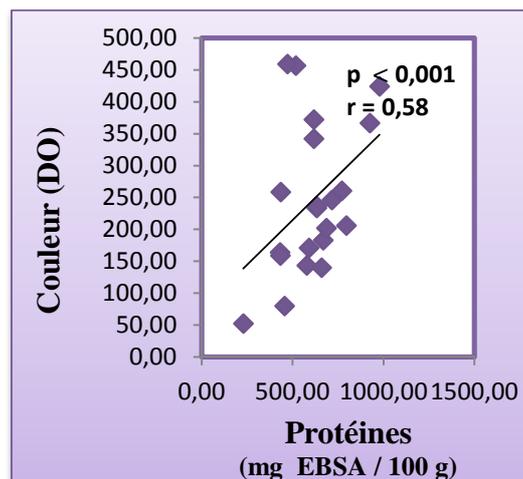


Figure 8: Corrélation protéines et couleur.

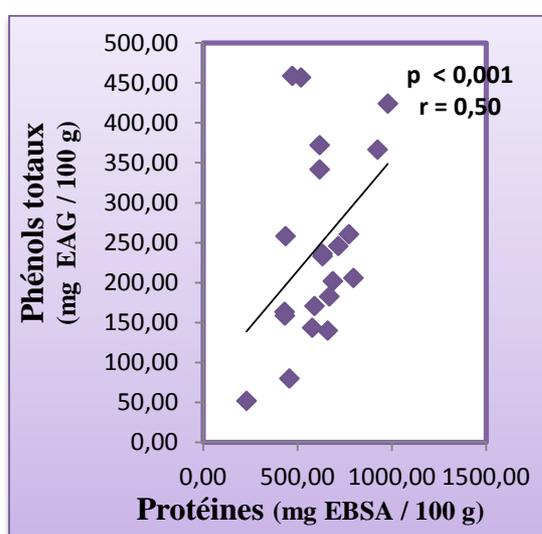


Figure 9: Corrélation protéines et phénols totaux.

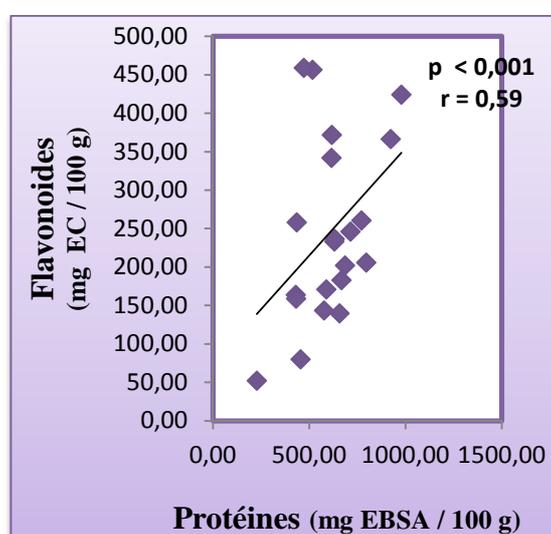


Figure 10: Corrélation protéines et flavonoïdes.

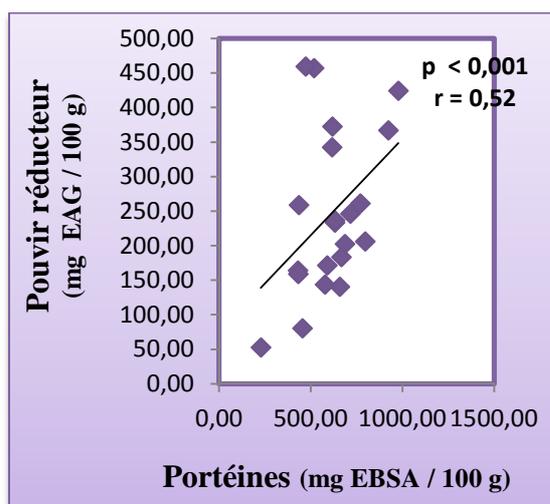


Figure 11: Corrélation protéines et pouvoir réducteur.

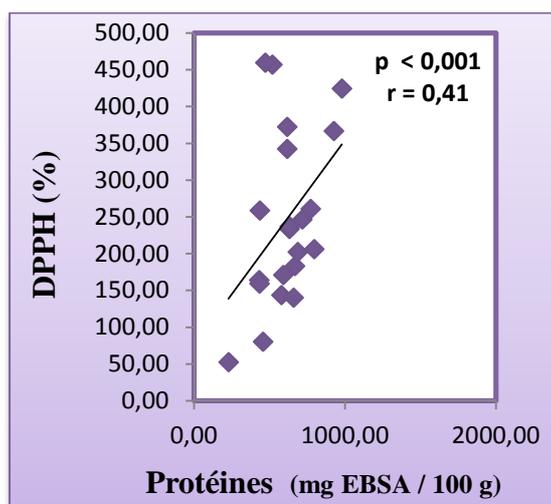


Figure 12: Corrélation protéines et DPPH.

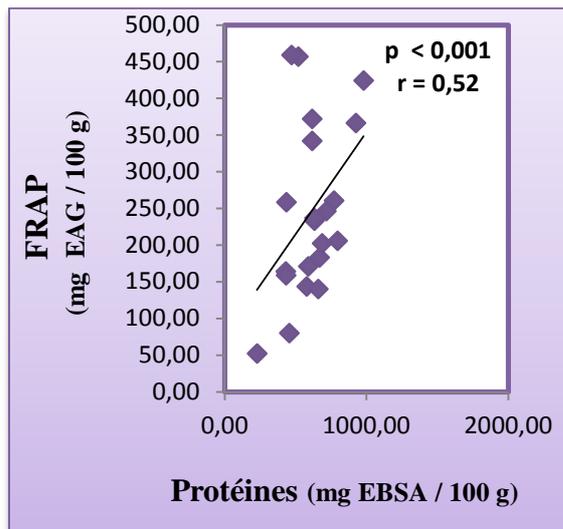


Figure 13: Corrélation proline et phénol totaux.

Corrélations significatives marquées à  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ .

Suite...		Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=63 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMMIDIT	BRIX	PH	COULEUR	CE	CENDRES	PROTEINE	PROLINE	HNF	PROTAT	CPT	FLAVO	PROANTHO	PR	DPPH	FRAP	ABTS	PMOLYBDA	OH	
HUMMIDIT	1,00	-.95	-.09	.04	.19	-.02	-.04	.23	.09	.06	.19	.15	.15	.22	.17	.18	-.07	-.65	-.05	
BRIX	-.95	1,00	.07	-.04	-.22	.01	.03	-.29	-.04	-.12	-.24	-.16	-.21	-.26	-.23	-.18	-.05	.63	.03	
PH	-.09	.07	1,00	-.12	.24	.08	-.11	.01	-.43	.33	.13	-.04	.17	.10	.25	-.11	.31	.11	.19	
COULEUR	.04	-.04	-.12	1,00	.72	.64	.58	.61	.10	.32	.84	.87	.43	.80	.75	.78	.69	-.22	.39	
CE	.19	-.22	.24	.72	1,00	.67	.33	.61	-.08	.46	.89	.67	.69	.80	.89	.68	.78	-.41	.50	
CENDRES	-.02	.01	.08	.64	.67	1,00	.20	.39	-.02	.38	.58	.55	.53	.62	.69	.55	.72	-.24	.35	
PROTEINE	-.04	.03	-.11	.58	.33	.20	1,00	.25	.05	.38	.50	.59	-.03	.52	.41	.52	.34	-.03	.00	
PROLINE	.23	-.29	.01	.61	.61	.39	.25	1,00	-.15	.06	.72	.70	.43	.66	.57	.41	.33	-.12	.56	
HNF	.09	-.04	-.43	.10	-.08	-.02	.05	-.15	1,00	-.29	-.10	-.04	-.18	-.06	-.08	.37	-.24	.01	.01	
PROTAT	.06	-.12	.33	.32	.46	.38	.38	.06	-.29	1,00	.46	.21	.31	.27	.48	.25	.46	-.43	-.08	
CPT	.19	-.24	.13	.84	.89	.58	.50	.72	-.10	.46	1,00	.83	.53	.86	.87	.65	.69	-.37	.47	
FLAVO	.15	-.16	-.04	.87	.67	.55	.59	.70	-.04	.21	.83	1,00	.40	.91	.80	.62	.67	-.23	.35	
PROANTHO	.15	-.21	.17	.43	.69	.53	-.03	.43	-.18	.31	.53	.40	1,00	.50	.63	.36	.59	-.44	.17	
PR	.22	-.26	.10	.80	.80	.62	.52	.66	-.06	.27	.86	.91	.50	1,00	.89	.63	.80	-.35	.32	
DPPH	.17	-.23	.25	.75	.89	.69	.41	.57	-.08	.48	.87	.80	.63	.89	1,00	.67	.83	-.40	.31	
FRAP	.18	-.18	-.11	.78	.68	.55	.52	.41	.37	.25	.65	.62	.36	.63	.67	1,00	.51	-.20	.35	
ABTS	-.07	.05	.31	.69	.78	.72	.34	.33	-.24	.46	.69	.67	.59	.80	.83	.51	1,00	-.30	.22	
PMOLYBDA	-.65	.63	.11	-.22	-.41	-.24	-.03	-.12	.01	-.43	-.37	-.23	-.44	-.35	-.40	-.20	-.30	1,00	.28	
OH	-.05	.03	.19	.39	.50	.35	.00	.56	.01	-.08	.47	.35	.17	.32	.31	.35	.22	.28	1,00	

Suite...		Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=63 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMMIDIT	PH	BRIX	COULEUR	CE	CENDRES	PROTEINE	PROLINE	HNF	PROTAT	CPT	FLAVO	PROANTHO	PR	DPPH	FRAP	ABTS	PMOLYBDA	OH	
HUMMIDIT	1,00	.01	-.08	.04	.15	-.02	-.04	.23	.09	.06	.19	.15	.15	.22	.17	.18	-.07	-.65	-.05	
PH	.01	1,00	-.10	-.44	.08	-.20	-.29	.20	-.39	-.10	-.13	-.12	.10	-.07	-.11	-.62	-.12	-.05	-.00	
BRIX	-.08	-.10	1,00	.43	-.09	.21	.29	-.22	.37	.10	.11	.10	-.11	.06	.10	.60	.13	.10	.01	
COULEUR	.04	-.44	.43	1,00	.06	.64	.58	.61	.10	.32	.84	.87	.43	.80	.75	.78	.69	-.22	.39	
CE	.15	.08	-.09	.06	1,00	-.14	-.08	.23	-.06	-.06	.03	.12	-.06	-.12	-.14	-.09	-.27	-.11	.13	
CENDRES	-.02	-.20	.21	.64	-.14	1,00	.20	.39	-.02	.38	.58	.55	.53	.62	.69	.55	.72	-.24	.35	
PROTEINE	-.04	-.29	.29	.58	-.08	.20	1,00	.25	.05	.38	.50	.59	-.03	.52	.41	.52	.34	-.03	.00	
PROLINE	.23	.20	-.22	.61	.23	.39	.25	1,00	-.15	.06	.72	.70	.43	.66	.57	.41	.33	-.12	.56	
HNF	.09	-.39	.37	.10	-.06	-.02	.05	-.15	1,00	-.29	-.10	-.04	-.18	-.06	-.08	.37	-.24	.01	.01	
PROTAT	.06	-.10	.10	.32	-.06	.38	.38	.06	-.29	1,00	.46	.21	.31	.27	.48	.25	.46	-.43	-.08	
CPT	.19	-.13	.11	.84	.03	.58	.50	.72	-.10	.46	1,00	.83	.53	.86	.87	.65	.69	-.37	.47	
FLAVO	.15	-.12	.10	.87	.12	.55	.59	.70	-.04	.21	.83	1,00	.40	.91	.80	.62	.67	-.23	.35	
PROANTHO	.15	.10	-.11	.43	-.06	.53	-.03	.43	-.18	.31	.53	.40	1,00	.50	.63	.36	.59	-.44	.17	
PR	.22	-.07	.06	.80	-.12	.62	.52	.66	-.06	.27	.86	.91	.50	1,00	.89	.63	.80	-.35	.32	
DPPH	.17	-.11	.10	.75	-.14	.69	.41	.57	-.08	.48	.87	.80	.63	.89	1,00	.67	.83	-.40	.31	
FRAP	.18	-.62	.60	.78	-.09	.55	.52	.41	.37	.25	.65	.62	.36	.63	.67	1,00	.51	-.20	.35	
ABTS	-.07	-.12	.13	.69	-.27	.72	.34	.33	-.24	.46	.69	.67	.59	.80	.83	.51	1,00	-.30	.22	
PMOLYBDA	-.65	-.05	.10	-.22	-.11	-.24	-.03	-.12	.01	-.43	-.37	-.23	-.44	-.35	-.40	-.20	-.30	1,00	.28	
OH	-.05	-.00	.01	.39	.13	.35	.00	.56	.01	-.08	.47	.35	.17	.32	.31	.35	.22	.28	1,00	

Suite...		Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=63 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMMIDIT	PH	BRIX	COULEUR	CE	CENDRES	PROTEINE	PROLINE	HNF	PROTAT	CPT	FLAVO	PROANTHO	PR	DPPH	FRAP	ABTS	PMOLYBDA	OH	
HUMMIDIT	1,00	.01	-.08	.04	.15	-.02	-.04	.23	.09	.06	.19	.15	.15	.22	.17	.18	-.07	-.65	-.05	
PH	.01	1,00	-.10	-.44	.08	-.20	-.29	.20	-.39	-.10	-.13	-.12	.10	-.07	-.11	-.62	-.12	-.05	-.00	
BRIX	-.08	-.10	1,00	.43	-.09	.21	.29	-.22	.37	.10	.11	.10	-.11	.06	.10	.60	.13	.10	.01	
COULEUR	.04	-.44	.43	1,00	.06	.64	.58	.61	.10	.32	.84	.87	.43	.80	.75	.78	.69	-.22	.39	
CE	.15	.08	-.09	.06	1,00	-.14	-.08	.23	-.06	-.06	.03	.12	-.06	-.12	-.14	-.09	-.27	-.11	.13	
CENDRES	-.02	-.20	.21	.64	-.14	1,00	.20	.39	-.02	.38	.58	.55	.53	.62	.69	.55	.72	-.24	.35	
PROTEINE	-.04	-.29	.29	.58	-.08	.20	1,00	.25	.05	.38	.50	.59	-.03	.52	.41	.52	.34	-.03	.00	
PROLINE	.23	.20	-.22	.61	.23	.39	.25	1,00	-.15	.06	.72	.70	.43	.66	.57	.41	.33	-.12	.56	
HNF	.09	-.39	.37	.10	-.06	-.02	.05	-.15	1,00	-.29	-.10	-.04	-.18	-.06	-.08	.37	-.24	.01	.01	
PROTAT	.06	-.10	.10	.32	-.06	.38	.38	.06	-.29	1,00	.46	.21	.31	.27	.48	.25	.46	-.43	-.08	
CPT	.19	-.13	.11	.84	.03	.58	.50	.72	-.10	.46	1,00	.83	.53	.86	.87	.65	.69	-.37	.47	
FLAVO	.15	-.12	.10	.87	.12	.55	.59	.70	-.04	.21	.83	1,00	.40	.91	.80	.62	.67	-.23	.35	
PROANTHO	.15	.10	-.11	.43	-.06	.53	-.03	.43	-.18	.31	.53	.40	1,00	.50	.63	.36	.59	-.44	.17	
PR	.22	-.07	.06	.80	-.12	.62	.52	.66	-.06	.27	.86	.91	.50	1,00	.89	.63	.80	-.35	.32	
DPPH	.17	-.11	.10	.75	-.14	.69	.41	.57	-.08	.48	.87	.80	.63	.89	1,00	.67	.83	-.40	.31	
FRAP	.18	-.62	.60	.78	-.09	.55	.52	.41	.37	.25	.65	.62	.36	.63	.67	1,00	.51	-.20	.35	
ABTS	-.07	-.12	.13	.69	-.27	.72	.34	.33	-.24	.46	.69	.67	.59	.80	.83	.51	1,00	-.30	.22	
PMOLYBDA	-.65	-.05	.10	-.22	-.11	-.24	-.03	-.12	.01	-.43	-.37	-.23	-.44	-.35	-.40	-.20	-.30	1,00	.28	
OH	-.05	-.00	.01	.39	.13	.35	.00	.56	.01	-.08	.47	.35	.17	.32	.31	.35	.22	.28	1,00	

## Résumé

L'objectif principal de cette étude est la détermination des caractéristiques physico-chimiques et les activités antioxydantes de 21 miels en provenance de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Plusieurs méthodes sont utilisées afin de caractériser ces miels, à savoir des analyses physico-chimiques, phyto-chimiques et l'étude de l'activité antioxydante. Les analyses relatives aux paramètres de qualité sur les miels révèlent que le taux d'humidité est inférieur à 18 %. Le pH moyen est de 4,07, la conductivité électrique moyenne est de 1,67 mS/cm et la teneur en cendres moyenne est de 0,23 %. La teneur moyenne en protéines, en proline et en HMF est de 121,44 ± 4,31 mg EBSA/100 g, 612,18 ± 20 mg/kg et 10,24 ± 1,07 mg/kg, respectivement. Tous les miels analysés sont lévogyres sauf les miels M20 et M21. L'analyse phyto-chimique montre des taux en polyphénols allant de 18,85 à 97,63 mg EAG/100 g. Pour les flavonoïdes, leurs taux se situent entre 1,06 à 17,60 mg EC/100 g. L'étude de la capacité antioxydante par 06 méthodes différentes (le pouvoir réducteur, la réduction au phosphomolybdate, le test de FRAP et les activités antiradicalaires contre le DPPH et l'ABTS) révèlent que les miels analysés possèdent des activités antioxydantes qui diffèrent d'un miel à un autre. Des corrélations significatives sont obtenues entre la couleur, les antioxydants et les activités antioxydantes des miels analysés.

**Mots clés:** miel, propriétés physico-chimiques, analyses phyto-chimiques, activité antioxydante.

## Summary

The main aim of this study is the determination of the physico-chemical characteristics and antioxidant activities of 21 honeys coming from the wilaya of Tizi-Ouzou.

Several methods are used in order to characterize these honeys, namely of the physico-chemical, phyto-chemical analyzes and the antioxidant activities. The analyzes relating to the parameters of quality on honeys reveal that the water content is lower than 18 %. The average pH is of 4,07, average electric conductivity is of 1,67 mS /cm and the average ash content is of 0,23 %. The average content of proteins, proline and HMF are of 121,44 ± 4,31 mg EBSA / 100 g, 612,18 ± 20 mg / kg and 10,24 ± 1,07 mg / kg, respectively. All analyzed honeys are levogyre except honeys M20 and M21. The phyto-chemical analysis shows that polyphenols contents going from 18,85 to 97,63 mg EAG / 100 g. For the flavonoïdes, their rate locate between 1,06 to 17,60 mg EC / 100 g. The study of the antioxidant capacity by 06 different methods (the reduction, the reduction with the phosphomolybdate, the test of FRAP and the antiradicalaire activities against the DPPH and the ABTS) reveal that analyzed honey have antioxidant activities which differ from a honey to another. Significant correlations are obtained between the color, antioxidants and the antioxidant activities of analyzed honeys.

**Keywords:** honey, physicochemical properties, phyto-chemical analyzes, antioxidant activity.

## ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الفيزيائية والنشاط المضاد للأكسدة لـ 21 نوع من العسل لولاية تيزي وزو. عدة طرق استخدمت لتمييز هذا العسل وذلك من خلال التحاليل الفيزيوكيميائية والدراسات الكيمو كيميائية والأنشطة المضادة للأكسدة، وكشفت التحاليل المتعلقة بمعايير الجودة أن رطوبة العسل أقل من 18 %، ومعدل الحموضة هو 70,4، ومعدل التوصيل الكهربائي هو 67,01 mS / cm ونسبة الرماد تقدر بـ 0,23 %. معدل البروتينات، البرولين و الـ HMF هي 121,44 ± 4,31 ملغ EBSA / 100 غ، 612,18 ± 20 ملغ / كلغ و 10,24 ± 1,07 ملغ / كلغ على التوالي. جميع العسل الذي تم تحليلهم هم أيسري التدوير إلا M20 و M21. أظهرت النتائج التحاليل الكيمو نباتية أن محتويات البوليفينول تتراوح ما بين 18,85 إلى 97,63 ملغ EAG / 100 غ. و مركبات الفلافونويد محصورة ما بين 1,06 حتى 17,60 ملغ EC / 100 غ. دراسة القدرة المضادة للأكسدة عبر 06 طرق مختلفة تكشف على أن العسل يملك نشاط مضاد للأكسدة الذي يختلف من نوع العسل لآخر. قد تم الحصول على ارتباط كبير بين لون و مضادات الأكسدة و الأنشطة المضادة للأكسدة للعسل الذي تم تحليلهم. **كلمات المفتاح:** العسل، التحاليل الفيزيوكيميائية، التحاليل الكيمو نباتية، النشاط المضاد للأكسدة.