

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Béjaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Thème

*Propriétés Physico-chimiques et Activités
Antioxydantes de Quelques Miels
Algériens*

Proposé par :

M^r BOUZIDI Ayache
M^{elle} HANI Narimane

Membres du jury :

Présidente : M^{me} KHETTAL B. M.C.A.
Promoteur: M^r OUCHEMOUKH S. M.C.A.
Examineurs: M^r HAMOUM M. M.A.B.
M^{me} BENMESSAOUD M.A.A.

Année : 2013/2014

Remerciements

Nous tenons à remercier le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience jusqu'à l'achèvement de ce travail.

Nous exprimons nos remerciements à notre encadreur Mr Ouchemoukh S. pour l'assistance qu'il nous a témoigné, pour sa disponibilité, pour ces orientations, pour sa compréhension, pour sa gentillesse durant et ces précieux conseils tout le long de notre mémoire sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury, en l'occurrence M^{me} Khettal B. Mr Hamoum M. et M^{me} Benmessaoud d'avoir accepté d'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'ils y portent.

Nous remercions tous nos collègues en Master II biochimie appliquée ainsi que tous le personnel du laboratoire pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesses.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de se projet, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

Dédicaces

A la mémoire de mon défunt père.

A ma très chère mère, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude, pour son soutien tout au long de mon parcours.

A tous mes frères : Masadine, Abdou et Chabane

A mes sœurs : Cherifa et Zouina

A toute ma famille.

A mon binôme Narimane & toute sa famille.

A toutes et tous mes amis

Ayache

Dédicaces

Tout d'abord je tiens à remercier mes très chers parents qui ont le droit de recevoir mes chaleureux remerciements pour le courage et le sacrifice qu'ils ont toujours consentis pour moi, en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé.

Merci mon très chère Papa et mon adorable Maman

A ma très chère Grand mère yama Bouha que dieux nous la garde.

A mes chères frères : Bilal et Yacine.

A mes chères sœurs : Titem et Meriame.

A mes oncles : Boualam, Omar, Abederahmane Smail et Razik

A mes tantes Karima, Hassina, Chafia, Malika et Rachida

A mes cousins et cousines

A toute ma famille

A mon binôme Ayache & tout sa famille

A mes meilleurs amis : Linda, Nesrine, Rym, Babi, Mina, Lydia, Lamia, Kheiredine, Khaled et Amine...

Narimane

SOMMAIRE

Liste des figures
 Liste des tableaux
 Liste des abréviations

Introduction..... 1

Partie bibliographique Chapitre I : Généralités sur le miel

1. Définition	2
2. Origines et variétés	2
2.1 A partir du nectar	2
2.2 A partir du miellat.....	3
3. Élaboration	3
4. Composition	4
4.1 Composants majeurs.....	4
4.1.1 Eau.....	4
4.1.2 Glucides.....	4
4.2 Composants mineurs.....	5
4.2.1 Acides aminés et protéines.....	5
4.2.2 Sels minéraux.....	5
4.2.3 Composés phénoliques.....	5
4.2.4 Acides organiques.....	6
4.2.5 Autres éléments présents	6
5. Cristallisation	6
6. Facteurs d'altération	7
6.1 Fermentation.....	7
6.2 Température	7
6.3 Vieillessement	7
6.4 Conditionnement	8

Chapitre II. Propriétés diététiques et thérapeutiques du miel

1. Propriétés diététiques	9
--	---

2. Propriétés thérapeutiques	9
2.1 Activité antioxydante	9
2.2 Activité antibactérienne	10
2.2.1 Agents physiques	10
2.2.2 Agents chimiques	11
2.3 Action cicatrisante	14

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	21
2. Analyses physico-chimiques	22
2.1 Humidité.....	22
2.2 Ph	22
2.3 Conductivité électrique	22
2.4 Pouvoir rotatoire	23
2.5 Protéines.....	23
2.6 Proline	23
2.7 Couleur	24
2.8 Hydroxyméthylfurfural (HMF)	24
3. Antioxydants et activités antioxydantes	25
3.1 Antioxydants	25
3.1.1 Polyphénols totaux	25
3.1.2 Flavonoïdes	25
3.1.3 Orthodiphénols	26
3.2 Activités antioxydantes.....	26
3.2.1 Pouvoir réducteur	26
3.2.2 Réduction du molybdate	26
3.2.3 Teste du FRAP	27
3.2.4 Pouvoir chélateur du fer (teste avec la ferrozine).....	27
3.2.5 Activités antiradicalaire	28
3.2.5.1 Par l'ABTS	28
3.2.5.2 Par le DPPH	28

4. Analyses statistiques	29
--------------------------------	----

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques	30
1.1 Humidité	30
1.2 PH	32
1.3 Conductivité électrique	32
1.4 Protéines	34
1.5 Proline	35
1.6 Couleur	35
1.7 Pouvoir rotatoire	37
1.8 HMF	37
2. Antioxydants	38
2.1 Polyphénols totaux	38
2.2 Flavonoïdes	40
2.3 Orthodiphénols	41
3. Activités antioxydantes	41
3.1 Pouvoir antiradicalaire par DPPH	41
3.2 Activité antiradicalaire par l'ABTS	43
3.3 Pouvoir réducteur	43
3.4 Réduction du molybdate	43
3.5 Pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP).....	46
3.6 Pouvoir chélateur du fer	46
4. Corrélations antioxydants et activités antioxydantes	48
5. Corrélation paramètres biochimiques et propriétés antioxydantes	49
Conclusion générale et perspective	51

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Mécanisme de la réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes	25
2	Forme oxydée et réduite de l'ABTS	28
3	Structure du DPPH	29
4	Teneurs en eau des échantillons de miels analysés	31
5	pH des échantillons de miels analysés	31
6	Conductivité électrique des échantillons de miels analysés	33
7	Teneurs en protéines des échantillons de miels analysés	33
8	Teneurs en proline des échantillons de miels analysés	36
9	Couleur des échantillons de miels analysés	36
10	Teneurs en HMF des échantillons de miels analysés	39
11	Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de miels analysés	39
12	Teneurs en flavonoïdes des échantillons de miels analysés	42
13	Teneurs en orthodiphénols des échantillons de miels analysés	42
14	Activité antiradicalaire par le DPPH des échantillons de miels analysés	44
15	Activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miels analysés	44
16	Pouvoir réducteur des échantillons de miels analysés	45
17	Activité antiradicalaire par le phosphomolybdate des échantillons de miels analysés	45
18	Activité antiradicalaire par FRAP des échantillons de miels analysés	47
19	Chélation du fer des échantillons de miels analysés	47

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
I	Echantillons de miels analysés (région, état et couleur)	21
II	Pouvoir rotatoire des miels analysés	37

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ABTS : 2,2-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique

AVUC : Analyse de la Variance à Un seul critère de Classification

BSA : Bovine Sérum Albumine

CE : Conseil Européen

CE : Conductivité Electrique

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DLUO : Date Limite d'Utilisation Optimal

DPPH : 2,2-diphényl -1- picrylhydrazyl

EAA : Equivalent d'Acide Ascorbique

EGA : Equivalent d'Acide Gallique

EQ : Equivalent de Quercétine

FRAP : Pouvoir Antioxydant de Réduction Ferrique.

HMF: HydroxyMéthylFurfural

HPLC: High Pression Liquid Chromatography

H₂O₂: Peroxyde d'Hydrogène

MGO : Méthylglyoxal

NF_κB : Nuclear Factor-kappa B

ROS : Espèce Réactive d'Oxygène

TPTZ : tripyridyletriazine

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

INTRODUCTION

Introduction

Le miel est connu depuis les temps les plus reculés. A l'âge de pierre, nos ancêtres étaient déjà des grands amateurs de cette source sucrée naturelle. Des peintures rupestres datant de 10 000 ans avant Jésus-Christ montrent des hommes grimant aux arbres pour récolter le précieux nectar. Le miel est cité dans de nombreux ouvrages, notamment les tablettes Sumérienne, la Bible (avec le roi Salomon) et dans le saint Coron dont la description du paradis mentionne la présence de rivières de miel. Ce n'est qu'au 19^{ème} siècle que l'apiculture, que nous connaissons aujourd'hui, est née (Rossant, 2011).

Les glucides et l'eau sont les composants majoritaires du miel. En outre, des constituants mineurs, tels que les protéines, les enzymes, les acides aminés, les des acides organiques, les lipides, les vitamines, les minéraux et les substances phytochimiques, principalement des flavonoïdes et des composés phénoliques (Belay *et al.*, 2013). Les facteurs les plus importants affectant la composition du miel sont la variété de plantes à partir de lesquelles sont butinées les nectars et aussi les conditions climatiques et environnementales (Crane, 1990).

Les vertus du miel sont de plus en plus connues à travers le monde, à tel point qu'une nouvelle science est créée, l'apithérapie. Cette médecine soigne certaines maladies telles que le cancer, la cataracte et notamment dans la guérison des plaies et ceci grâce aux propriétés biologiques du miel (activités antioxydante et antimicrobienne, et propriétés thérapeutiques) (Viuda-Martos *et al.*, 2008 ; Liu *et al.*, 2013).

La présente étude est organisée en deux parties :

La première est consacrée à la théorie où le miel est présenté dans sa globalité (définition, origines, variétés, élaboration et composition chimique) ainsi que ses propriétés biologiques.

La seconde concerne la partie pratique qui vise à déterminer quelques caractéristiques physico-chimiques de 20 échantillons de miels Algériens (humidité, conductivité électrique, pH, pouvoir rotatoire, couleur et HMF) et le dosage de quelques composés (proline, protéines, composés phénoliques totaux, flavonoïdes et orthodiphénols). En plus, les activités antioxydantes sont déterminées par six différentes méthodes (pouvoir réducteur, pouvoir chélateur du fer, activité antiradicalaire avec le DPPH et l'ABTS, le potentiel antioxydant au phosphomolybdate, et le FRAP).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
GÉNÉRALITÉS SUR
LE MIEL

Chapitre I : Généralités sur le miel

1. Définition

La définition légale du miel est donnée par la directive européenne n°2001/110/CE « le miel est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des 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 des matières organiques et inorganiques étrangères». Selon cette définition, le miel est un produit naturel dans lequel rien n'est ajouté ou enlevé. Le miel est ainsi étroitement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur (Bruneau, 2002).

2. Origines et variétés

L'appétence naturelle des abeilles pour tout ce qui est sucré les amène à butiner différentes sources. Le miel est élaboré par ces insectes à partir de substances sucrées végétales et/ou animales provenant soit de nectar et/ou de miellat respectivement (Hoyet, 2005).

2.1 A partir du nectar

Le nectar est produit par des organes propres aux végétaux supérieurs, qui portent le nom de nectaires. Il existe les nectaires floraux (à la base des fleurs) et des nectaires extra-floraux (sur les feuilles, les tiges ou les autres parties de la plante) (Hoyet, 2005). Sa teneur en glucides est variable en fonction de l'espèce botanique et de l'âge de la fleur.

Cependant, plus cette concentration en sucre est élevée, plus le nectar est attractif pour les abeilles, qui ne visitent que les fleurs dont la teneur en sucres est supérieure à 10 % (Gonnet, 1986).

Les constituants essentiels du nectar sont les glucides (5 à 75 %), les acides aminés, les protéines, les lipides, les flavonoïdes, les vitamines, les pigments et les enzymes (Chauvin, 1987 ; Meda, 2005).

➤ **Miels monofloraux**

Appelés également miels crus. Du point de vue théorique, un miel unifloral est un miel naturel produit par les abeilles, provenant principalement d'une seule espèce florale déterminée dans la nature, de tels miels peuvent être considérés comme exceptionnels, puisqu'il est impossible d'obtenir un miel monofloral à 100 %, car l'abeille garde toujours sa liberté de butiner sur d'autres fleurs (Gout, 1998).

➤ **Miel multifloraux**

Appelés aussi miels toutes fleurs, ce sont des miels récoltés à partir de plusieurs espèces florales, qui proviennent de mélange sans prédominance et donc sans origine florale précise (Chauvin, 1968).

2.2 A partir du miellat

Le miellat est un liquide épais, visqueux et sucré. Plus complexe que le nectar, cette substance s'obtient par l'intermédiaire des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Ces insectes piqueurs perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève et rejettent par leurs anus des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés, qui se fixent sur les feuilles (Clément, 2002).

Le miel de miellat est plus riche en substances azotées, en acides organiques, en minéraux et en glucide complexes (Clément, 2002). En outre, sa couleur est la plus intense et il possède une conductivité électrique, acidité et une teneur en cendres plus élevée par rapport au miel de nectar (Soria *et al.*, 2004).

3. Élaboration

La butineuse recueille les substances sucrées par léchage et remplit progressivement son jabot en y ajoutant ses sécrétions salivaires, qui est la première phase de la transformation de la solution sucrée en miel. Lorsque son jabot est plein, elle regagne la ruche (Hoyet, 2005).

A son retour à la ruche, elle régurgite la récolte prédigérée, la passe pour les plus jeunes abeilles ouvrières qu'elles mêmes la communiquent entre elles par le phénomène de la trophallaxie. Durant cette phase, la maturation du miel se fait par enrichissement en constituants biologiques et modification enzymatique des glucides en parallèle une partie de l'eau s'évapore de sorte que le miel brut qui contient 25 à 40 % de matière sèche devient de

miel demi-muri contenant 60 % de matière sèche, il est ensuite déposé dans les alvéoles où s'effectue la troisième phase de l'élaboration.

Le miel s'épaissira sous l'influence de la température régnante dans la ruche ($\geq 37\text{ °C}$) et de la ventilation (assurée par les abeilles ventilieuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes) jusqu'à ce que sa teneur en eau avoisine 18 % (miel est mûr). Les ouvrières operculent les alvéoles au moyen de cire le miel mûr à fin qu'il se conserve parfaitement (Meda, 2005 ; Ouchemoukh, 2012).

4. Composition

Les miels varient entre eux par leur consistance, leur couleur, leur arôme et saveur d'où la variation de leur composition chimique. Ces différences proviennent non seulement des fleurs sur lesquelles les abeilles sont allées butiner mais aussi du sol, de l'exposition, de l'altitude, du climat, des saisons, de l'état physiologique de la colonie d'abeilles et de la manière dont le miel est extrait (Anklam, 1998 ; Azeredo *et al.*, 2003).

Le miel contient approximativement 181 composés (AL-Mamary *et al.*, 2002). Ce produit de la ruche renferme principalement des glucides (79,5 %), l'eau (17 %) et divers autres substances en quantité infime telles que les acides organiques, les protéines, les minéraux, les vitamines (B₁, B₂, C), les enzymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les pigments et les substances volatiles. Il renferme également des éléments figurés (grains de pollen, levures, parfois des bactéries à l'état de spores du genre *Bacillus*, des champignons et des algues microscopiques) (Ouchemoukh, 2012).

4.1 Composants majeurs

4.1.1 Eau

La teneur en eau des miels varie entre 14 et 21 %. L'optimum se situe autour de 17 %, car un miel trop épais est difficile à extraire et à conditionner, tandis qu'un miel trop liquide riche en eau risque de fermenter (Lachman *et al.*, 2010).

4.1.2 Glucides

Les glucides constituent les composants les plus importants du miel et ils varient en moyenne de 78 à 80 % (Pham- Délègue, 1999). Une vingtaine de glucides différents ont été identifiés dans les miels par chromatographie liquide à haute pression, mais ils ne sont jamais tous présents simultanément. Parmi eux, il existe :

- Des monosaccharides : 31 et 38 % en moyenne pour le glucose et fructose respectivement. 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 comme le maltose (7,3 %) et le saccharose (1,3 %).
- Des tri et polysaccharides qui représentent 1,5 à 8 %, parmi eux : l'erlose, le raffinose, le mélézitoze, le kojibiose et le dextrantriose (Pham- Délègue M., 1999).

Les réactions enzymatiques qui se déroulent au niveau du jabot de l'abeille et lors du phénomène de la trophallaxie conduisent à une modification du rapport fructose/ glucose. En effet, une partie du glucose disparaît, c'est pourquoi les miels, dans leur majorité, contiennent plus du fructose que du glucose (Ruiz-Matute *et al.*, 2010).

4.2 Composants mineurs

4.2.1 Acides aminés et protéines

Les acides aminés et les protéines sont présents en faible quantité dans le miel (0,26 %) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041 %. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, l'histidine, l'alanine, la glycine et la méthionine (Rossant, 2011). La proline est le plus abondant des acides aminés du miel. Sa quantité donne une indication sur la qualité du miel et elle ne doit pas être inférieure à 180 mg/kg (Meda *et al.*, 2005).

4.2.2 Sels minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,05 % dans les miels, mais sont plus abondantes dans les miels foncés (0,17 %). Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales mais le miel contient aussi du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium et du fer (Hochet, 2002).

4.2.3 Composés phénoliques

Les composés phénoliques (flavonoïdes, flavonols,...) proviennent de la propolis, du nectar ou du pollen et sont responsables de la coloration du miel. Les flavonoïdes possèdent

des propriétés antioxydantes très intéressantes car ils participent à la neutralisation des radicaux libres de l'organisme. La quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale. En règle générale, plus les miels sont foncés, plus ils sont riches en flavonoïdes. Parmi les flavonoïdes retrouvés dans le miel, il y a la pinocembrine, la pinobanskinine, la chrysinine, la galangine, la quercétine, la lutéoline et le kaempférol (Lachman *et al.*, 2010).

4.2.4 Acides organiques

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille (0,57 à 1,5 %). C'est l'acide gluconique, dérivé du glucose, qui prédomine (70 à 80 %) (Rossant, 2011)

Il existe également une vingtaine d'acides organiques comme les acides acétique, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique (Hoyet, 2005). Le pH peut varier de 3,2 à 4,5 mais il est en moyenne de 3,9 (Pham- Délègue, 1999).

4.2.5 Autres éléments présents

- Les vitamines sont peu nombreuses et en très faible quantité. Elles appartiennent au groupe C, très rarement aux groupes A, D et K lorsque les nectars en contiennent et, plus souvent, au groupe B que renferme le pollen (thiamine, biotine, acide folique,...) (Hochet, 2002).
- Les lipides proviennent des nectars où ils sont fréquemment présents au moins à l'état de traces (Calceolaria, Lysimachia, Malpighiacées) (Pham- Délègue, 1999).
- Le miel renferme des substances aromatiques qui sont à l'origine de l'arôme. Ce sont des mélanges de plusieurs dizaines de composés, alcools, cétones, acides et aldéhydes (Lachman *et al.*, 2010).

5. Cristallisation

La cristallisation du miel est un phénomène physique naturel qui intervient plus ou moins rapidement en fonction du type de miel et l'environnement (Bogdanov, 1987).

Le point de départ de la formation de cristaux est souvent un corps étranger très petit (grain de pollen, poussière, bulle d'air). Tous les sucres sont des substances dans lesquelles les arrangements atomiques répondent à une structure bien définie et constante pour chacun. Ceci signifie que les molécules de glucose, fructose et saccharose ne se disposent pas n'importe comment l'une par rapport à l'autre. Elles vont se rassembler suivant certaines

attractions entre leurs atomes pour former des cristaux élémentaires tous semblables et reproduisant une forme géométrique typique de la substance avec un nombre de faces et des angles constants. Ce phénomène tributaire d'un certain nombre de facteurs : la composition du miel, la température, la viscosité et son hygroscopie (White ,1962).

6. Facteurs d'altération

Comme tout produit d'origine animale ou végétale, le miel est susceptible de subir des altérations qui lui feront perdre une partie de ses qualités alimentaires et gustatives. Les facteurs pouvant provoqués une altération du miel sont nombreux :

6.1 Fermentation

Une teneur trop importante d'eau et une mauvaise cristallisation du miel constituent un environnement favorable à sa fermentation. Le miel ayant une humidité supérieure à 18 % risque de se fermenté via les levures qui y sont présentes. Ces dernières proviennent des nectars apportés dans la ruche et de l'environnement du rucher (Gonnet, 1986 ; Bogdanov, 1995).

6.2 Température

Outre son action au niveau de la fermentation, la température peut modifier de différentes manières les miels qui y sont soumis. Les basses températures ont toujours un effet de protection du miel parce qu'elles empêchent l'action des enzymes et des réactions chimiques. Elles inhibent aussi l'évaporation de certaines substances aromatiques. Néanmoins, les températures les plus élevées détruisent certaines enzymes et favorisent la formation de l'HMF (hydroxyméthylfurfural).

L'action d'une température de 20 °C pendant quelques mois a autant d'influence qu'une température de 50 °C pendant quelques jours (Rossant, 2011).

6.3 vieillissement

Même dans des conditions favorables de conservation, un miel vieillit mais sans bonifier. Ce vieillissement est principalement dû à l'action des enzymes et aussi à des modifications chimiques lentes. En général, avec le temps, le miel perd d'arômes et du glucose mais augmente en HMF et de l'acidité. Plus un miel est acide plus il se dégrade vite.

Il n'existe pas de date de retrait du marché pour le miel mais une Date Limite d'Utilisation Optimal (DLUO). Elle se situe, en générale, entre 18 et 24 mois maximum et c'est une sorte de garantie pour le consommateur qu'à cette date le miel a conservé ses qualités et caractéristiques sensorielles (Schweitzer, 2001).

6.4 Conditionnement

Tout apiculteur doit avoir à l'esprit que toute intervention sur le miel, qu'il soit encore dans les cadres ou déjà en bocaux, peut avoir un effet positif ou négatif sur le conditionnement du produit. Cependant, la propreté des bocaux, du matériel, de l'apiculteur lui-même est fondamentale. L'introduction de ferments ou de corps étrangers et l'augmentation de la teneur en eau du miel peuvent provenir d'un défaut de propreté.

La conservation du miel doit se faire à l'abri de l'air et de l'humidité, afin d'éviter les éventuelles dénaturations et fermentations de ce produit. Il faut également veiller à ce que la température ne soit pas élevée ($< 30\text{ °C}$), dans le but de conserver ses qualités thérapeutiques (Aupy *et al.*, 1994).

CHAPITRE II.

PROPRIÉTÉS

DIÉTÉTIQUES ET

THÉRAPEUTIQUES DU

MIEL

Chapitre II. Propriétés diététiques et thérapeutiques du miel

1. Propriétés diététiques

Pour entretenir la santé, il faut se nourrir et se guérir en cas de maladie. Cependant le miel est un alicament. La richesse du miel en fructose et en glucose est à l'origine de son importante action dynamogénique et stimulante du cœur recherchée par les sportifs, ainsi que de sa puissance calorique (300 kcal/100 g) qui lui permet de satisfaire les besoins énergétiques de l'organisme et d'avoir une plus grande résistance à la fatigue physique et intellectuelle (Chézeries, 1982 ; Donadieu, 2003).

Par ailleurs, le miel favorise l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme, qui sont deux minéraux essentiels au bon fonctionnement de l'organisme animal. Les principes aromatiques et les acides présents dans le miel influencent favorablement la digestion en stimulant les glandes salivaires. De plus, le miel n'utilise pas les sucs gastriques. Grâce à ses nombreux enzymes, il facilite également l'assimilation des autres aliments en général, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal. Le miel, tout en ayant un pouvoir sucrant supérieur à celui du saccharose, possède une action nettement moins nocive que celui-ci dans la genèse des caries dentaires (Gharbi, 2011).

2. Propriétés thérapeutiques

2.1. Activité antioxydante

Le miel est une source naturelle d'antioxydants qui jouent un rôle primordial dans la réduction de nombreuses maladies telles que le cancer, le diabète, la cataracte, les maladies cardiovasculaires et de différents processus de l'inflammation (Viuda-Maros *et al.*, 2008 ; Ferreira *et al.*, 2009).

Le mécanisme protecteur antioxydant du miel utilise à la fois les enzymes telles que la catalase et la peroxydase, les acides phénoliques, les flavonoïdes et la proline (Meda *et al.*, 2005). Toutefois, les composés phénoliques sont les plus importants dans cette activité. Les antioxydants sont des substances présentes à faible concentration dans le miel, qui sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydations et ses conséquences. Les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action (Rossant, 2011) :

- Les antioxydants primaires ou antiradicalaires (type I) (exemple: les composés phénoliques) : leurs actions reposent sur leurs capacités à inactiver les radicaux libres,

car ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents.

- Les antioxydants secondaires ou préventifs (type II) : ils préviennent la formation des radicaux libres par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet prooxydants des ions ; c'est le cas de certains acides organiques et de certaines protéines. D'autres sont des piègeurs d'oxygène comme par exemple l'acide ascorbique, les caroténoïdes ou certains systèmes enzymatiques.

Certains composés phénoliques possèdent à la fois les modes d'action de type I et II.

En règle générale, les miels foncés et les miels ayant une forte teneur en eau ont une capacité antioxydante plus grande que celle des autres miels. De plus, l'activité anti-oxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique (Rossant, 2011).

2.2. Activité antibactérienne

L'action antibactérienne du miel est connue depuis très longtemps, néanmoins ses modalités restent à élucider. Ainsi, depuis plusieurs années, de nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer le mode d'action antibactérien du miel ainsi que son spectre d'activité. De nombreux mécanismes synergiques, impliquant des agents physiques et chimiques, semblent intervenir dans cet effet (Schivre, 2006)

2.2.1 Agents physiques

Les caractéristiques physico-chimiques responsables de l'effet antibactérien du miel sont les suivantes :

❖ Osmolarité

L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en glucides du miel. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (Assie, 2004). De plus, le miel étant une solution sursaturée, l'eau disponible pour permettre la croissance de la plupart des bactéries ou des levures est insuffisante due à une forte interaction entre les glucides du miel et les molécules d'eau, cette eau libre s'exprime en activité de l'eau. La croissance de la majorité des bactéries

est inhibée à des activités de l'eau comprise entre 0,94 et 0,99 et les valeurs moyennes de l'activité de l'eau du miel varient entre 0,56 et 0,62 (Tomczak, 2010).

La croissance de *Staphylococcus aureus* n'est inhibée que pour des valeurs de l'activité de l'eau inférieures à 0,86, ce qui correspond à un standard du miel à une concentration de 29 % donc même si le miel est dilué il peut inhiber la croissance bactérienne par l'action osmotique.

Les propriétés antibactériennes du miel ne sont pas dues uniquement à cette haute teneur en sucres. En effet, des études scientifiques comparant les effets antibactériens du miel et du sucre ont été menées (Drouet, 1983 ; Bose, 1992) ; il en résulte que le miel a un pouvoir antibactérien supérieur à celui du sucre. Cette différence d'activité est justifiée par la présence dans le miel des substances appelées inhibines (Schivre, 2006).

❖ Acidité

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Cette acidité, principalement due à l'acide gluconique, crée un milieu défavorable pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes telles que : *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pyogenes* (Assie, 2004 ; Ouchemoukh, 2012).

La plus grande majorité des bactéries ne peuvent se multiplier dans un milieu acide. Par exemple, la croissance de *salmonella sp.* n'est possible qu'à un pH supérieur à 4 celle de *E.coli* à un pH supérieur à 4,3 et celle *pseudomonas aeruginosa* à un pH supérieur à 4,5 (Tomczak, 2010).

Mis à part l'osmolarité et l'acidité du miel, sa viscosité crée un rempart contre la contamination bactérienne et limite l'oxygénation du milieu en limitant les mouvements de convection (Schivre, 2006).

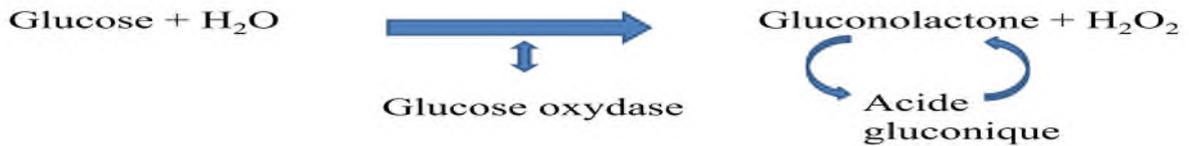
2.2.2. Agents chimiques

Il existe dans le miel deux grands types d'inhibines : celles à activité peroxydique et celles à activité non-peroxydique.

❖ Inhibine à activité peroxydique

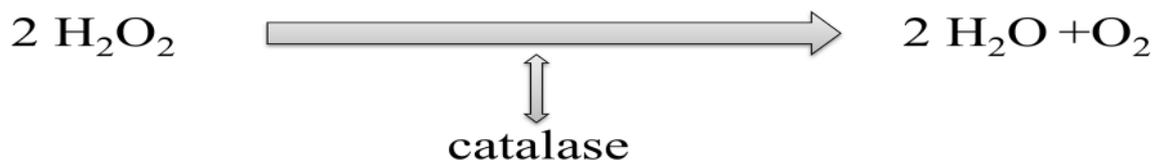
L'activité antibactérienne du miel a été démontré, *in vitro* par les professeurs Donald et Ziao en 1937 et ont nommé « inhibine » le facteur responsable de cette action. Ce n'est

qu'en 1962-1963 que le professeur White a démontré que l'effet inhibiteur était dû à un dégagement dans le miel du peroxyde d'hydrogène qui est produit lorsque le glucose, sous l'influence d'une enzyme appelée la glucose-oxydase, se transforme en acide gluconique selon la réaction suivante (Descottes, 2000) :



Cette enzyme, thermolabile et photolabile provient des glandes hypopharyngiennes des abeilles lors de la transformation du nectar en miel (Weston *et al.*, 1999 ; Descottes, 2009). L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel, ce qui diminue le développement de colonies bactériennes (Descottes, 2009).

La catalase représente l'antagoniste de la gluco-oxydase, elle réduit l'eau oxygénée, selon la réaction suivante :



Quelques bactéries possèdent la catalase, elles peuvent donc décomposer le H_2O_2 . En plus, elles peuvent la retrouver dans le plasma et son taux peut être élevé dans les exsudats d'une plaie car elle est libérée par les leucocytes morts. Lorsque la catalase est activée, il faut une forte concentration en H_2O_2 , mais lors de l'application du miel, la libération de H_2O_2 se fait de façon lente et prolongée. De ce fait, la catalase n'est que faiblement activée, et ne peut donc pas détruire l'activité antibactérienne du miel produite par le H_2O_2 . Cela veut dire que le H_2O_2 a un meilleur potentiel antibactérien quand il est libéré par le miel que lorsqu'il est utilisé seul dans une préparation antiseptique (Descottes, 2009).

Etant donné que l'eau est indispensable au processus d'oxydation, le H_2O_2 ne se forme qu'uniquement si le miel est dilué. Le miel mûr ne contient que de faible quantité de H_2O_2 et n'inhibe que faiblement la croissance bactérienne par l'action proxydique (Tomcsak, 2010).

Le principe antibiotique qui s'appelle « inhibine » est lié à un phénomène tout à fait ordinaire de réaction biochimique avec libération de H_2O_2 . Cependant, le pouvoir antibactérien n'est pas seulement lié à cette substance. En effet, déjà en 1960, Lavis extrait un

principe actif parfaitement thermostable de substances qui représentent l'inhibine non peroxyde.

❖ **Inhibines à activité non peroxydique**

Les inhibines non peroxydes proviennent en partie de la flore mellifère. Cependant, la contribution des abeilles est importante car le miel issu d'un nourrissage au sucre possède une activité antibactérienne comparable à celle du miel de forêt (Bogdanov et Bulmer, 2001).

✓ **Pirocembrine, Pinibanksine et chrysine**

Les composés phénoliques (pirocembrine, pinibanksine et chrysine) sont des inhibines non peroxydes qui possèdent des activités antimicrobiennes (Ferrerres *et al.*, 1994).

✓ **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 (Kwakmane *et al.*, 2012). Chez l'homme, elle constitue une famille de peptides cationiques antimicrobiens naturels et qui est un agent impliqué dans l'immunité spécifique, ou innée. Les peptides appartenant à ces deux groupes sont riches en arginine et possèdent six résidus cystéines (motif consensus), permettant la formation de trois ponts disulfure intramoléculaires (Jonard *et al.*, 2006). Ces peptides peuvent être divisés en deux groupes :

α -défensine : présente au sein de certains granules sécrétoires, dans les leucocytes ou des cellules immunitaires spécialisées.

β -défensine : les β -défensines sont des peptides constitués de 41 à 50 acides aminés, elles ne sont pas seulement des peptides antimicrobiens ; elles possèdent également une activité proinflammatoire par stimulation du chimiotactisme des cellules dendritiques immatures, des lymphocytes T et des polynucléaires neutrophiles. Chez l'homme, il existe 17 sous-types de β -défensines (Jonard *et al.*, 2006).

✓ **méthylglyoxal (MGO)**

C'est une substance naturelle à pouvoir bactéricide qui a été mise en évidence en 2008 par le professeur Thomas Henlé à l'université de Dresde (Allemagne). Elle est présente dans

tous les aliments riches en glucides ainsi, elle est l'un des composants dicarboxylés découlant de la réaction de Maillard.

A partir de 10µg par gramme de miel, le MGO joue un rôle antibactérien mais il peut aussi avoir un effet délétère sur les cellules et conduire, par la voie sanguine, à la glycation ou, par la voie externe, à la cancérisation des cellules jeunes (Anonyme 1).

2.3. Action cicatrisante

La cicatrisation d'une plaie est un phénomène biologique naturel qui se déroule en trois phases :

- la phase exsudative pour la détersion.
- la phase proliférative avec développement du tissu de granulation.
- La phase de différenciation avec maturation cellulaire, développement de la cicatrisation et épithélialisation.

Les tissus sont capables de réparer des lésions localisées. Cette capacité reste cependant soumise à de nombreux facteurs. La rapidité et la qualité de la cicatrisation d'une plaie dépendent de l'état général du patient, de l'étiologie de la lésion, de l'état et de la localisation de la plaie, de la survenue ou de l'absence d'une infection. D'autres facteurs peuvent être des obstacles à la cicatrisation, tels que le diabète, la malnutrition, l'obésité, le tabagisme et l'âge avancé (Anonyme 1).

Le professeur Bernard Descottes a appliqué le miel pour la première fois en 1984 sur une cicatrice de laparotomie surinfectée d'une jeune fille âgée de 20 ans. Une application du miel au niveau de cette plaie a conduit à une cicatrisation pratiquement complète en huit jours (Descottes, 2000).

L'efficacité de pansement du miel dans le traitement des plaies est due à plusieurs facteurs : sa viscosité qui empêche la contamination par les bactéries, son pH acide qui engendre une libération accrue de l'oxygène par l'hémoglobine, et sa pression osmotique élevée qui crée un milieu humide autour de la plaie. En plus, le miel stimule l'angiogenèse (formation de nouveaux capillaires sanguins) et la synthèse de collagène. Le peroxyde d'hydrogène du miel dilué stimule la croissance cellulaire en activant certaines enzymes (protéase à sérine, métalloprotéase) et le récepteur de l'insuline (Molan, 2001), donc la croissance cellulaire n'est pas retardée. Ainsi le pansement de miel ne s'adhère pas à la plaie lors de son enlèvement.

La glycolyse constitue la voie métabolique majeure des macrophages, fibroblastes et cellules épithéliales d'une plaie en cicatrisation. Le miel vu sa teneur élevée en glucides est susceptible de favoriser la cicatrisation en fournissant de l'énergie aux cellules de la cicatrisation (Lusby *et al.*, 2002).

Sumitra *et al.* (2009) ont déterminés l'activité de cinq enzymes glycolytiques (hexokinase, phosphofructokinase, glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, lactate déshydrogénase et glucose-6- déshydrogénase) au sein de tissu de granulation des rats (auquel des plaies avaient été infligées de façon expérimentale puis traité avec du miel de façon topique), après 4, 8 et 12 jours d'évolution. Une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de ces enzymes (68 à 114 %) au sein du groupe traité avec du miel par rapport au groupe contrôle (aucun traitement) à été mise en évidence. cette augmentation particulièrement marqué après 8 jours d'évolution, met en évidence l'importance de l'apport de glucose aux cellules de la cicatrisation, notamment au moment ou la prolifération fibroblastique et la synthèse du collagène se mettent en place de façon active.

Les bactéries catabolisent toujours de préférence du glucose plutôt que des acides aminés, l'application du miel entraine la production d'acide lactique plutôt que de composés malodorants (ammoniaque, amine, composé sulfurique) résultant de la dégradation des acides aminés formés après digestion des protéines du sérum et des tissus nécrotiques de la plaie, donc le miel est un désodorisant des plaies (Molan, 1998).

Le miel est hygroscopique, grâce à son action osmotique il va drainer la lymphe et le plasma des tissus sous-jacents et périphériques, entraînant un afflux de fluide à la surface de la plaie, créant alors à l'interface entre la surface de la plaie et le pansement une couche de fluide constitué de miel dilué par du plasma et de la lymphe, cet afflux de lymphe et de plasma favorise la cicatrisation (Molan, 2002 ; Cutting, 2007 ; Goetz, 2009) en :

- Assurant un milieu humide optimal qui favorise la détersion autolytique, la phase inflammatoire et la phase de la réparation de la plaie, et ce sans accroître le risque de prolifération bactérienne grâce aux propriétés antibactériennes du miel.
- Fournissant un apport de nutriments supplémentaires aux cellules participant à la cicatrisation.
- Améliorant l'oxygénation de la plaie, notamment dans les cas où la perfusion de celle-ci est limitée (lésion vasculaire, inflammation importante, œdème).

- Participant au débridement de façon mécanique : les mouvements de fluides à la surface de la plaie permettent de détacher des corps étrangers ou tissus nécrotiques ou autre débris qui seront éliminés lors de retrait du pansement.
- Permettant une résorption de l'œdème périlésionnel. De plus, si le miel est appliqué en quantité suffisante, son osmolarité élevée entraîne la présence de suffisamment de fluide pour que le pansement ne s'adhère pas à la plaie. Ce phénomène rend le retrait de pansement indolore et évite de léser les tissus néoformés à la surface de la plaie lors de ceux-ci.

Sous l'effet de l'action osmotique du miel, les tissus de la plaie ne souffrent pas de déshydratation parce-que l'eau perdue par les cellules superficielles est rapidement remplacée grâce à l'afflux de fluide provenant des tissus plus profonds (Cooper et Molan, 1999).

La macération de la peau à la périphérie d'une plaie est un effet indésirable rencontré lors de l'utilisation de certains pansements permettant la cicatrisation en milieu humide. Cependant ce problème n'est pas rencontré avec les pansements au miel car, même dilué, celui-ci aura tendance à attirer l'humidité cutanée plutôt qu'à hydrater la peau (Molan, 2002 ; Cutting, 2007).

L'acidité du miel à la surface de la plaie semble favoriser la cicatrisation. Dans une étude expérimentale sur des cochons d'Inde, des brûlures de 2^{ème} degré ayant cicatrisées en milieu acide (pH = 3,5) présentaient une cicatrisation significativement plus rapide que celles ayant cicatrisées en milieu neutre (pH = 7,4) et alcalin (pH = 8,5) (Kaufman *et al.*, 1985).

Le pH à la surface des plaies chroniques est généralement alcalin, le passage d'un pH alcalin à un pH acide est susceptible d'entraîner de nombreux effets dont (Tomczak, 2010):

- Un déplacement vers la droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine. cela entraîne un relargage plus important d'oxygène dans la plaie, ce qui peut s'avérer très intéressant dans les cas où la perfusion de la plaie est limitée (lésion vasculaire importante, atrophie vasculaire dans les cas des plaies chroniques).

- Une réduction de la toxicité des produits du métabolisme bactérien, dans un milieu acide, la forme toxique de l'ammoniac NH_3 est transformée en sa forme ionique non toxique NH_4^+ .
- Une diminution de l'activité des protéases, celles-ci sont exacerbées en milieu alcalin ce qui peut entraîner un ralentissement voir un arrêt de la cicatrisation, en effet, les protéases s'attaquent aux facteurs de croissance et à des composant de la matrice extracellulaire qui est nécessaire à la migration des fibroblastes et des cellules épithéliales.

L'action des antioxydants consiste à neutraliser les radicaux libres, molécules hautement réactives causant des dommages importants aux protéines, à l'ADN cellulaire et aux membranes cellulaires dans lesquelles ils entraînent une peroxydation des lipides. Une grande quantité de radicaux libres est produite au sein d'une plaie, lors de la phagocytose et la phase inflammatoire de la cicatrisation (Molan, 2009).

Lors de l'ingestion des bactéries ou de débris nécrotiques par un phagocyte (polynucléaire, neutrophile ou macrophage), une enzyme de la membrane cellulaire de celui-ci est activée et produit le radical superoxyde. Celui-ci va donner naissance à de peroxyde d'hydrogène et à d'autres radicaux libres connus sous le nom de dérivés réactifs oxygénés (ROS). Le radical superoxyde peut également réagir avec l'oxyde nitrique produit par les macrophages pour former le radical peroxynitrite, un oxydant très puissant susceptible d'entraîner des lésions s'étendant aux tissus périphériques. En plus des dommages qu'ils causent d'une façon directe, les ROS sont responsables des dommages indirects causés par l'activation des protéases. Celles-ci sont normalement présentes dans la plaie sous forme inactive ou sont maintenues inactives par un inhibiteur. En présence des ROS, elles sont activées par oxydation tandis que leurs inhibiteurs sont désactivés par oxydation. Une fois activées, les protéases vont détruire des cytokines et facteurs de croissance dont les fonctions régulatrices sont nécessaires au bon déroulement de la cicatrisation. Elles vont également s'attaquer à la matrice extracellulaire de la plaie indispensable à la migration des cellules de la cicatrisation. Ces protéases activées peuvent donc entraîner un retard de la cicatrisation voir une aggravation des lésions tissulaires (Tomkzak, 2010).

De nombreux composants du miel semblent contribuer à sa capacité antioxydante. Meda *et al.* (2005) ont mis en évidence que les composés phénoliques et les flavonoïdes du miel participent de façon significative à son pouvoir antioxydant en piégeant les radicaux

libres grâce à leur structure qui contient un anneau aromatique et un groupe hydroxyl possédant un hydrogène mobile, mais ils ne sont pas les seuls à en être responsables. Des molécules comme les caroténoïdes, les acides organiques, les enzymes, les peptides et probablement d'autres composés mineurs semblent contribuer également à ce pouvoir antioxydant (El-hady, 2009).

Les propriétés anti-inflammatoires du miel ont été mises en évidence dans de nombreuses études cliniques. Plusieurs auteurs rapportent ainsi que le traitement des plaies avec des pansements au miel a permis d'obtenir rapidement une atténuation voir une disparition des signes cliniques de l'inflammation, à savoir rougeur et chaleur, œdème, exsudation et douleur (Subrahmanyam, 2001 ; Kabaka-dzik, 2004).

La réponse inflammatoire étant fortement stimulée par la présence de bactéries, il est probable que l'activité antibactérienne du miel contribue grandement à son activité anti-inflammatoire (Molan, 2009).

Le miel participe efficacement au débridement de la plaie éliminant les tissus nécrotiques, les corps étrangers et autres débris qui pourraient entretenir l'inflammation (Fahie et Shettko, 2007 ; Van den berg *et al.*, 2008).

Les propriétés anti-oxydantes auraient également une place importante dans l'activité anti-inflammatoire du miel. En effet, dans le cas où un stimulus inflammatoire persiste au sein de la plaie, les radicaux libres produits en quantité importante et de façon prolongée vont instaurer un cercle vicieux (Schreck *et al.*, 1991) d' où :

- ✓ L'activité des phagocytoses, des macrophages et polynucléaires neutrophiles entraîne la libération de radicaux superoxyde et peroxyde d'hydrogène.
- ✓ Le peroxyde d'hydrogène active le facteur de transcription nucléaire NF κ B qui va induire la production de cytokines amplifiant la réponse inflammatoire via le recrutement et l'activation de leucocytes.

Les antioxydants présents parfois en grande quantité dans le miel, permettant de limiter l'activation du NF κ B et donc de réduire l'inflammation siégeant dans la plaie (Schreck *et al.*, 1991). Oliveira-marque *et al.* (2007) dans une étude *in-vitro* ont montré que le peroxyde d'hydrogène à des concentrations inférieures à 25 μ mol/L, déclenche l'activation du NF κ B et à des concentrations supérieures à 25 μ mol/L, inhibe cette activation. Donc le supplément

de peroxyde d'hydrogène apporté à la plaie par le miel une fois dilué pourrait permettre de franchir ce seuil et de juguler une réponse inflammatoire excessive.

En fin, de récents travaux *in-vitro* ont également mis en évidence la capacité du miel à inhiber directement la phagocytose, limitant ainsi la formation de radicaux libres et l'inflammation qui en découlent (Molan, 2009).

Touts comme les études mettant en évidence les propriétés anti-inflammatoires du miel dans le cadre du traitement des plaies, celles mettant en évidence sa capacité à stimuler la croissance tissulaire sont nombreuses (Tomczak, 2010). Abuharfeil *et al.* (1999) ont montré que le miel possédait une activité mitogène sur les lymphocytes B et T humains et stimulait l'activité des phagocytes. Ghaderi et Afchar, (2004) ont mis en évidence l'accélération de la formation du tissu de granulation avec une angiogenèse plus rapide, une synthèse et une maturation accélérées des fibres de collagènes présentant une meilleure organisation, une épithélialisation et une contraction plus rapides de la plaie ainsi que l'acquisition d'une meilleure résistance à la tension en fin de la cicatrisation d'une plaie traitée avec du miel.

Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée communément est utilisé dans la prise en charge des plaies pour ses propriétés antiseptiques. Cependant si à des concentrations suffisamment élevées il constitue un agent antimicrobien efficace, à des concentrations trop élevées (comme celles trouvées dans les solutions utilisées comme antiseptique 3 %, 6 %) le peroxyde d'hydrogène est responsable de retard de cicatrisation, voire d'une aggravation des lésions tissulaires (Roy *et al.*, 2006). En effet le peroxyde d'hydrogène donne alors naissance à des radicaux oxygénés responsables de dommages cellulaires et protéiques (Molan, 1999).

Le miel contient un inhibiteur de la glucose-oxydase, celle-ci ne devient active que quand il est dilué, comme c'est le cas une fois le miel est en contact avec les fluides de la plaie. Une fois cette dilution réalisée, le peroxyde d'hydrogène va être produit de façon lente, continue et à un taux constant pendant au moins 24 heures (Mathews et Binnington, 2002). Les concentrations en peroxyde d'hydrogène obtenues sont environ 1000 fois inférieures à celles retrouvées dans les solutions de peroxyde d'hydrogène à 3 % généralement utilisées comme antiseptique, ces concentrations sont suffisamment élevées pour bénéficier de l'effet antibactérien du peroxyde d'hydrogène mais suffisamment faibles pour ne pas être à l'origine de dommages cellulaires (Lay-flurrie, 2008). Le peroxyde d'hydrogène est même produit de façon physiologique dans les cellules suite à la métabolisation de glucose, plusieurs études

suggèrent qu'il permet d'accélérer la libération de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) par des macrophages humains et de rat *in-vitro* (Roy *et al.*, 2006 ; Tomczak, 2010).

La proline, l'hydroxyproline et la glycine, naturellement présentes dans le miel, sont des acides aminés indispensables à la formation du collagène. Le fer et la vitamine C sont nécessaires à l'activité des enzymes prolyl hydroxylase et lysyl hydroxylase, le cuivre est nécessaire à l'activité de l'enzyme lysyl oxydase. Ces enzymes participent à la maturation des fibres de collagène (Tomczak, 2010).

Le miel possède des flavonoïdes qui servent à neutraliser les radicaux libres hydroxyles. En concentration importante ils réduisent l'état inflammatoire installé et apaisent les douleurs, ce qui est non négligeable pendant le processus de la cicatrisation, rendant l'épisode plus supportable pour les patients (Anonyme 1).

Les facteurs « non peroxydes » favorisent également l'élimination des germes de la plaie (Iftikhar *et al.* 2010 ; Tomczak, 2010 ; Al-Waili *et al.*, 2011).

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

Plusieurs échantillons de miels sont récoltés en 2013 dans différentes régions géographiques d'Algérie dont la majorité provienne de la wilaya de Béjaia (tableaux I).

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

Echantillon	Région	Etat	Couleur
M1	Tizi adjissa (Béjaia)	Cristallisé	Marron foncé
M2	Tissa (Béjaia)	Fluide	Brun
M3	Tavel (Béjaia)	Fluide	Marron foncé
M4	Tilioua kadi (Béjaia)	Cristallisé	Jaune foncé
M5	Smaoun chemini(Béjaia)	Fluide	Marron
M6	Barbacha (Béjaia)	Cristallisé	Marron claire
M7	Bouaiche (Béjaia)	Fluide	Marron
M8	Adekar (Béjaia)	Fluide	Jaune
M9	Assif el hammam(Béjaia)	Cristallisé	Jaune
M10	Ath yanni (Tizi Ouzou)	Semi-Cristallisé	Marron
M11	Tigzirt (Tizi Ouzou)	Fluide	Jaune mimosa
M12	Tighremt (Bejaia)	Fluide	Marron
M13	Timezrit (Béjaia)	Fluide	Brun
M14	Bouhamza (Béjaia)	Semi-Cristallisé	Marron claire
M15	Ilmaten (Béjaia)	Fluide	Brun sombre
M16	Bouhadjer (El-Taref)	Cristallisé	Jaune foncé
M17	Guelma	Cristallisé	Jaune sombre
M18	Médéa	Cristallisé	Jaune
M19	Sétif	Semi-Cristallisé	Jaune claire
M20	Bordj Bou areridj	Cristallisé	Jaune claire

2. Analyses physico-chimiques

Maintes analyses physico-chimiques (humidité, pH, conductivité électrique, pouvoir rotatoire, proline, hydroxyméthylfurfural) sont réalisées sur différents échantillons de miels selon la méthode décrite par Bogdanov *et al.* (1999).

2.1 Humidité

La teneur en eau du miel est déterminée par mesure optique de l'indice de réfraction. Une quantité de miel est introduite dans un tube à essai puis mise au bain marie à 50 °C afin de dissoudre les cristaux de sucres. Après homogénéisation, quelques gouttes du miel sont étalées sur la surface du prisme du réfractomètre, préalablement étalonné avec de l'eau distillée, et l'indice de réfraction est lu après deux minutes (Bogdanov *et al.*, 1999). L'humidité est obtenue par correspondance à la table de CHATAWAY (Annexe I).

2. 2 pH

Pour la détermination de pH, une quantité de 2,5 g de miel est dissoute dans un volume de 25 ml d'eau distillée et le pH est lu avec un pH-mètre (Bogdanov *et al.*, 1999).

2. 3 Conductivité électrique

La conductivité électrique est déterminée sur une solution de miel à 20 % de matière sèche. Une masse de miel est pesée telle que $M = (5 \cdot 100) / MS$ (MS : matière sèche de miel) puis dissoute dans 25 ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique.

La mesure s'effectue par immersion de la cellule du conductimètre dans la solution de miel, la valeur de la conductivité électrique est lue sur l'appareil et les résultats sont exprimés comme suit (Bogdanov *et al.*, 1999):

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

CE = Conductivité électrique

A = (la valeur mesurée x 0,032) x (T°-20°)

T° = Température ambiante de la mesure

0,032 : Facteur de correction

Il existe une relation linéaire entre la conductivité électrique et la teneur en matières minérales d'un miel (Accorti *et al.*, 1987 ; Sancho *et al.*, 1991). La teneur en cendres est directement déterminée en appliquant l'équation citée par Piazza *et al.* (1991) :

$$X1 = (X2 - 0,143) / 1,743$$

X1 : Cendres (mg/100 g).

X2 : Conductivité électrique en $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20 °C.

2. 4 Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est déterminé par un polarimètre en utilisant une solution aqueuse de miel claire et filtrée. Une masse de 12 g de miel est dissoute dans de l'eau distillée. Un volume de 2 ml de la solution d'hexacyanoferrate de potassium (15 %, Carrez I) et 2 ml de la solution d'acétate de zinc (30 %, Carrez II) y sont ajoutés. Le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée et après 24 h, les solutions sont filtrées. Le filtrat est versé dans le polarimètre (Polaser-SI) ayant un tube de 10 cm de longueur. La valeur affichée sur l'appareil à l'échelle de la solution de saccharose et à température de 20 °C donne la valeur du pouvoir rotatoire (Bogdanov *et al.*, 1999).

2. 5 Protéines

La teneur du miel en protéines est déterminée par la méthode de Bradford. C'est une méthode colorimétrique dans laquelle un colorant, le bleu de Coomassie G250, de couleur vert foncé en milieu acide, devient bleu en se fixant aux groupements NH_3^+ des protéines, la réaction est quasi-instantanée et se mesure à 595 nm (Bradford, 1976).

Dans un tube à essai, un volume de 0,1 ml d'une solution de miel à 50 % est additionné d'un volume de 5 ml du réactif de Bradford. Après 2 min, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 595 nm (Azeredo *et al.*, 2003). La teneur du miel en protéines est déterminée en utilisant, une courbe d'étalonnage avec le sérum albumine bovine (BSA) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de BSA par 100 g de miel (mg EBSA/100 g) (Annexe II, figure 1).

2.6 Proline

Un volume de 1 ml d'acide formique et 1ml de ninhydrine éthanolique (3 %) sont introduits dans des tubes à essais il y a addition de 500 μl de l'eau distillée (pour le blanc), 500 μl de la solution standard de proline (tubes standards) et 500 μl d'échantillon de miel (5 %) (tubes échantillons). Les tubes sont fermés, agités pendant 15 min puis placés au bain marie à 95 °C pendant 15 min. Ils sont transférés dans un autre bain marie à 70 °C pendant 10 min. Un

volume de 5 ml de 2-propanol (50 %, v/v) y sont ajouté. Après 45 min, l'absorbance est lue à 510 nm. Les concentrations en proline sont déterminées selon l'équation suivante :

$$\text{Proline (mg/kg)} = (E_s \times E_1 \times 80) / (E_a \times E_2)$$

E_s : Absorbance de la solution d'échantillon.

E_a : Absorbance de la solution standard de la proline.

E_1 : mg de proline pour la solution standard.

E_2 : Quantité prise du miel en kg.

80 : Facteur de dilution.

2.7 Couleur

La couleur des miels est déterminée selon la méthode décrite par Bath et Singh (1999). Une quantité de 1 g de miel est dissoute dans un volume de 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, l'absorbance est lue à 450 nm.

2.8 hydroxyméthylfurfural (HMF)

Pour la détermination de l'HMF, une quantité de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Un volume de 500 µl de solution de Carrez I (solution d'hexacyanoferrate de potassium à 15 %) et 500 µl de solution Carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 %) y sont additionnés. Le mélange est ajusté à 50 ml avec de l'eau distillée. Après filtration, les premiers 10 ml du filtrat sont écartés. Deux aliquotes de 5 ml sont alors introduits dans deux tubes à essais, l'un avec 5 ml d'eau distillée (aliquote d'analyse) et l'autre avec 5 ml de sodium bisulfite à 2 % (aliquote de référence). L'absorbance est lue à 284 nm et 336 nm et la teneur en HMF est donnée par l'équation suivante (Bogdanov *et al.*, 1999) :

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

A_{284} : absorbance à 284 nm.

A_{336} : absorbance à 336 nm.

F : facteur de dilution. Lorsque l'absorbance est supérieur à 0,6 les aliquotes d'analyses et de référence sont diluées avec de l'eau distillée et avec la solution de sodium bisulfite, respectivement.

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

149,7 : constante.

3. Antioxydants et activités antioxydantes

3. 1 Antioxydants

3. 1. 1. Polyphénols totaux

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-réduction. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant du molybdène et du tungstène (Gervaise, 2004). La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits du miel (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

La teneur en polyphénols totaux de miel est déterminée selon la méthode rapportée par Naithani *et al.* (2006). Un volume de 200 μ l de la solution de miel (10 %) est additionné de 200 μ l de réactif de Folin Ciocalteu (50 %) et de 4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 2 %). Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm.

Les teneurs en polyphénols totaux sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe II, figure 2). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100g).

3. 1. 2. Flavonoïdes

La méthode de dosage des flavonoïdes est basée sur la formation des complexes flavonoïdes avec des métaux tels que l'aluminium, utilisé sous forme de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Arvouet-Grand *et al.*, 1994).

Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes comme le montre la figure 02 (Ribéreau-Gayon, 1968).

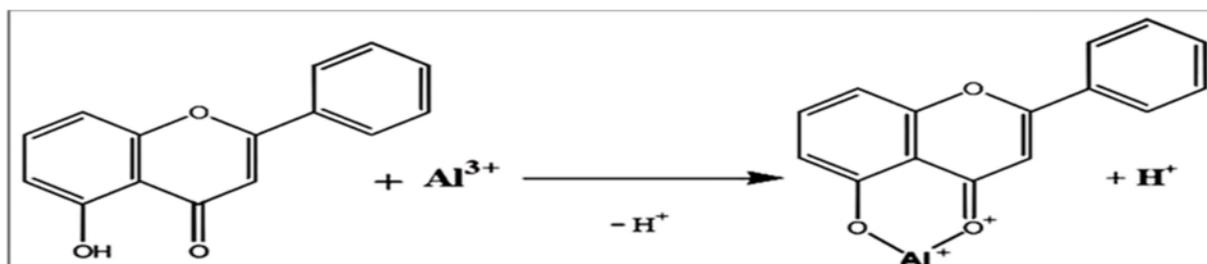


Figure 01 : Mécanisme de la réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

La teneur du miel en flavonoïdes est estimée selon la méthode décrite par Al *et al.* (2009). Un volume de 1 ml de la solution de miel (50 %) est mélangé avec 300 µl de nitrite de sodium (5%). 5 min après, un volume équivalent de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10 % dans le méthanol) est additionné au mélange réactionnel et après 6 min, 2 ml de soude (1M) y sont ajoutés. L'absorbance du mélange réactionnel est déterminée à 510 nm. Les concentrations en flavonoïdes sont exprimées en mg équivalent de quercétine par 100g de miel (mg EQ/100g) (Annexe II, figure 3).

3.1.3 Orthodiphénols

La teneur en Orthodiphénols est estimée selon la méthode décrite par Brahmi (2012). 750 µl de la solution de miel à 5 % sont additionnés de 1250 µl de molybdate de sodium (5 %). Après 15 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 370 nm les taux en Orthodiphénols sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisé avec de l'acide gallique, les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (annexe II, figure 4).

3. 2 Activités antioxydantes

3. 2. 1. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur repose sur la réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] et en milieu acide par l'acide trichloroacétique. La forme réduite donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gulcin *et al.*, 2005).

Le pouvoir réducteur est estimé selon la méthode décrite par Beretta *et al.* (2005). Un volume de 500 µl de la solution de miel (5 %) est homogénéisé avec 500 µl de tampon phosphate (0,2 M; pH 6,6) et de 500 µl de ferricyanure de potassium (1 %). Après agitation, l'ensemble est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis 500 µl de trichloroacétate (TCA 10 %) sont ajoutés au mélange. Un volume de 500 µl prélevé de ce mélange est dilué dans 800 µl d'eau distillée puis 100 µl de chlorure ferrique (0,1 %) y sont additionnés. Après 10 min, l'absorbance est lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG / 100 g) (annexe II, figure 5).

3. 2. 2 Réduction du molybdate

Le test de réduction du molybdate se base sur la réduction du molybdène ($\text{MO}_{(\text{VI})}$) en ($\text{MO}_{(\text{V})}$) par un antioxydant, ce qui engendre la formation d'un complexe vert (phosphate/ $\text{MO}_{(\text{V})}$) (Mcanalley *et al.*, 2003).

L'activité antioxydante du miel en utilisant le molybdate est réalisée selon la méthode de Nagarajin *et al.* (2008). Un volume de 100 μ l de la solution de miel (0,1 %) est mélangé avec 1 ml du réactif de phosphomolybdate (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange est incubé dans un bain marie à 90 °C pendant 90 min et l'absorbance est lue à 695 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAA/100g) (annexe II, figure 6).

3. 2. 3. Test du FRAP

Le pouvoir antioxydant d'une solution comme les extraits végétaux est déterminé par le test de FRAP (Feric Reducing Antioxidant Power). A faible pH et à 37 °C, le complexe tripyridyletriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) est ajouté à la solution d'extrait. Les antioxydants présents réduisent le complexe en sa forme ferreux (TPTZ-Fe²⁺) (Benzie *et al.*, 1996) .

Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (2,5 %) est mélangé avec 0,75 ml de la solution de FRAP [25 ml de tampon acétate de sodium (300 mM, pH 3,6) ; 2,5 ml TPTZ (10 mM dissoute dans 40 mM de HCl) ; 2,5 ml de la solution de chlorure de fer (FeCl₃, 6 H₂O) (20 mM)]. Après 5 min, l'absorbance est lue à 593 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100g) (annexe II, figure 7).

3. 2. 4. Pouvoir chélateur du fer (test avec la ferrozine)

La capacité chélatrice des miels est déterminée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe²⁺-ferrozine après leur incubation avec le fer divalent. Les molécules de la ferrozine forment des complexes avec le Fe²⁺ donnant une coloration violette foncée. Cependant, en présence d'autres agents chélateurs, la formation de ces complexes est atténuée donc l'intensité de la couleur diminue. La mesure de la réduction de la couleur permet l'estimation de la capacité chélatrice des agents chélateurs coexistants (Ebrahimzadeh *et al.*, 2007). Le pouvoir chélateur du fer est déterminé suivant la méthode de Dastmalchi *et al.* (2008). Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (2,5 %) est additionné de 1,5 ml d'eau distillée et 0,1 ml de dichlorure de fer (FeCl₂, 2 mM). Après 5 min ; 0,2 ml de la solution de ferrozine (5 mM) y sont ajoutés. La lecture se fait après 10 min à 562 nm et l'effet séquestrant des échantillons de miel vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

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

Abs_t : absorbance de témoin.

Abs_e : absorbance de l'échantillon.

3. 2. 5. Activités antiradicalaire

3. 2. 5. 1. Par l'ABTS

La méthode utilisant le radical ABTS se base sur la capacité d'un radical cationique $ABTS^{+\bullet}$ (2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique) de coloration bleu-verte en se transformant en ABTS incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (Figure 02). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (Re *et al.*, 1999).

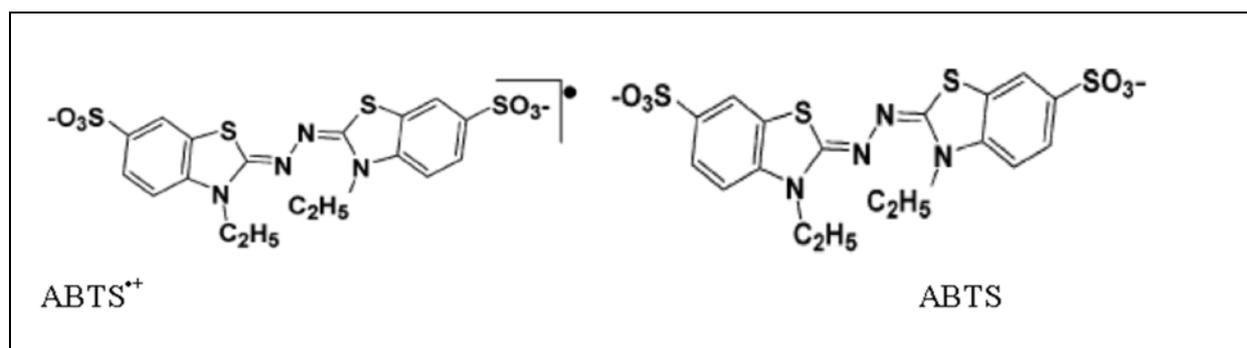


Figure 02: Forme oxydée et réduite de l'ABTS (Huang *et al.*, 2005).

Un volume de 500 μ l de la solution de miel (2,5 %) est ajouté à 1 ml de la solution éthanolique d'ABTS (7 mM). L'absorbance du mélange est lue après 7 min à 734 nm.

L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_C - \text{Abs}_E}{\text{Abs}_C} \right] \times 100$$

Abs_C : Absorbance de contrôle.

Abs_E : Absorbance de l'échantillon.

3. 2. 5. 2 Par le DPPH

L'activité antiradicalaire est estimée en utilisant le DPPH (2,2 Diphenyl -1-PycrylHydrazyl), qui est un radical libre, stable, de couleur violette intense due à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette à 517 nm. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton qui se fixe avec le DPPH d'où la diminution de l'intensité de la couleur (figure 03) (Gulcin *et al.*, 2003).

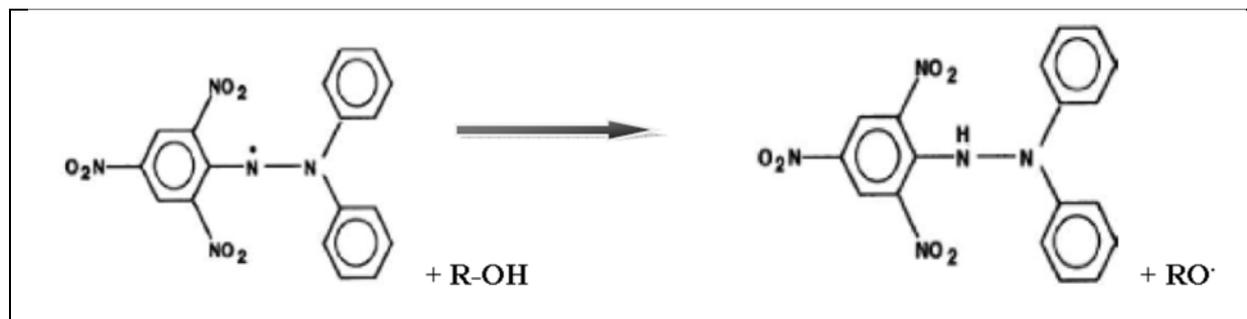


Figure03: Structure du DPPH (Molyneux, 2004).

Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (2,5 %) est additionné avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,0236 mg/ml). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15 min avant de lire l'absorbance à 517 nm.

La variation d'absorbance entre la solution de DPPH en présence et en absence de l'échantillon de miel reflète le potentiel des composés assurant cette activité à réduire le DPPH.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage de réduction selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \frac{(\text{Abs}_t - \text{Abs}_e)}{\text{Abs}_t} \times 100$$

Abs_t : Absorbance du témoin.

Abs_e : Absorbance de l'échantillon (absorbance de la solution du DPPH en présence de l'échantillon).

4. Analyses statistiques

Les paramètres de la statistique descriptive (moyennes et écartypes) sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. La majorité des données obtenues sont la moyenne de trois essais à l'exception de la teneur en HMF et certaines méthodes antioxydantes (FRAP, phosphomolybdate et activité antiradicalaire avec l'ABTS, 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. Les valeurs obtenues portant la même lettre ne présentent aucune différence du point de vue statistique et les barres verticales représentent les écartypes.

CHAPITRE II :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques

1.1 Humidité

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré de maturité du miel et elle conditionne de sa conservation (Silvano *et al.*, 2014). Selon Escriche *et al.* (2009), une teneur en eau très élevée peut conduire à la fermentation du miel.

Les échantillons de miel analysés (figure 04) présentent des teneurs en eau qui varient de 14,95 (M20) pour le miel d'Adekar (Béjaia) à 22,27 % (M8) pour le miel de Bourdj bouarreridj, avec une moyenne de $17,64 \pm 0,43$ %. Les valeurs obtenues sont différentes des résultats rapportés par Belay *et al.* (2013) (15,87 à 19,35 %) sur les miels d'Ethiopie et Escuredo *et al.* (2013) (16,9 à 18 %).

La norme Codex Alimentarius (1993) fixe une teneur en eau maximale à 20 %. Cependant, les miels M8, M15 et M10 ont eu une humidité supérieure à la norme.

Les miels dont le taux d'humidité est supérieur à 18 % présentent des risques de fermentation dus aux levures présentes dans le miel. Il en existe six : M6, M1, M13, M15, M10, M8

Les teneurs en eau élevés pourraient s'expliqués par :

- ✓ une récolte trop précoce de ces miels, c'est-à-dire avant la maturation (Mbogning *et al.*, 2011);
- ✓ l'hygroscopicité du miel ;
- ✓ les conditions dans lesquelles le miel est élaboré, récolté et conservé ;
- ✓ la période de récolte de ces échantillons de miels. Gonnet (1993) a rapporté qu'une humidité relativement élevée pendant la récolte conduit à une déshumidification difficile du nectar par l'abeille, donc production d'un miel riche en eau, instable sur le plan physique et biologique et susceptible de se dégrader rapidement.

L'échantillon M20 se conserve mieux car il est moins riche en eau (14,94 %). En effet, Gonnet (1982) a rapporté qu'en dessous de 15 % d'eau, la fermentation n'intervient jamais. Sa faible teneur en eau peut être due au climat qui règne dans la région de récolte et à l'origine botanique.

La variation d'humidité des miels analysés peut être due à la teneur en eau des plantes butinées par les abeilles ouvrières, à la force des colonies d'abeilles, à l'origine florale (nectar et /ou du miellat), au climat et aux compétences de l'apiculteur (Ouchemoukh, 2012).

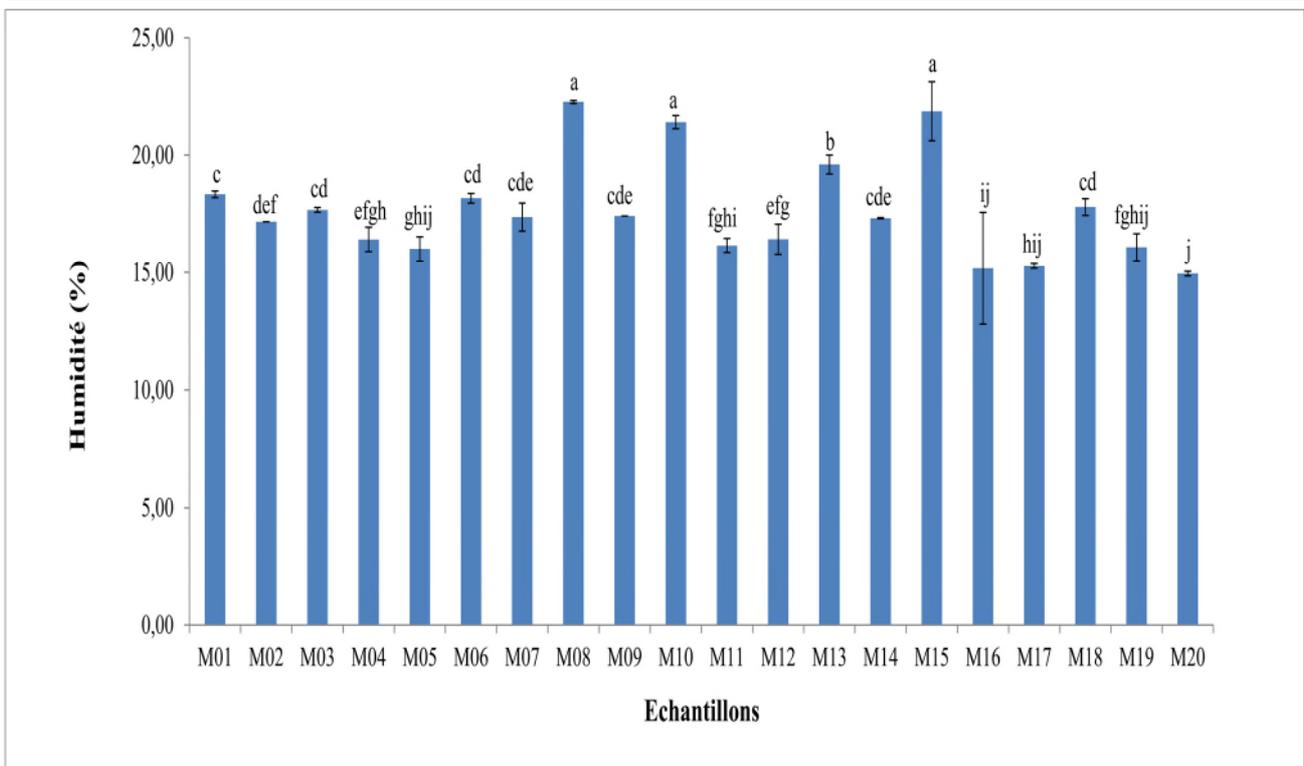


Figure 04 : Teneurs en eau des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

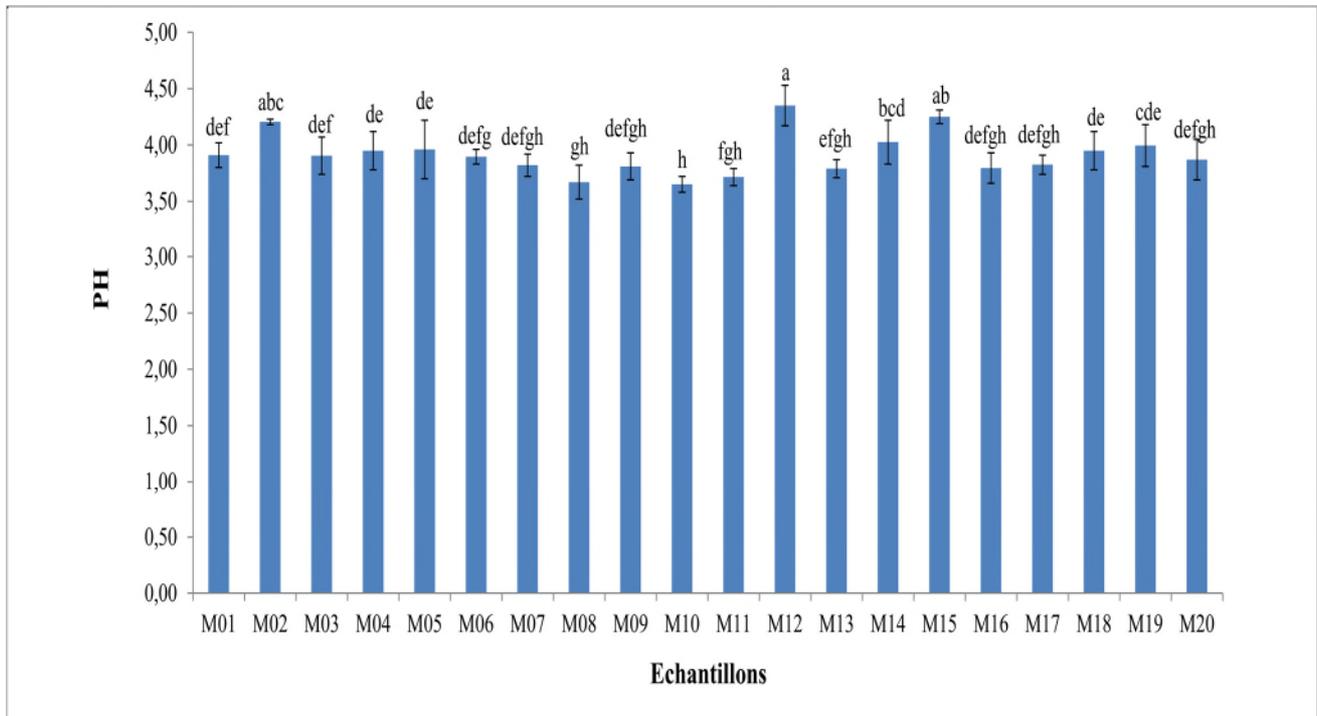


Figure 05 : pH des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

1.2 pH

Le pH est un paramètre très important à déterminer, il influence sur la stabilité du miel, ses conditions de conservation et donne également des informations sur son origine (Accorti *et al.*, 1986). L'acidité du miel est due à un grand nombre d'acides organiques qu'il contient, l'acide principal est l'acide gluconique (Mbogning *et al.*, 2011) La plupart d'entre eux proviennent des sécrétions des abeilles pendant l'élaboration du miel (Apar, 2002).

Les résultats obtenus (figure 05) oscillent entre 3,65 (M10) pour le miel de Ath yanni (Tizi Ouzou) et 4,35 (M12) pour le miel de Tighremt (Béjaia), avec une moyenne de $3,92 \pm 0,13$. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Silva *et al.*, (2009) (3,45 à 4,70) pour les miels Portugais ; Serem *et al.* (2012) (3,87 à 5,12) pour les miels d'Afrique du sud ; Ouchemoukh (2012) (3,45 et 4,38) pour les échantillons de miels Algériens et Özcan et Ölmez (2014) (3,61 à 4,67) pour les miels de la Turquie.

Bien que les miels M4 et M18 sont de deux régions différentes, ils présentent le même pH ($p < 0,05$).

Le pH 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 (Belay *et al.*, 2013). Par conséquent les miels analysés sont des miels de nectar.

1.3 Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique permet de différencier les miels de miellat des miels de fleurs. Les premiers possèdent une conductibilité bien plus élevée (supérieure à 0,8 mS/cm) que les seconds (inférieure à 0,8 mS/cm (Belay *et al.*, 2013).

Les résultats obtenus pour les échantillons de miels analysés (figure 06) varient entre 0,29 mS/cm et 1,78 mS/cm avec une moyenne de $0,94 \pm 0,01$ mS/cm. Cette valeur moyenne est supérieure à celle des miels Italiens obtenue par Fallico *et al.* (2008) (0,33 mS/cm). Les valeurs obtenues sont incluses dans l'intervalle de valeurs rapportées par Pasini *et al.* (2013) (0,33 à 1,86) et celles obtenus par Belay *et al.* (2013) pour les miels de Madrid (0,119 à 1,515 mS / cm).

La conductivité électrique des échantillons M5, M17, M13, M19, M16, M7, M8, M15, M6, M3, M12, M2 et M1 dépassent 0,8 mS / cm, ce qui suggère la présence de miellat dans les miels cités et le reste des échantillons sont des miels de nectar .

Les miels M8 d'Adekar (Béjaia) et M16 de Bouhdjer (El-Taref) issus de différentes régions possèdent la même conductivité ($p < 0,05$) qui est de 0,92 mS / cm.

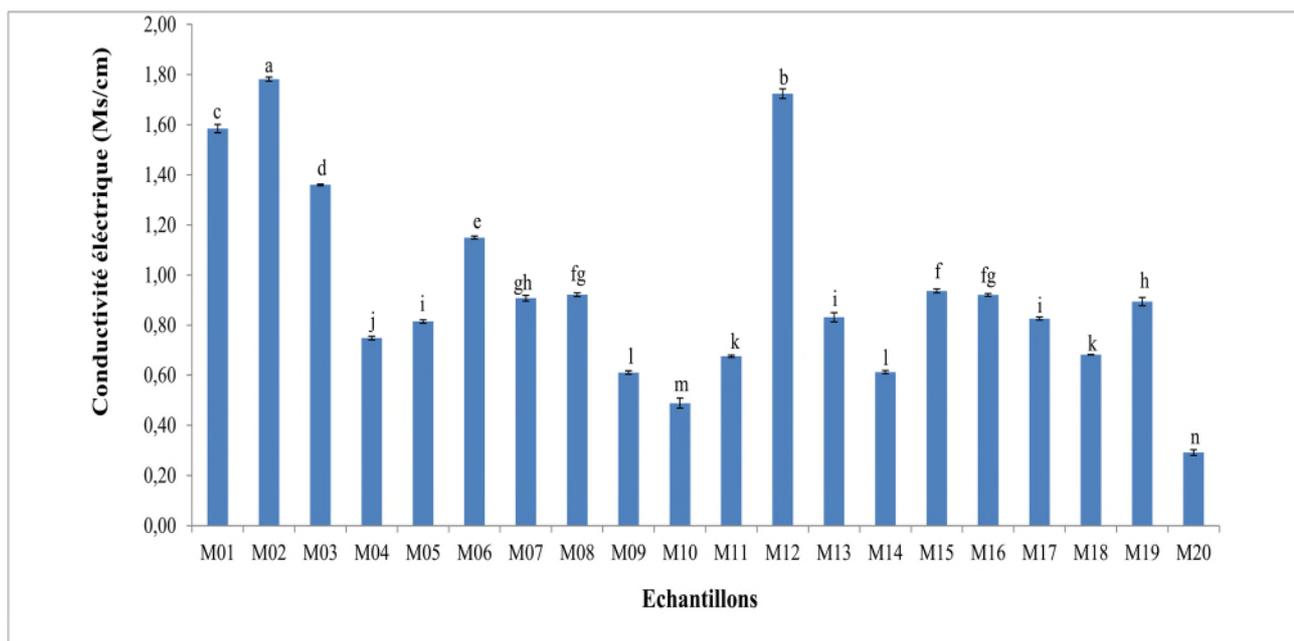


Figure 06 : Conductivité électrique des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

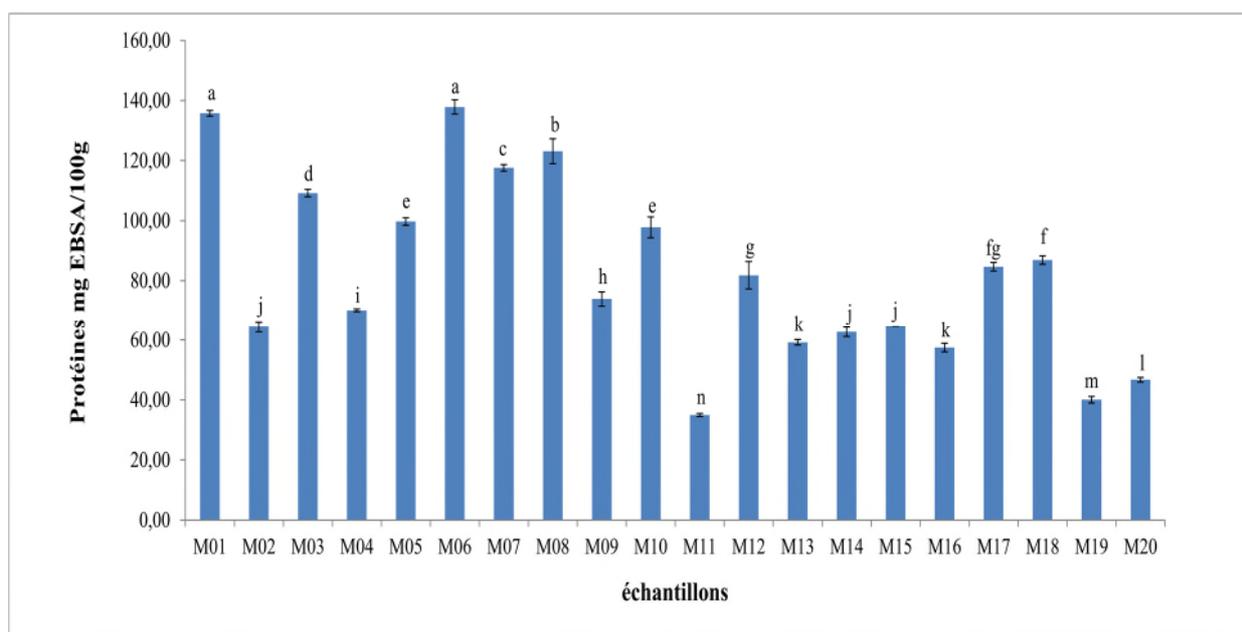


Figure 07 : Teneurs en protéines des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

La conductivité électrique dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel. En effet, plus ces deux paramètres sont élevées et plus la conductivité correspondante est élevée (Piazza *et al.*, 1991).

Sur la base de l'équation suivante : $C = 0,14 + 1,74 A$ [C (mS/cm) et A (mg/ 100g)], les teneurs en cendres de miels varient de 0,17 à 1,02 % avec une moyenne de $0,54 \pm 0,005$ %. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Ouchemoukh (2012) (0,04 à 0,43 %) et Soria *et al.* (2004) (0,003 à 0,99 %).

La variation de la teneur en cendres dépend de l'origine botanique, de la saison et de la composition minérale du sol (Belay *et al.*, 2013). Les miels de saison sèche sont plus concentrés en minéraux que ceux de saison de pluie. En saison sèche, le sol est plus concentré en éléments solubles disponibles aux plantes butinées (Mbogning *et al.*, 2011).

1.4 Protéines

Les protéines du miel proviennent du nectar, des sécrétions d'abeilles ou des grains de pollen (Won *et al.*, 2008). White (1962) a rapporté que les miels convenablement récoltés sont pauvres ou très pauvres en protéines.

Les miels analysés présentent des teneurs en protéines allant de 34,99 à 137,82 mg EBSA / 100 g avec une moyenne de $82,42 \pm 1,65$ mg EBSA /100 g (figure 07). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Yucelne et Sultanoglu (2013) pour les miels de Hatay (13 à 115 mg EBSA / 100 g) et distincts de ceux rapportés par d'Özcan et Ölmez (2014) pour les miels de Turquie (60 à 106 mg EBSA / 100 g).

Le miel M06 de Barbacha (Béjaia) est le plus riche en protéines et sa teneur présente une différence significative par rapport à celles des autres échantillons de miel. Ceci peut être expliqué par la présence d'une concentration élevée du pollen dans ce miel et à l'origine botanique.

Selon les teneurs en protéines, les miels analysés sont classés par ordre décroissant : $M6 = M1 > M8 > M7 > M3 > M5 = M10 > M18 \geq M17 \geq M12 > M9 > M4 > M15 = M2 = M14 > M13 = M16 > M20 > M19 > M11$ ($p < 0,05$).

Gonnet (1985) a rapporté que lors de l'extraction manuelle par pression des gâteaux de cire, quelques larves d'abeilles ainsi que des pollens sont très souvent écrasés, augmentant ainsi la concentration des protéines dans ce miel.

La variation de la composition en protéines dans les miels analysés peut être expliquée par la variation de la quantité de pollens, à l'origine florale et de la force des colonies d'abeilles.

1.5 Proline

L'acide aminé proline est un paramètre biochimique très important dans l'évaluation de la maturité du miel ainsi que la détermination de son authenticité (Guler *et al.*, 2007). La proline découle principalement des sécrétions salivaires des abeilles ouvrières lors de la transformation du nectar et/ou du miellat en miel, et tire son origine du pollen (Ouchemoukh, 2012).

Les échantillons de miels analysés présentent des taux de proline qui varient de 731,27 (M11) à 3730,90 mg/kg (M3) avec une moyenne de $2139,98 \pm 51,26$ mg/kg (figure 08). Ces taux sont largement supérieurs à 180 mg/kg limite minimale proposée par Bogdanov *et al.* (1999). Ces résultats indiquent la maturité des miels analysés et l'absence d'adultération. La moyenne obtenue est supérieure à celle rapportée par Meda *et al.* (2005) sur les miels de Burkina- Faso ($910 \pm 267,9$ mg/kg), et elle est similaire à celle trouvée par Khalil *et al.* (2012) sur les miels Algériens ($2131,47 \pm 0,90$ mg/kg).

Les variations des teneurs en proline peuvent être attribuées à la force des colonies des abeilles (Anklam, 1998 ; Hermosin *et al.*, 2003).

1.6 Couleur

La couleur est un critère très important pour la classification des miels dont elle reflète leurs origines florales (Juszczak *et al.*, 2009). L'intensité de la couleur est liée à la présence de pigments, tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes, qui sont connus pour avoir des propriétés antioxydantes (Khalil *et al.*, 2012).

La couleur des échantillons analysés varie de jaune mimosa au marron foncé. Les résultats obtenus présentent des variations significatives allant de 0,250 (M11) à 1,778 (M3) avec une moyenne de $0,930 \pm 0,008$ (figure 09).

Une forte variabilité de la couleur des miels en fonction de leur origine florale est mise en évidence (Crane, 1990). La couleur foncée des miels M3, M6 et M1 est probablement due à la diversité de la végétation des régions de Tavel, Barbacha et tizi adjissa, respectivement, subséquemment une forte variabilité de leur composition chimique. Plus un miel est de couleur foncée, plus sa teneur en phénols totaux, en minéraux et en acides est élevée (Ouchemoukh *et al.*, 2010). En effet, la couleur des miels étudiés présente une corrélation très hautement significative avec la conductivité électrique ($r = 0,54$), ainsi, cette conductivité électrique est en corrélation très hautement significative avec le pH ($r = 0,47$) (annexe III). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de Corbella et Cozzolino (2006); et celui de Ouchemoukh (2012).

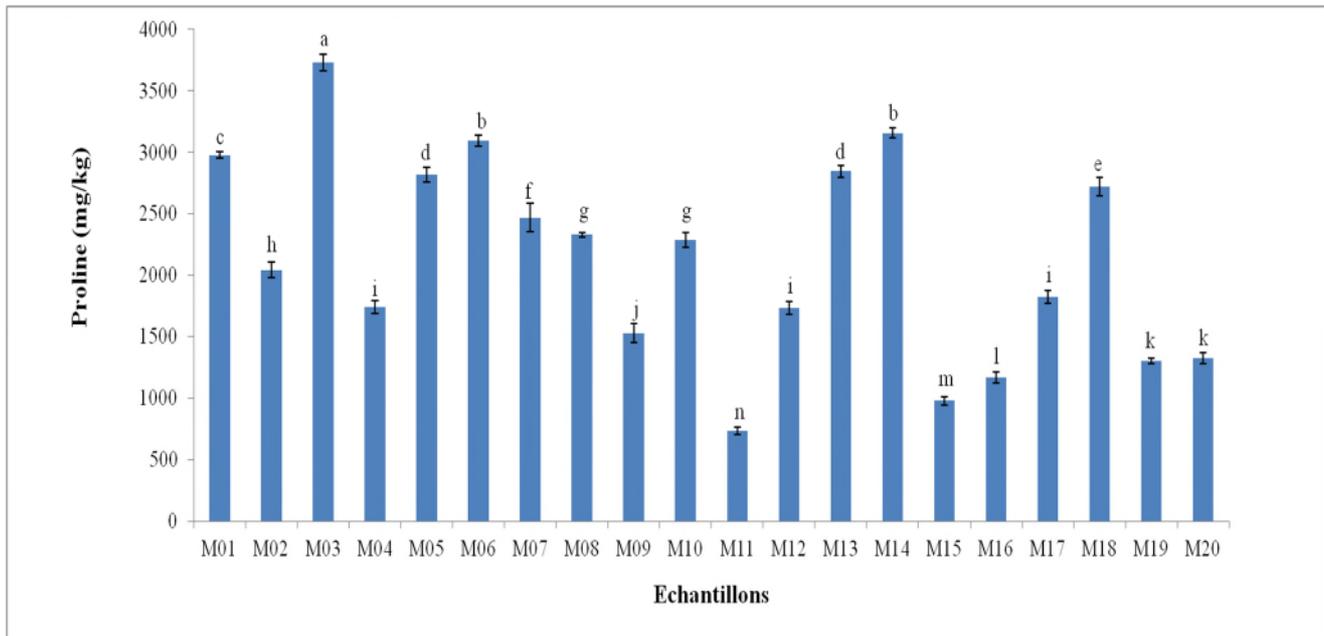


Figure 08 : Teneurs en proline des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

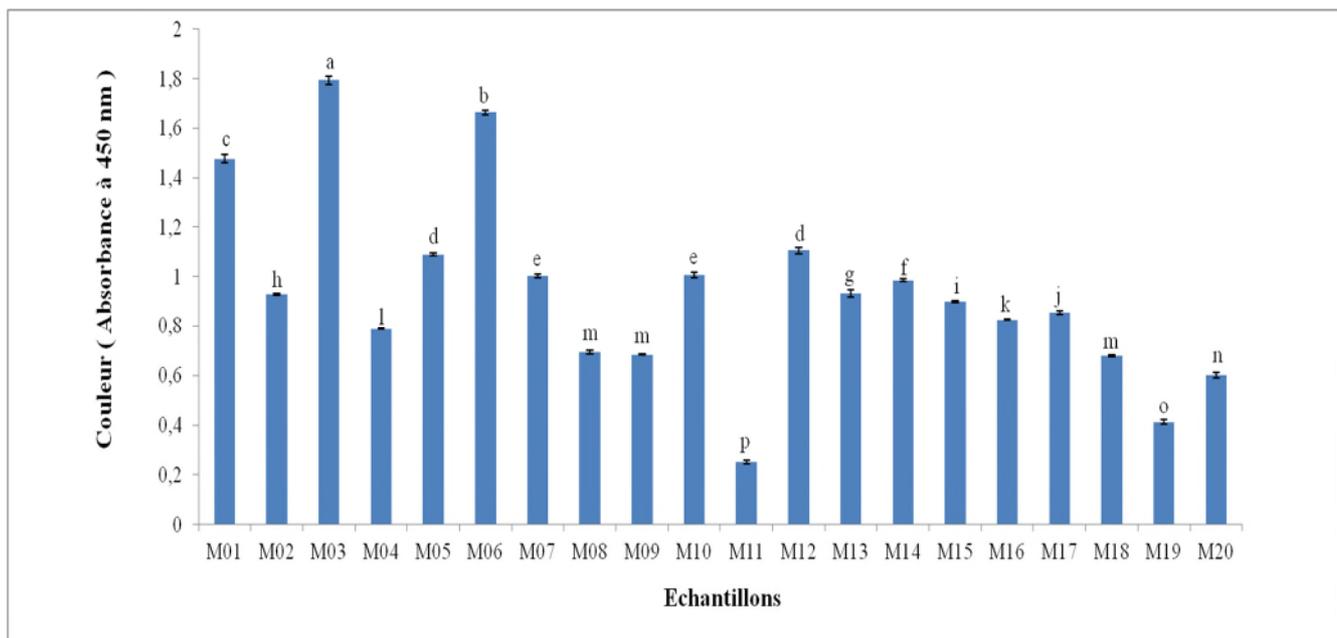


Figure 09 : Couleur des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

La couleur du miel est influencée par les composés phénoliques et en particulier les flavonoïdes impliqués dans les phénomènes de brunissement (Amiot *et al.*, 1989). En outre, la couleur présente une corrélation très hautement significative avec les composés phénoliques totaux ($r = 0,79$) et les flavonoïdes ($r = 0,76$).

1.7 Pouvoir rotatoire

En général, les miels de miellat sont dextrogyres ; ceux du nectar sont lévogyres (Ouchemoukh, 2012). Tous les miels analysés sont lévogyres, sauf le miel M12 qui est dextrogyre (6,46). Les résultats du pouvoir rotatoire des autres échantillons de miels (14) varient de -18,46 (M5) à -2,07 (M2) avec une moyenne de $-6,42 \pm 0,25$ (tableau II).

Tableau II : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillon	Pouvoir rotatoire	échantillon	Pouvoir rotatoire	échantillon	Pouvoir rotatoire
M1	$-9,23 \pm 0,04$	M6	$-9,49 \pm 0,35$	M12	$+6,46 \pm 0,32$
M2	$-2,07 \pm 0,24$	M8	$-5,46 \pm 0,20$	M13	$-6,26 \pm 0,11$
M3	$-4,25 \pm 0,16$	M9	$-6,30 \pm 0,55$	M17	$-5,70 \pm 0,27$
M4	$-3,34 \pm 0,22$	M10	$-3,91 \pm 0,33$	M18	$-6,83 \pm 0,15$
M5	$-18,46 \pm 0,76$	M11	$-4,49 \pm 0,04$	M20	$-4,10 \pm 0,10$

Pour un mélange contenant plusieurs substances actives dans un solvant inactif, le pouvoir rotatoire produit par ce mélange est égale à la somme algébrique des pouvoirs rotatoires correspondant aux diverses substances actives considérées isolément (Meda *et al.*, 2005).

Le miel de Tighremt (Béjaia) est dextrogyre et ceci peut être expliqué par sa teneur plus élevée en saccharose (dextrogyre) par rapport au fructose (lévogyre).

En présence d'eau, le saccharose (dextrogyre) s'hydrolyse en se transformant en glucose et en fructose. Cette réaction est catalysée par l'invertase naturellement présente dans le miel. Au cours de cette hydrolyse, il y a inversion du sens du plan de polarisation de la lumière polarisée car le fructose est lévogyre.

Le miel de Chemini (Béjaia) est très lévogyre par rapport aux autres miels. Ce résultat est peut être dû au rapport très élevé fructose/saccharose .

1.8 HMF

La durée de vie de miel est établie dans le monde selon la teneur en HMF, car elle offre aux consommateurs une garantie sur le miel acheté.

Le miel frais ne contient pas, ou ne contient que des traces de HMF. Ce dernier est un critère important pour l'évaluation du temps de stockage et de dommages causés par la chaleur (Belay *et al.*, 2013).

La teneur en HMF est un critère de qualité utilisé pour estimer le degré du vieillissement du miel ou du traitement thermique, car les hexoses contenus dans les miels se déshydratent et se transforment en HMF sous l'effet du stockage et/ou de la chaleur. Son taux ne doit pas dépasser, en général, 40 mg/kg (Ouchemoukh, 2012).

La teneur en HMF des différents miels analysés varie de 1,5 (M7) pour le miel de Bouaiche (Béjaia) à 34,73 mg /kg (M8) pour le miel d'Adekar (Béjaia) (figure 10) avec une moyenne de $11,25 \pm 0,45$ mg/kg. Ces résultats rentrent dans l'intervalle obtenu par Özcani et Ölmez (2014) (0,38 mg / kg à 42 mg / kg) et Vit *et al.* (2009) (3,70 à 389,36 mg / kg). Néanmoins, ils sont distincts de ceux rapportés par Belay *et al.* (2013) (0,00 à 1,71 mg / kg).

Les résultats obtenus montrent la bonne qualité des miels étudiés et ils sont conformes à la réglementation internationale.

2 Antioxydants

2.1 Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols est estimée par le protocole utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage colorimétrique reste une méthode de routine pour la détermination de la concentration des polyphénols totaux malgré le fait qu'il présente une faible spécificité (Ouchemoukh, 2012 ; Silva *et al.*, 2013).

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées varient de 22,41 (M11) à 96,16 mg EAG/100 g (M15) (Figure 11) avec une moyenne de $60,61 \pm 2,16$ mg EAG/100 g. Les résultats obtenus rentrent dans l'intervalle de valeurs rapportés par Silici *et al.* (2010) sur les miels de la Turquie (0,24 à 141,83 mg EAG/100 g) et de Habib *et al.* (2014) sur les miels orientaux ($30,81$ à $132,60 \pm 1,94$ mg EAG/100 g). Ils sont supérieurs à ceux obtenus par Lachman *et al.* (2010) pour 40 échantillons de miels tchèques (8,36 à 24,25mg EAG/100 g).

Les miels M1 Idjissen (Béjaia) et M15 Ilmaten (Béjaia), récoltés dans différentes régions, sont les plus riches en polyphénols, et leur taux présente une différence significative par rapport à celui des autres miels (95,87 et 96,73 mg EAG /100 g, respectivement). Néanmoins, le miel M11 enregistre la teneur la moins élevée en composés phénoliques (22,41 mg EAG /100 g).

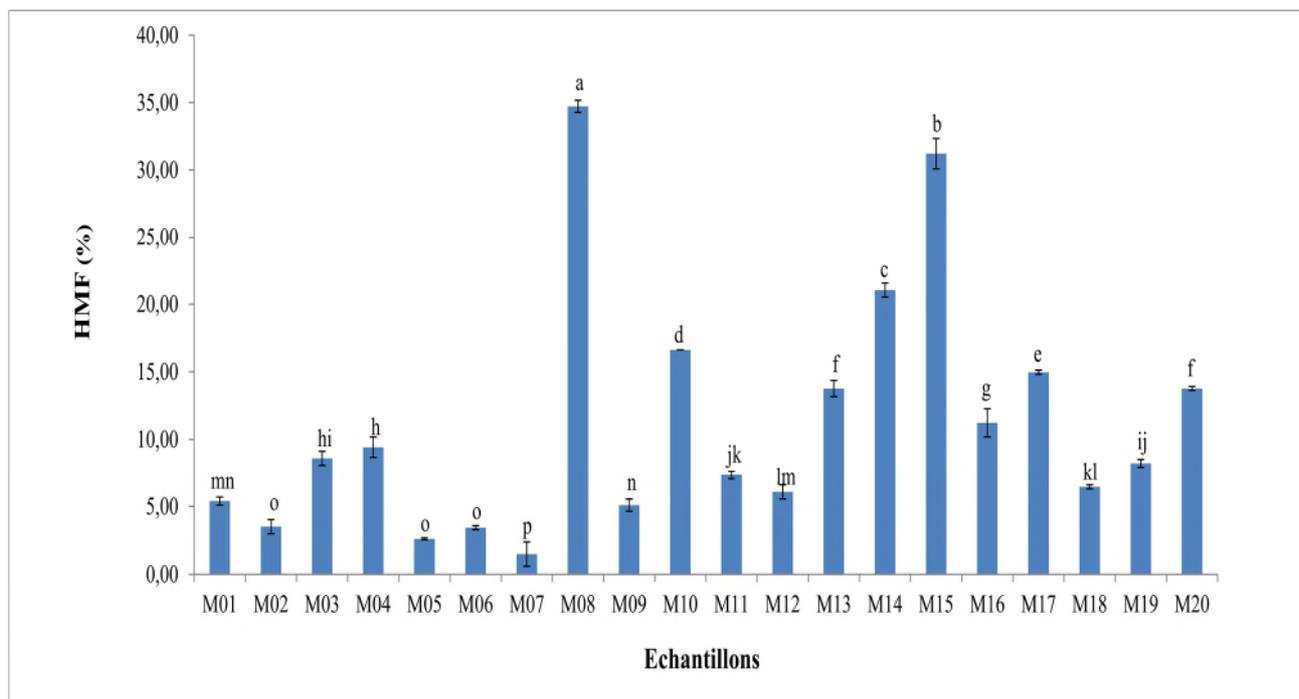


Figure 10 : Teneurs en HMF des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n = 2). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

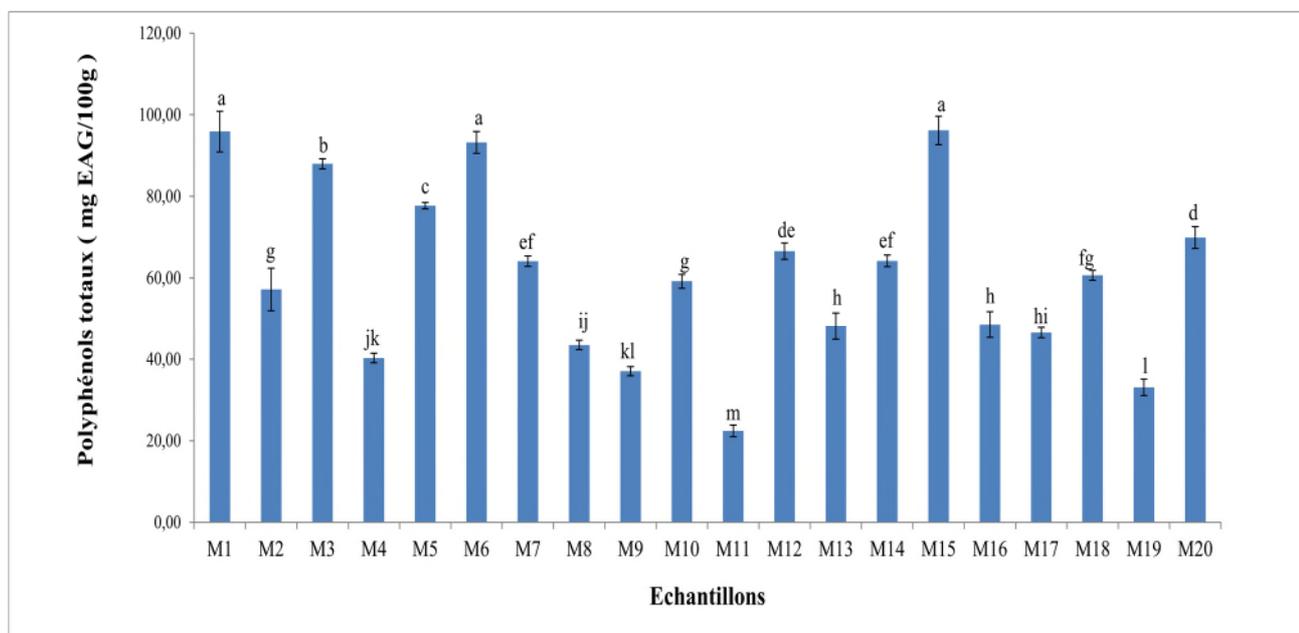


Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

Les échantillons de miels M13 (Timezrit) et M6 (Barbacha) ne sont pas de la même région, mais ils contiennent la même proportion en polyphénols totaux ($p < 0,05$).

La variation de la teneur en composés phénoliques totaux du miel est due à l'origine botanique. En effet, la principale source de polyphénols apportés par l'abeille provient des nectaires et des sécrétions végétales (Cimpoiou *et al.*, 2013). L'année de la récolte et l'environnement de la ruche influencent également sur la concentration en composés phénoliques totaux (Aljadi et Kamaruddin, 2004). Selon Toor et Savage (2006), la température de conservation a un effet aussi sur ces composés. Un milieu chaud favorise l'augmentation de la teneur en polyphénols totaux qui résulte de l'augmentation du nombre de groupement hydroxyles libres, provenant des flavonoïdes glycosylés. Selon ces mêmes auteurs, ce milieu permet l'inactivation des polyphénols-oxydases (enzymes qui oxydent les polyphénols). Ceci n'est pas constaté dans la présente étude. En effet, les miels M16 et M17, récoltés dans des régions chaudes, El-taref et Guelma, respectivement sont moins riches en ces composés.

Généralement, le contenu des miels clairs en composés phénoliques est inférieur à celui des miels foncés (Jasicka-Misiak *et al.*, 2012), ce qui est confirmé par la présente étude car le miel de Assif el hammam (Béjaia) (M9) a une faible teneur en phénols totaux et une couleur jaune très claire, tandis que, les miels (M3) et (M6) ayant une couleur marron foncée sont riches en composés phénoliques totaux.

2.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités biologiques ; anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydantes (Cushnie et Lamb, 2005 ; Ghedira, 2005; Küçük *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2013).

Le taux des flavonoïdes des différents miels analysés est compris entre 8,90 (M11) miel de Tigzirt (Tizi-Ouzou) et 80,02 mg EQ/ 100 g (M3) miel de Tissa (Béjaia) (Figure 12) avec une moyenne de $43,14 \pm 1,66$ mg EQ/ 100 g. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Pichichero (2011) sur les miels Italiens ($6,73 \pm 0,34$ à $16,43 \pm 0,82$ mg EQ / 100 g), Ouchemoukh (2012) sur des miels Algériens (0,30 à 35,61 mg EQ / 100 g) et Habib *et al.* (2014) sur des miels orientaux ($12,76 \pm 0,74$ à $109,49 \pm 0,99$ mg CE/100 g).

Selon l'analyse de la variance, les miels analysés sont classés par l'ordre décroissant suivant :

$M3 = M15 > M10 = M1 > M6 \geq M16 \geq M7 \geq M5 > M12 > M14 = M13 = M4 \geq M18 \geq M17 \geq M2 \geq M20 \geq M8 > M19 = M9 > M11$ ($p < 0,05$) (figure 12).

La teneur en flavonoïdes des miels M3, M15 est la plus élevée qui présente une différence significative par rapport à celle des autres miels.

Les miels M4, M13, M14, M17 et M18 n'enregistrent pas de différence significative dans le taux en flavonoïdes même s'ils ont été récoltés dans différentes régions.

Les origines botanique et géographique et les conditions climatiques influencent sur la teneur en flavonoïdes. Le contenu en flavonoïdes est supérieur dans les miels de climats secs (Lachman *et al.*, 2010).

2.3 Orthodiphénols

Les échantillons de miels analysés enregistrent des taux en orthodiphénols allant de 0,004 (M11) à 0,593 mg EAG / 100 g (M3) (figure 13) avec une moyenne de $0,31 \pm 0,009$ mg EAG / 100 g.

Les miels M5, M15 et M1 ; M18 et M6 ; M20 et M19 et les miels M10, M12 et M14 ne présentent pas de différences significatives dans leurs concentrations en orthodiphénols malgré le fait qu'ils ont été récoltés dans différentes régions géographiques.

Les miels M9, M11 et M17 enregistrent la teneur la plus faible en orthodiphénols, 0,09 ; 0,07 et 0,004 mg EAG / 100 g respectivement.

3. Activités antioxydantes

3.1 Pouvoir antiradicalaire par DPPH

L'activité antiradicalaire, basée sur la réduction du radical DPPH, estime le taux de neutralisation du radical par les constituants des échantillons de miels. Elle est très utilisée du fait de sa rapidité et de sa reproductibilité (Gulcin *et al.*, 2003).

L'activité antiradicalaire des échantillons de miels analysés varie de 33,4 pour le miel (M11) à 94,50 % pour le miel (M15) (Figure 14) avec une moyenne de $58,19 \pm 1,07$ %. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Al *et al.* (2009) sur les miels de Roumanie (35,80 à 64,83 %).

Les miels M18, M12, M7 et M20, récoltés dans des régions différentes, possèdent la même activité antiradicalaire qui diffère significativement de celles des autres miels.

L'activité antioxydante d'un miel dépend de l'origine florale, de la structure, la teneur et la nature des composés phénoliques ainsi qu'à la présence d'autres composés non phénoliques (catalase, vitamines) (Loo *et al.*, 2008 ; Teixeira *et al.*, 2008 ; Ferreira *et al.*, 2009).

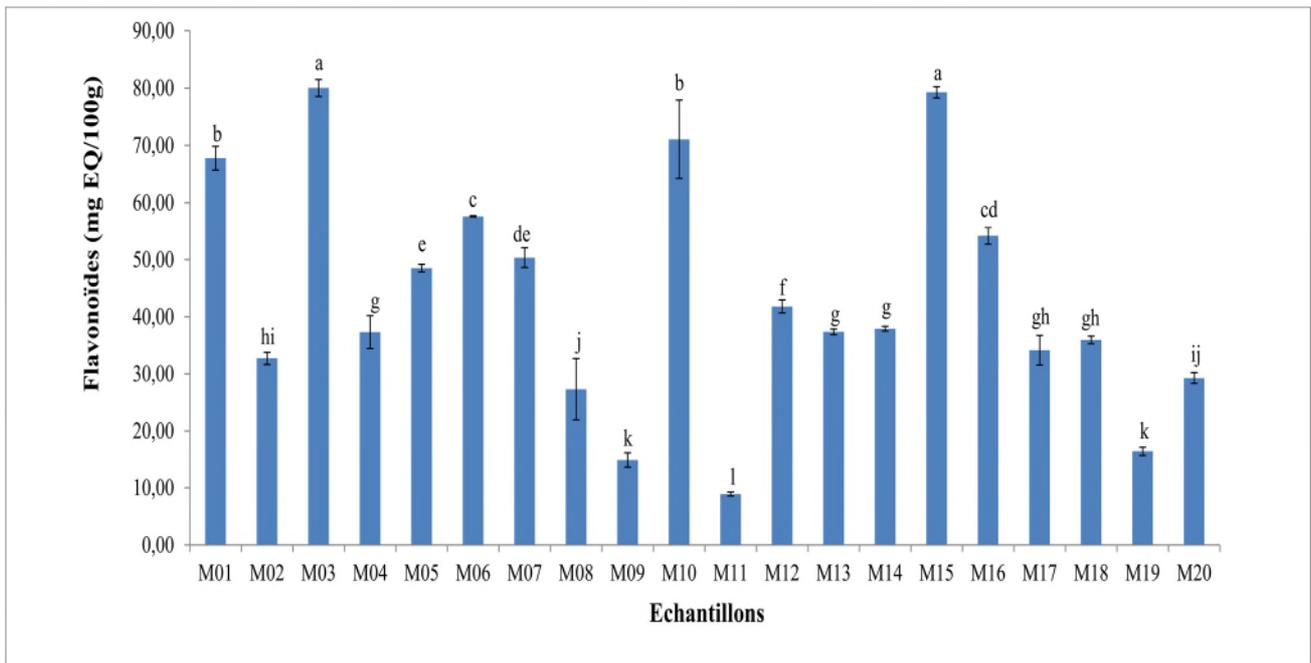


Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

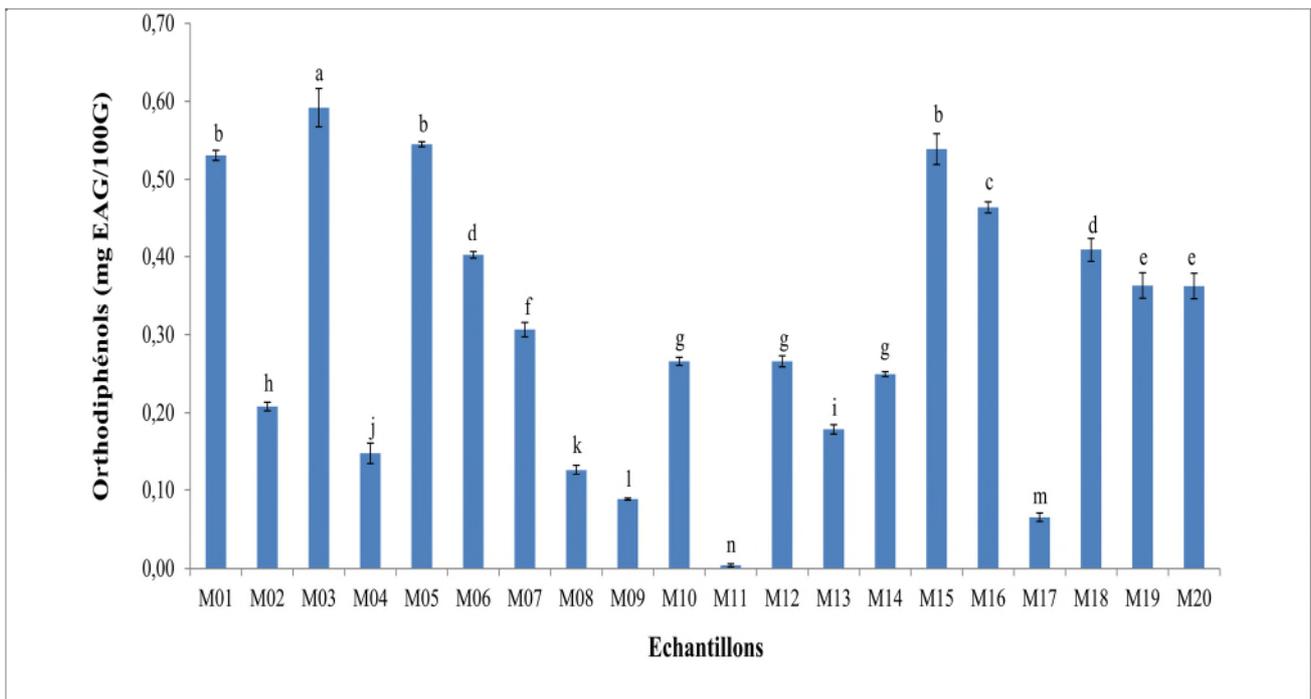


Figure 13 : Teneurs en orthodiphénols des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

3.2 Activité antiradicalaire par l'ABTS

Le radical ABTS est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules biologiques. Ce test consiste sur la capacité des substances antioxydantes existantes naturellement dans le miel de piéger le proton de l'ABTS⁺. L'activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miels analysés varie entre 44,52 (M11) et 97,95 % (M15) (Figure 15) avec une moyenne de $76,11 \pm 1,07$ % qui est similaire à celle obtenue par Wilczynska (2014) 79 % sur le miel monofloral de sarrasin. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Habib *et al.* (2014) sur les miels orientaux (65,25 à 80,62 %).

Les échantillons de miels M1, M18 et M6 ; M2, M7, M17 et M4 possèdent une activité antiradicalaire similaire même s'ils sont récoltés dans différentes régions géographiques.

Wilczynska (2014) rapporte que l'activité antioxydante est supérieure dans les miels sombres et c'est le cas du miel M15.

3.3 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur du miel repose sur sa capacité de céder un électron en réduisant ainsi le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺). Tous les miels analysés manifestent un pouvoir réducteur, qui oscille de 9,71(M8) à 358 (M12) mg EAG/ 100 g (Figure 16) avec une moyenne de $172,79 \pm 2,87$ mg EAG/ 100 g.

Les miels M2, M9 et M18 n'enregistrent pas de différence significative dans leur capacité réductrice ($P < 0,05$) même s'ils sont récoltés dans différentes régions géographiques. Ceci peut être expliqué par leur teneur similaire en polyphénols et flavonoïdes et/ou à d'autres agents réducteurs présents à faible concentration.

3.4 Réduction du molybdate

La réduction du molybdate est un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité antioxydante de miel, il se base sur la réduction du molybdène (MO_(VI)) en (MO_(V)) par les antioxydants présents naturellement dans le miel, ce qui engendre la formation d'un complexe vert (phosphate/MO_(V)) (Mcanalley *et al.*, 2003). Les résultats obtenus montrent que les miels analysés ont la capacité de réduire le molybdène, cette activité antioxydante varie de 17180,24 (M1) à 25591,69 (M15) mg EAA/ 100 g avec une moyenne (Figure 17) de $20030,10 \pm 272,82$ mg EAA/ 100 g.

Les miels M11 et M20 ; M8 et M12 n'enregistrent pas de différences significatives ceci est peut être dû à la similarité de leur taux en antioxydants.

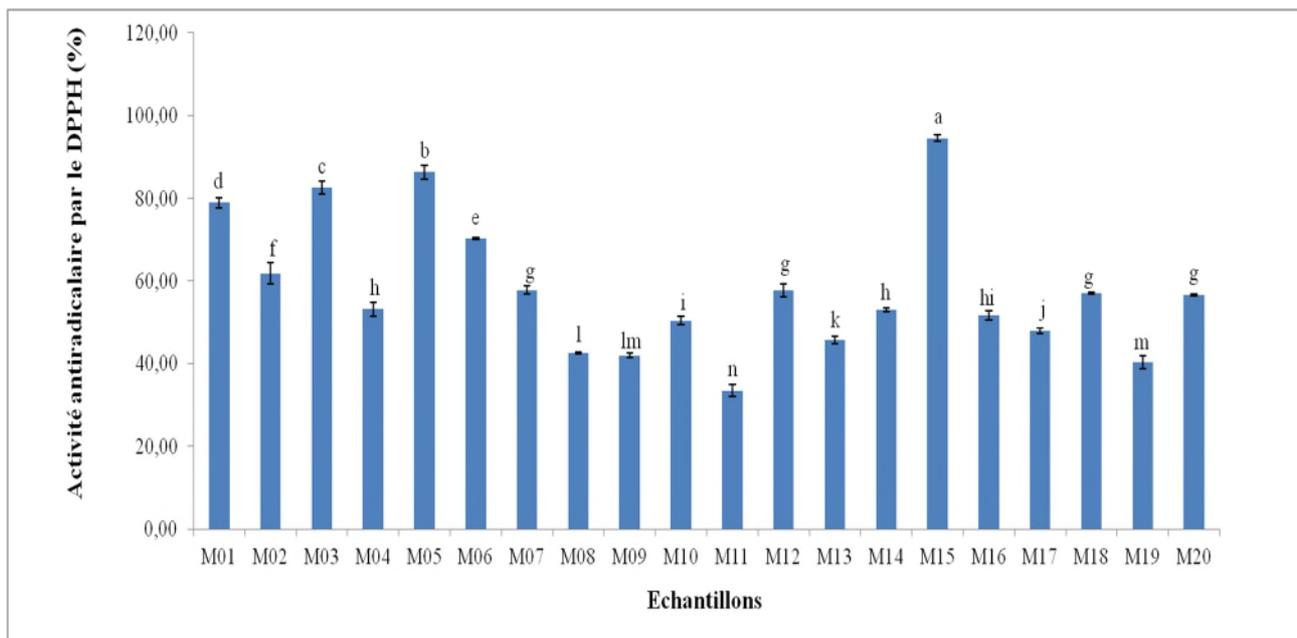


Figure 14 : Activité antiradicalaire par le DPPH des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

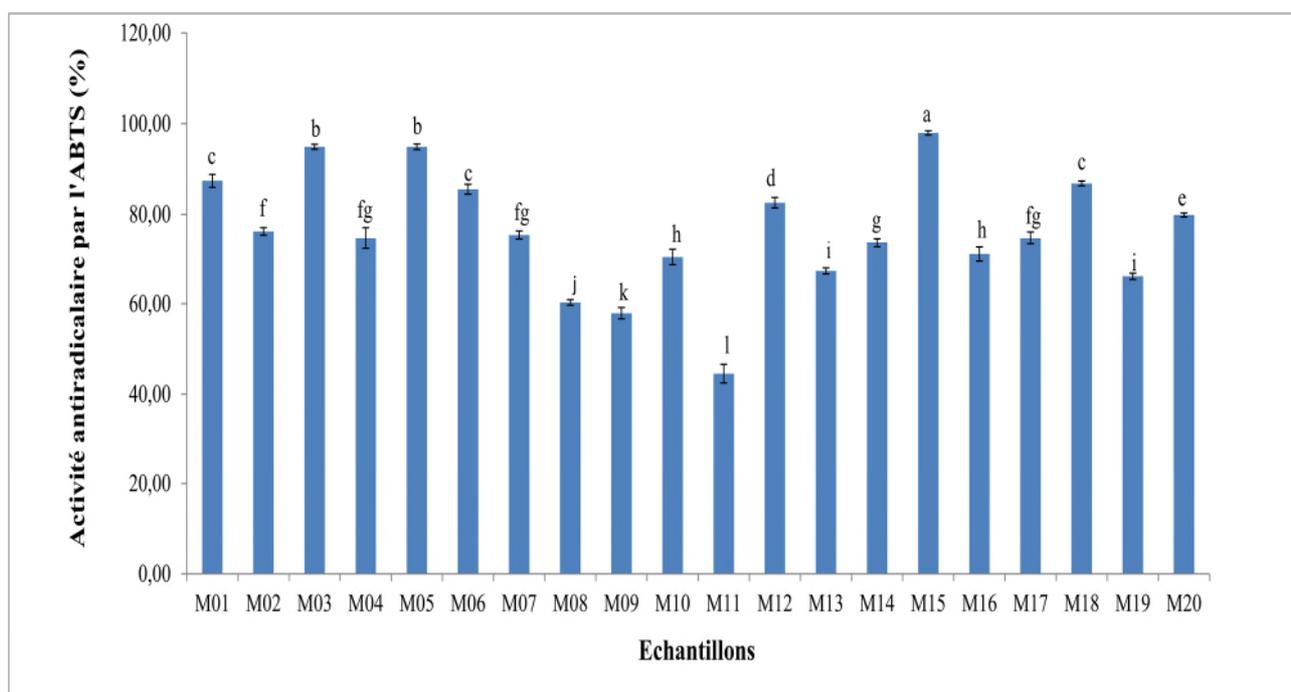


Figure 15 : Activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

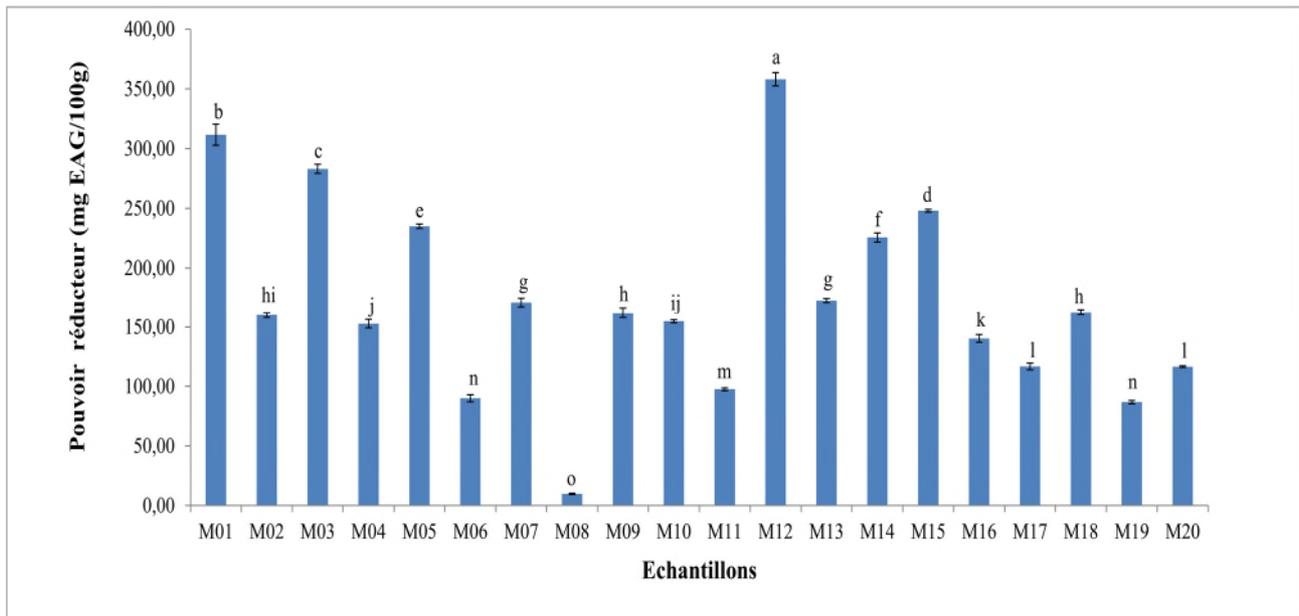


Figure 16 : Pouvoir réducteur des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

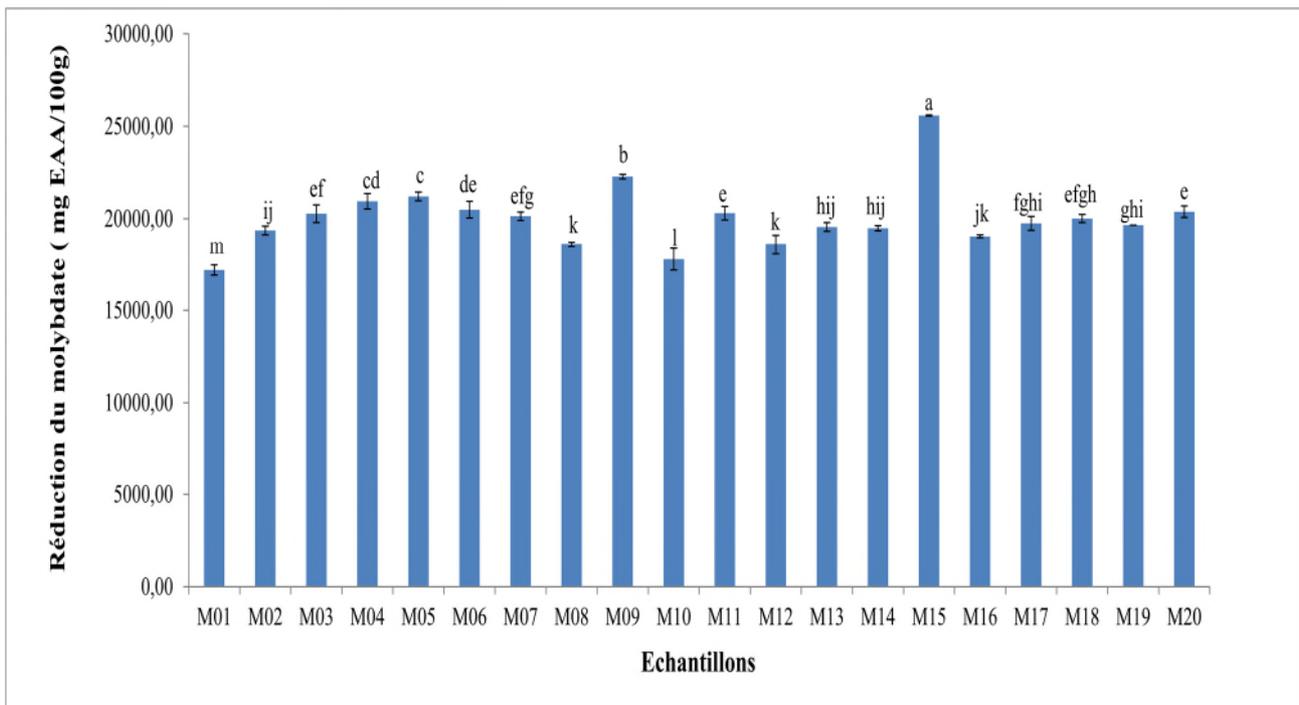


Figure 17 : Activité antiradicalaire par le phosphomolybdate des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

3.5 Pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)

Le test de FRAP a démontré une grande différence de profil de réduction des antioxydants des différents miels. Les résultats varient de 12,10 (M8) à 139,43 mg EAG/100 g (M15) (Figure 18) avec une moyenne de $42,84 \pm 0,41$ mg EAG/100 g. ils sont différent de ceux obtenus par Lachman *et al.* (2010) sur les miels tchèques (29,5 à 77,6 mg EAA/100 g).

Les échantillons de miels analysés sont classés en ordre décroissant selon leur pouvoir de réduction ferrique comme suit :

M15 > M1 > M18 > M17 > M12 > M20 > M5 = M6 > M14 > M16 > M3 > M13 > M7 > M2 > M19 > M4 > M10 > M11 \geq M9 \geq M8 ($p < 0,05$) (figure 19).

Les miels M5 et M6 ; M8, M9 et M11 n'enregistrent pas de différences significatives même s'ils sont récoltés dans différentes régions géographiques.

3.6 Pouvoir chélateur du fer

Le pouvoir chélateur de fer est un paramètre très important dans l'évaluation des propriétés antioxydantes des miels. Le miel entre en compétition avec la ferrozine, cette dernière forme des complexes avec le Fe^{2+} donnant une coloration violette foncée. La diminution de l'intensité de la couleur violette reflète la capacité chélatrice de miel.

Le miel a la capacité de chélater les métaux de transition, ceci empêche la catalyse de la décomposition d'hydroperoxyde et les réactions de type Fenton (Dstmalchi *et al.*, 2008).

Le pouvoir chélateur des échantillons de miel analysés oscille entre 3,17 (M1) et 77,28 % (M12) (Figure 19) avec une moyenne de $41,03 \pm 1,26$ %.

Les miels M11 et M17 ; M4, M8 et M2 ; M3 et M9 ; M16 et M10 ; M1 et M16 ; M15 et M20 ne présentent pas de différence significative, ceci peut être expliqué par leur teneur similaire en agent chélateur du fer.

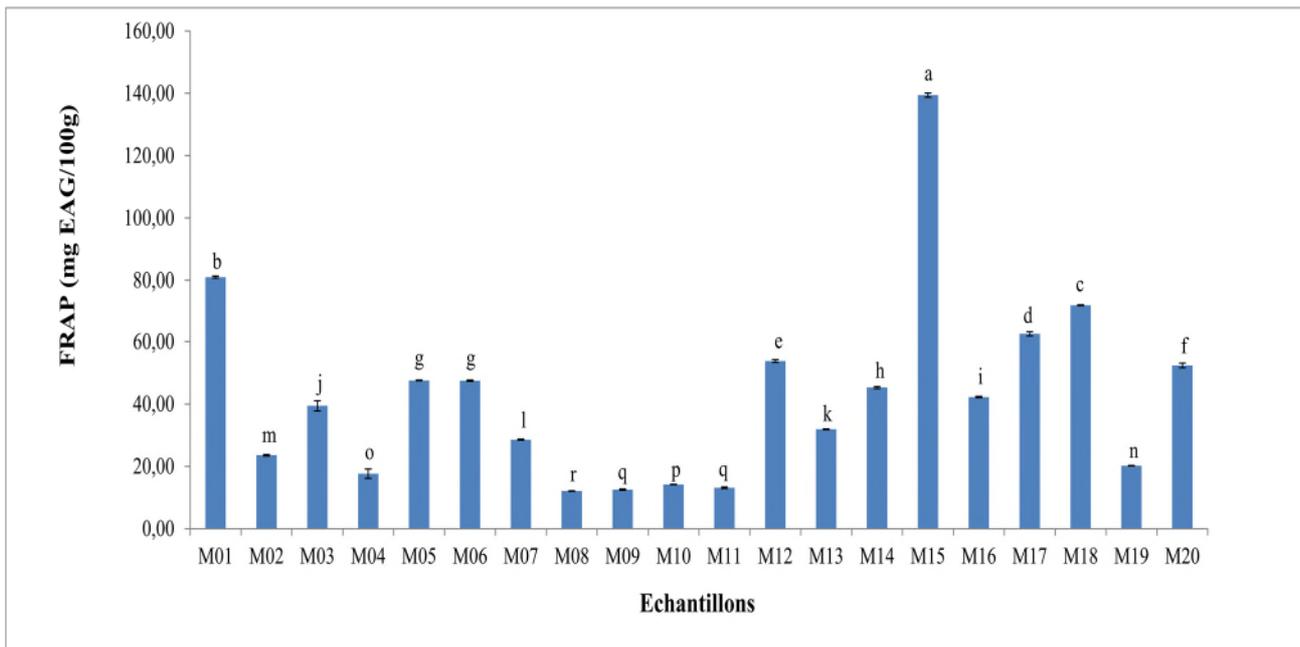


Figure 18 : Activité antiradicalaire par FRAP des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

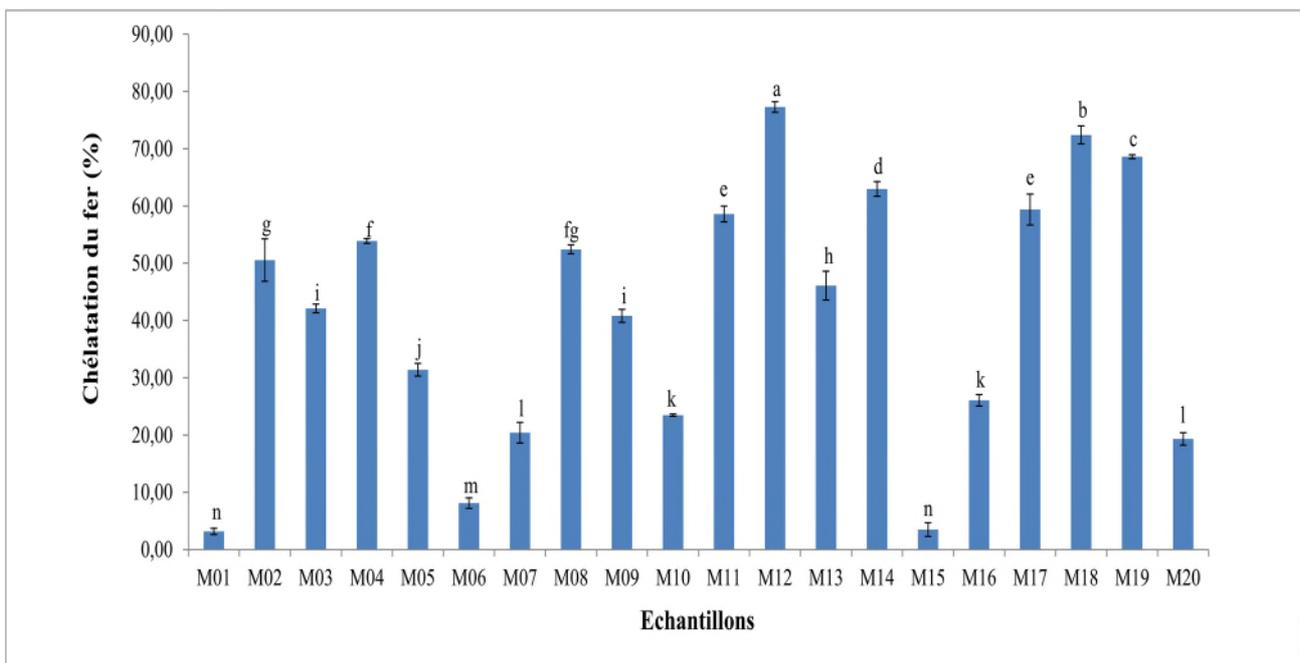


Figure 19 : Chélation du fer des échantillons de miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n= 3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

4. Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

La matrice de corrélation des échantillons de miels analysés indique une corrélation très hautement significative entre les teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes ($r = 0,80$) (Annexe III, figure 1). Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Al *et al.* (2009), Suarez *et al.* (2010) et Ouchemoukh (2012) avec des coefficients de corrélation de 0,84 ; 0,83 et 0,83, respectivement. Ainsi, une corrélation très hautement significative est révélée entre les teneurs en composés phénoliques totaux et les teneurs en orthodiphénols, les teneurs en flavonoïdes et les teneurs en orthodiphénols dont les coefficients de corrélations sont de 0,78 et 0,72, respectivement.

Les taux en antioxydants et les activités antioxydantes des échantillons de miels analysés présentent des corrélations très hautement significatives. En effet, les taux moyens en polyphénols, flavonoïdes et orthodiphénols sont les plus élevés dans les échantillons de miels M3, M5 et M15 qui correspondent aux régions, Tavel, Chemini et Ilmaten (Béjaia) et manifestent donc de meilleure activité antioxydante. Cependant, le miel M11 de Tizirt (Tizi-Ouzou) ne possède qu'une faible teneur en ces composés, donc une activité antioxydante minime.

Une corrélation très hautement significative existe entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels analysés dont les coefficients de corrélation sont de 0,87 ; 0,90 et 0,68 pour l'ABTS, le DPPH et FRAP, respectivement. Ces corrélations confirment les résultats de plusieurs auteurs dont Aljadi et Kamaruddin (2004), Bretta *et al.* (2005), ferreira *et al.* (2009), Lachman *et al.* (2010) et Ouchemoukh (2012) avec des coefficients de corrélations de 0,86 ; 0,92 ; 0,92 ; 0,95 ; 0,98 et 0,80, respectivement (Annexe III, figures 2 ; 3 et 4).

Également les teneurs en composés phénoliques totaux présente une corrélation très hautement significative avec le pouvoir réducteur ($r = 0,57$) (Annexe III, figure 5), confirmant ainsi les résultats de Fereirra *et al.* (2009) et Ouchemoukh (2012) dont les coefficients de corrélations sont de 0,84 et 0,73, respectivement.

Les teneurs en orthodiphénols des échantillons de miels analysés indiquent une corrélation très hautement significative avec l'activité antiradicalaire dont les coefficients de corrélation sont de 0,82 ; 0,81 et 0,57 pour l'ABTS, le DPPH et FRAP, respectivement. Ainsi qu'avec le pouvoir réducteur dont le coefficient de corrélation est de 0,49 (Annexe III, figures 6 ; 7 et 8).

Une corrélation très hautement significative est obtenue entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels analysés dont les coefficients de corrélation sont de 0,73 ; 0,78 et 0,53 qui correspondent à l'ABTS, le DPPH et FRAP,

respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Al *et al.* (2009) et Ouchemoukh (2012) avec des coefficients de corrélations de 0,91 et 0,71, respectivement (Annexe III, figures 9 ; 10 et 11).

Les taux en flavonoïdes des échantillons de miels analysés manifestent une corrélation très hautement significative avec le pouvoir réducteur dont le coefficient de corrélation est de 0,53 confirmant ainsi le résultat de Ouchemoukh (2012) (Annexe III, figure 12).

Le pouvoir réducteur présente une corrélation très hautement significative avec l'activité antiradicalaire dont les coefficients de corrélations sont de 0,60 ; 0,60 et 0,48 qui correspondent respectivement à l'ABTS, le DPPH et FRAP (Annexe III, figures 13 ; 14 et 15).

Les polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres et d'empêcher la génération de radicaux hydroxyles hautement réactifs, les coefficients de corrélations obtenus indiquent que les polyphénols contribuent à l'activité antioxydante du miel. Ghldof *et al.* (2002), Silici *et al.* (2010) et Wilczynska (2014) ont démontré aussi cette relation.

5. Corrélation paramètres biochimiques et propriétés antioxydantes

La couleur enregistre une corrélation très hautement significative avec l'activité antiradicalaire dont les coefficients de corrélations sont de 0,67 et 0,68 qui correspondent à l'ABTS et le DPPH, respectivement (Annexe III, figures 16 et 17). Également, ce paramètre est lié positivement au pouvoir réducteur dont le coefficient de corrélation est de 0,53 (Annexe III, figure 18).

Les taux des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des orthodiphénols présentent des corrélations très hautement significatives avec la couleur ayant des coefficients de corrélations de 0,79 ; 0,76 et 0,57, respectivement. Elles correspondent à celles obtenues par Isla *et al.* (2011), $r = 0,95$ et $r = 0,98$, respectivement (Annexe III, figures 19 ; 20 et 21). L'intensité de la couleur est liée à la présence de pigments, tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes qui sont connus pour avoir des propriétés antioxydantes (Khalil *et al.* 2012).

Nagai *et al.* (2006), Zalibera *et al.* (2008), Brudznski et Miotto (2011) et Ouchemoukh (2012) ont démontré que les miels de couleur intense ont des teneurs très élevées en composés phénoliques tandis que les miels de couleur claire n'en présentent que de faibles concentrations. En outre, ils ont obtenu de bonnes corrélations entre les trois paramètres suivants : couleur, taux des phénols totaux et activité antioxydante.

En général, plus un miel est de couleur foncée, plus sa composition chimique est riche et donc des propriétés biologiques importantes (Ouchemoukh, 2012). En outre, la couleur présente des corrélations très hautement significatives avec la teneur en protéine, le taux en proline et la

conductivité électrique dont les coefficients de corrélations sont de 0,73 ; 0,76 et 0,54, respectivement (Annexe III, figures 22 ; 23 et 24).

La conductivité électrique dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel (Piazza *et al.*, 1991). En effet la conductivité électrique présente une corrélation très hautement significative avec le pH ($r = 0,47$) (Annexe III, figure 25), ce dernier est en corrélation très hautement significative avec l'activité antiradicalaire ($r = 0,46$ pour ABTS et $r = 0,43$ pour FRAP mais pas avec le DPPH) (Annexe III, figures 26 et 27) et le pouvoir réducteur ($r = 0,51$) (Annexe III, figures 28).

La matrice de corrélation indique une corrélation très hautement significative entre les paramètres biochimiques et les activités antioxydantes des échantillons de miels analysés. Les échantillons de miels M3, M5 et M15 qui correspondent aux régions de Tavel, Chemini et Ilmaten (Béjaia) sont très riches en composés phénoliques, orthodiphénols, flavonoïdes, cendres, protéines et proline, donc ils manifestent une meilleure activité antioxydante. Cependant, le miel M11 de Tizirt (Tizi-Ouzou) n'en contient que de faibles concentrations, par conséquent, il manifeste une activité antioxydante mineure.

CONCLUSION

GÉNÉRALE

ET

PERSPECTIVES

Conclusion

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, ayant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

La présente étude a permis d'évaluer les critères de qualité de 20 échantillons de miel dont la majorité proviennent de la wilaya de Béjaïa et d'autres sont récoltés à Tizi-Ozou, El-taref, Guelma, Médéa, Sétif, Bourdj Bou arreridj. En se basant sur l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques, ainsi que certaines activités antioxydantes.

Les résultats physico-chimiques obtenus des miels analysés sont variables :

L'humidité des échantillons du miel varient de 14,95 à 22,27 % la plupart de ces miels présentent des teneurs en eau conformes à la limite maximale préconisée par la Commission Européenne (20 %) à l'exception de M6, M1, M13, M15, M10 et M8. Le pH est acide, il oscille entre 3,65 et 4,35. La conductivité électrique est comprise entre 0,29 et 1,78 mS/cm. Les teneurs en protéines et en proline oscillent de 34,99 à 137,82 mg EBSA /100 g et 731,27 à 3730,90 mg/kg, respectivement. La couleur des miels analysés enregistrent des valeurs allant 0,25 à 177. Le pouvoir rotatoire a permis de déduire que tous les miels analysés sont lévogyres, sauf le miel M12 qui est dextrogyre (+ 6,45).

Les paramètres physico-chimiques sont influencés par de nombreux facteurs : nature des végétaux butinés par les abeilles, la force des colonies d'abeilles, la zone géographique, le climat et les compétences de l'apiculteur.

Les résultats obtenus concernant les antioxydants varient significativement entre les échantillons de miels analysés. La teneur en polyphénols totaux est comprise entre de 22,41 à 96,16 mg EAG/ 100 g. Le miel M15, le plus riche en ces substances, présente également une couleur foncée. Le taux en flavonoïde oscille de 8,90 à 80,02 mg EQ/100 g et la concentration en orthodiphénols est comprise entre 0,04 à 0,59 mg EAG/100 g.

Le miel M11 présente le taux le plus faible en antioxydant (polyphénols, flavonoïdes et orthodiphénols) et la couleur la plus claire. Ceci prouve l'existence de corrélation entre ces deux paramètres.

Tous les miels analysés exercent des activités antioxydantes. Le pouvoir réducteur et chélateur du fer, les activités antiradicalaires, la réduction du phosphomolybdate et du FRAP varient de 9,70 à 358,00 mg EAG/100 g, de 3,17 à 77,27 %, de 44,52 à 97,95 % avec

l'ABTS, de 33,40 à 94,50 % avec le DPPH et de 17180,24 à 25591,69 mg EAA/ 100 et de 1,2 à 13,94 mg EAG/ 100 g, respectivement.

De nombreuses corrélations très hautement significatives sont enregistrées entre les différents paramètres :

- entre les antioxydants (les polyphénols et les flavonoïdes, $r = 0,80$; les polyphénols et les orthodiphénols $r = 0,78$) ;
- entre la couleur et les antioxydants ($r = 0,79$ avec les phénols, $r = 0,81$ avec les flavonoïdes $0,76$ et $r = 0,57$ orthodiphénols) ;
- entre les activités antiradicalaires et les polyphénols ($r = 0,87$ avec l'ABTS ; $r = 0,90$ avec le DPPH et des bons coefficients de corrélation avec les flavonoïdes, $r = 0,73$ avec l'ABTS ; $r = 0,78$ avec le DPPH).

Ceci est confirmé par les miels d Ilmaten, Bourdj bou arreridj et Tizi adjissa qui présentent des teneurs élevées en antioxydants et les meilleures activités antioxydantes par rapport aux autres échantillons de miels.

Les résultats de la présente étude méritent d'être complétés, il serait intéressant :

- ✓ D'étudier d'autres paramètres physico-chimiques à un nombre d'échantillons plus important.
- ✓ D'identifier les différents antioxydants par des techniques plus performantes (RMN, HPLC et CG-MS).
- ✓ D'étudier l'activité antibactérienne du miel, tout en déterminant la concentration minimale inhibitrice.
- ✓ D'effectuer des contrôles dans le but de rechercher d'éventuels contaminants permettant ainsi de déterminer la qualité de ces miels contrôlés ;
- ✓ De faire des tests *in vitro* et/ou *in vivo* afin d'étudier les différentes propriétés thérapeutiques (cicatrisation,...) des miels Algériens.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

A

- Abuhafeil N., Al-Oran R. & Aboshehada M. (1999).** The effect of bee honey on the proliferative activity of human B- and T-lymphocytes and the activity of phagocytes. *Food and Agricultural Immunology*, 11: 167-177.
- Accorti M., Persano L., Piazza M., G. & Sabatini A. G. (1986).** Schede di caratterizzazione delle principali qualità di mieli Italian. *Apicoltura*, 2: 3-35.
- Accorti M., Piazza M. G. & Persano-Oddo L. (1987).** La conductivité électrique et le contenu en cendres du miel. *Apiacta*, 22: 19-20.
- Aljadi A. M. & Kamaruddin M. Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85: 513–518.
- Al-Mamary M., Al-Meeri A. & Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 104 –1047.
- Al M. L., Daniel D., Moise A., Bobis O., Laslo L. & Bogdanov S. (2009).** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112: 863-867.
- Al-Waili N. S., Salom K. & 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.
- Amiot M. J., Aubert S., Gonnet M. & Tacchini M. (1989).** Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par famille. *Apidologie*, 20: 115–125.
- Anklam E. (1998).** A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63: 549-562.
- Apar A. (2002).** Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des miels de quelques marchés des hauts plateaux de l'ouest Cameroun. *Thèse de doctorat Université de Dschang*, P. 40.
- Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A. & Legret P. (1994).** Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49: 462-468.
- Assie B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. *Thèse de pharmacie, Faculté de pharmacie de Toulouse III*, P. 100.

Aupy G., Paccalin J. & Lostalot J. D. (1994). Miel et abeilles *.diététique et Médecine*, 4: 161-173.

Azeredo L .D. C., Azeredo M. A. A., De Souza S. R. & Dutra V. M. L. (2003). Protection content and physicochemical properties in honey sample of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80: 249-254.

B

Bath P. K. & Singh N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.

Belay A., Solomon W.K., Bultossa G., Adgaba N.& Samuel Melaku.(2013). Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386–3392.

Berreta G., Granata P., Ferero M., Orioli M. & Facino R. M. (2005). Standartization of antioxydant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 553: 185-191.

Bogdanov S. & Bulmer P. (2001). Propriétés naturelles du miel. *Revue Suisse d'Apiculture*, 98: 107-114.

Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Känzig A., Stöchli H. & Zürcher K. (1995). Miel: définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. *Centre Suisse de Recherche Apicoles*, 1-26.

Bogdanov S., Marttin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl G., Russmann H., Persano-Oddo L., Sabatini A. G., Maecazzan G. L., Marioleas P., Tsigouri A., KerKvliet J., Ortiz A. & Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of The European Honey Commission. *Apidologie*, 1-59.

Bogdanov S., Lüllman C., Marttin P., Von Der Ohe W., Russmann H., Vorwohl G., Persano-Oddo L., Sabatini A.G., Marcazzan G. L., Piro R., Flamini C., Morlot M., Heritier J., Borneck R., Marioleas P., Tsigouri A., KerKvliet J., Ortiz A., Ivanov T., D'Arcy B., Mossel B. & Vit P. (1999). Honey quality and international regulatory standard: review by the international honey commission. *Bee World*, 71: 20-26.

Boose B. (1992). Honey or Sugar in treatment of infected wounds. *The Lancel*, 1:278-963.

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.

Brahmi F., Mechri B. & Hammami.(2012). The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variation. *Industrial corps and products*, 146-152.

Bruneau E. (2002). Le miel. In « le Traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 63-354.

C

Chézeries J. F. (1982). La santé par le miel et les produits de la ruche. *Collection l'aide Nature ; M. A. Edition.* 110.

Chauvin R. (1968). Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In « Traité de biologie de l'abeille ». Editions Masson, 116-154.

Chauvin R. (1987). Le miel. In « La ruche et l'homme ». Edition Calmann-Lévy, 27-76.

Cimpoiou C., Hosu A., Miclaus V. & Anitta Puscas. (2013). Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta*, 149–154.

Clement H. C. (2002). Méliissopalynologie en Nouvelle-Calédonie, importance des spectres polliniques dans la typification des miels. *Mémoire pour l'obtention du Diplôme des Hautes Etudes Pratiques*, 60.

Clément H. et al. (2009). Le Traité Rustica de l'apiculture. Editions Rustica, P. 528.

Cooper R. & Molan P. C. (1999). The use of honey as an antiseptic in managing Pseudomonas infection. *Journal of Wound Care*, 8: 161-164.

Cooper R. (2007). Honey in wound care: antibacterial properties. *GMS Krankenhau shyg Interdiszip*, 2 (2): 51.

Codex Alimentarius (2001). Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, *Revue*, 1(1987); *Revue*, 2: 1-7.

Commission Européenne (2002). Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10: 47-52.

Cushnie T.P. Tim. & Andrew J. Lamb. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–356.

Cutting K. F. (2007). Honey and contemporary wound care: an overview. *Ostomy Wound Manage*, 53: 49-54.

Crane, E. (1990). Bees and Beekeeping : Science, Practice and World Resources.” *Heinemann Newnes*, Oxford, U.K.

D

- Dastmalchi K., Damien Dorman H.J., Oinonen P.P., Darwis Y., Laakso I. & Hiltunen R. (2008).** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *extract .LWT*, 41: 391-400.
- Descottes B. (2009).** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. *Phytotherapie*, 2(7): 112-116.
- Descottes B. (2000).** Miel et cicatrisation. Spécial Apithérapie. *Abeille et Fleur*, 34-41.
- Donadieu Y. (2003).** Les produits de la ruche. Ma pharmacie naturelle pour bien ou mieux se porter.
- Drouet N. (1983).** L'utilisation du sucre et du miel dans le traitement des plaies infectées. *La presse Medicale*, 38(12): 6-2355.

E

- Ebrahimzadeh M. A., Fereshteh P. & Hafezi Sl. (2007).** Antioxidant activities of Iranian Corn Silk. *Turkish Journal of Biologie*, 32: 43-49.
- Escriche I., Kadar M., Marisol Juan-Borras. & Domenech E. (2014).** Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chemistry*, 142: 135-143.

F

- Fahie M. A. & Shettko D.S. (2007).** Evidence-based wound management: a systematic review of therapeutic agents who enhance granulation and epithelialization. *Vet clin small Anim*, 37(3): 559-577.
- Fallico B., Arena E. & Zappala M. (2008).** Degradation of 5-hydroxymethyl fufural in honey. *Journal of Food Science*, 73(9): 625-631.
- Ferrerres F., Tomas-Barberan F. A., Soles C., Garcia-Viguera C., Oritiz A. & Tomas-Lorente F. (1994).** A simple extractive technique for honey flavonoides HPLC analysis. *Apidologie*, 25(1): 21-30.

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

G

Ghadri R. & Afshar M. (2004). Topical application of honey for treatment of skin wound in mice. *Iran Journal of Medical Sciences*, 29 (4) : 185-188.

Ghrbi M. (2011). Les produits de la ruche : Origines, Fonctions naturelles, Composition Propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. *Revue bibliographique Thèse de doctorat vétérinaire d'Université de Lyon I*.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.

Ghldof N. & Engeseth N.J.(2002). Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro*.

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

Gonnet M. & Vache G. (1986). Le goût du miel. UNAF, 60-65.

Gonnet M. (1993). Les principaux critères de la qualité d'un miel. *L'abeille de France*, 783(6): 269-271.

Goût Jacques. (1998). Le monde des abeilles. Edition Delachaux et Niestlé, Paris 160p.

Guillon N. (1996). Etude de l'activité antibactérienne du miel. *Thèse de pharmacie*, Faculté de pharmacie de Limoges.

Guler A., Bakan A., Nisbet C. & Yavuz O. (2007). Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum L.*) syrup. *Food Chemistry*, 105: 119–1125.

Gülçin I., Oktay M., Kirreççi E. & Kufreviöglu O. I. (2003). Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-381.

Gülçin I., Alici H. A. & Cesur M. (2005). Determination of *in vitro* Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53 (3): 281-285.

H

Hermosin I., Chicon R. M. & Dolores Cabezudo M. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83: 263-268.

Hochet C. (2002). Le miel. In « le Traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 360-364.

Hoyet C. (2005). Le miel: De la source à la thérapeutique. *Thèse de pharmacie*, Faculté de pharmacie de Nancy 1.

I

Iftikhar F., Arshad M., Rasheed F., Amraiz D., Anwar P. & gulfraz M. (2010). Effects of acacia honey on wound healing in various rat models *Phytother. Res*, 24(4): 583-6.

Isla M. I., Craig A., Ordonez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomon V. & Maldonado L. (2011). Physico-chemical and bioactive properties of honey from Northwestern Argentina. *LWT*, 44(9): 1922-1930.

J

Jasicka-Misiak I., A., Poliwoda M., Deren P. & Kafarski. (2011). Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two Polish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 131: 1149-1156.

Jonard L., Banh L., Pressac M., Just J. & Bahwaw M. (2006). Les défensines en physiopathologie humaines. *Revue générale et analyses prospectives IBS*, 21(6): 342-347.

Journal of Nutrition, November. (2002).

Juszczak L., Soca R., Roznowski J., Fortuna T. & Nalepka K. (2009). Physicochemical properties and quality parameters of herb honeys. *Food Chemistry*, 113: 538-542.

K

Kabala-D. A., Stojko R., Szaflarska S. E., Wroblewska A. I., Stojko A. & Stojko J. (2004). Influence of honey-balm on the rate of scar formation during experimental burn wound healing in pigs. *Bull vet Inst Pulawy*, 48(3): 311-316.

Kaufman T., Levin M. & Hurwitz D.J. (1984). The effect of topical hyperalimentation on wound healing rate and granulation tissue formation of experimental deep second degree burns in guinea-pigs. *Burns*, 10(4): 252-256.

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

küçük M., KolaylıS., KaraogluS., Baltacı C. & Candan F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 85: 663-640.

L

Lachman J., Orsak M., Hejtmankova A. & Kovarova E. (2010). Evolution of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech Honeys. *Food Science and Technology*, 1(43): 52-58.

Lampe K. F. (1988). Rhododendrons, mountain laurel and mad honey. *JAMA*, 259-2009.
Lay-flurrie K. (2008). Honey in wound care: effects, clinical application and patient benefit. *British Journal of Nursing*, 17(11): 30-35

Liu J.R., Ye Y.L., TiLin., Wang Y.W. & Chi-Chung Peng .(2013). Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139 : 938-943.

Loo A.Y., Jain K. & Darah I. (2008). Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. *Food Chemistry*, 107: 1151-1160.

Lusby P. E., Coombes A. & Wilkinson J. M. (2002). Honey: A potent agent for wound healing. *Journal Wound Ostomy Continence Nurs*, 29(6): 273-274.

M

Mathews K. A. & Binnington A.G. (2002). Wound management using honey. *Compendium of Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 24 (1): 53-60.

Mbogning E., Tchourmbooue J., Damesse F., Sanou Solze M. & Antonell Canini. (2011). Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Admanoua Cameroun. *Tropicicultura*, 29(3): 168-175.

Mcanalley S., Koepke C. M., LE L., Vennum E., Mcanalley R. & Mcanalley B. (2003). *In Vitro* methods for testing antioxidant potential: A Review. *GlycoScience & Nutrition*, 4(2): 1-9.

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

Molan P.C. (1998). A brief review of the use of honey as a clinical dressing. *Australian Journal of Wound Management*, 6 (4): 148-158.

Molan P. C. (2001). Why honey is effective as a medicine. 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World*, 82(1): 22-40.

Molan P.C. (2002). Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers – theory an practice. *Ostomy Wound Manage*, 48(11): 28-40.

Molan P.C., Cooper R., Milan P. &white R. 2009). honey in modern wound management. Wounds UK Edition, 7-20.

Molyneux P. (2004). The use of the free stable radical diphenylpicryl-hydrasyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Iran Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.

N

Naithani V., Nair S. & Kakkar P. (2006). Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181.

O

Oliveira M.V., Cyrne L., Marinho H.S. & Antunes F. (2007). A quantitative study of Nf-KB activation by H₂O₂: relevance in inflammation and synergy with TNF-alpha. *Journal Immunol*, 178 (6): 3893-3902.

Ouchemoukh, S., Schweitzer, P., Bachir-Bey, M., Djoudad-Kadji, H., & Louaileche, H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food Chemistry*, 121: 561–568.

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

Özcan M.M. & Ölmez Ç. (2014). Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food Chemistry*, in press.

P

Pham-Délègue M. H. (1999). Les abeilles. Genève, *Minerva*, 206.

Philippe J. M. (1994). Le guide de l'apiculteur. *Edisud*, 347.

Piazza M. G., Accorti M. & Persano Oddo L. (1991). Electrical conductivity, ash, color & specific rotatory power in italian unifloral honeys. *Apicoltura*, 7: 51-63.

Pichichero E., Cicconi R., Mattei M. & Canini A. (2011). *Chrysin-induced apoptosis is mediated through and Bax activation in B16-F1. p38*

R

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231–1237.

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Dunod, 254.

Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. & Ribéreau-Gayon P. (1982). Composés phénolique. In « traité d'œnologie, science et technique du vin ». Edition Dunod, 477-499.

Rossant A. (2011). Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes. *Thèse de Doctorat en pharmacie*. Université de Limoge, 100.

Roy S., khannas S., Nallu K., Hunt T. & Sen C.K. (2006). Dermal wound healing is subject to redox control, *Mol Ther*, 13(1): 211-220.

S

Sancho M. T., Muniategui S., Sanchez M. P., Huidobro J. F. & Simal, J. (1991). Relationship between electrical conductivity and total and sulphated ash contents in Basque honey. *Apidologie*, 22: 487-494.

Serem J. C. & Bester M.J. (2012). Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food chemistry*, 13(1): 211-220.

Schreck R., Rieber P. & Baeuerle P.A.(1991). Reactive oxygene species as apparently widely used messengers in the activation of the Nf-KB transcription factor and HIV-1. 10 (8): 2247-2258.

Schweitzer P. (2001). Le vieillissement des miels. *Abeille de France*, 87: 1-4.

Silici S., Sagdic O. & Ekici L. (2010). Total phenolic content, antiradical,antioxydant and antimicrobial activities of *Rhododendron honeys*. *Food Chemistry*, 121: 238-243.

Subrahmanyam M., Archan h. & Pawar S.G.(2001). Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds. *Annas of Burns and Fire diasaster*, 14: 1-4.

Schivre E. (2006). L'abeille, ses produits de sécrétions et leurs utilisation thérapeutique. *Thèse de doctorat*. Université de Nancy .P 73.

Sumitra M., Manikandan P., Gayathri V.S. & Suguna L. (2009). Influence of honey on energy metabolism durin wound healing in rats. *Scholarly Research Exchange*, Edition 715320.

T

Teixeira E. W., Message D., Negri G., Salatino A. & Stringheta P.C. (2008). Seasonal variation, chemical composition and antioxidant activity of Brazilian propolis samples. *Oxford Journals*, 177: 1-9.

Tomczak C. (2010). Utilisation du miel dans le traitement des plaies.*Thèse de doctorat vétérinaire*, Université Claude Bernard, Lyon.

Toor R. K. & Savage G. P. (2006). Effect of semi-drying on the antioxidant comportements of tomatoes. *Food Chemistry*, 19: 1-10.

V

Van den Berg A.J. , Van den Worm E., Van Ufford H. C., Halkes S. B., Hoekstra M.J. & Beukelman C.J. (2008). *An in vitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey.* *Journal Wound Care*, 17(4):172-174.

Viuda-Martos M., Ruiz-Navaias Y., Fernandez-Lopez. & Perez-Alvarezb J.A.

(2008). Functional properties of honey, propolis and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9): 117-122.

W

Weston R.J., Mitchell K.R. & Allen K.L. (1999). Antibacterial phenolic components of new Zealand manuka honeys. *Food Chemistry*, 64: 295-301

White J. (1962). Composition of American honey. *Technology Bull*, 1261.

Wilczynska A. (2014). Effect of filtration on color, antioxidant activity and total phenolic of honey. *Food Science and Technology*, 57: 767-774.

Won S.R., Lee D. C., Ko S. H., Kim J.W. & Rhee H. I. (2008). Honey major protein characterization and its application to adulteration. *Food Research International*, 41: 952-956.

Y

Yucel Y. & Sultanoglu P. (2013). Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 16 -25.

Sites internet :

Anonyme 1 : <http://www.abcd-chirurgie.fr/mediastore/fckEditor/file/TAP.PDF>

ANNEXES

Annexe I : Table de CHATAWAY.

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (g / 100 g)	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (g / 100 g)
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		

Annexe II : Courbes d'étalonnages

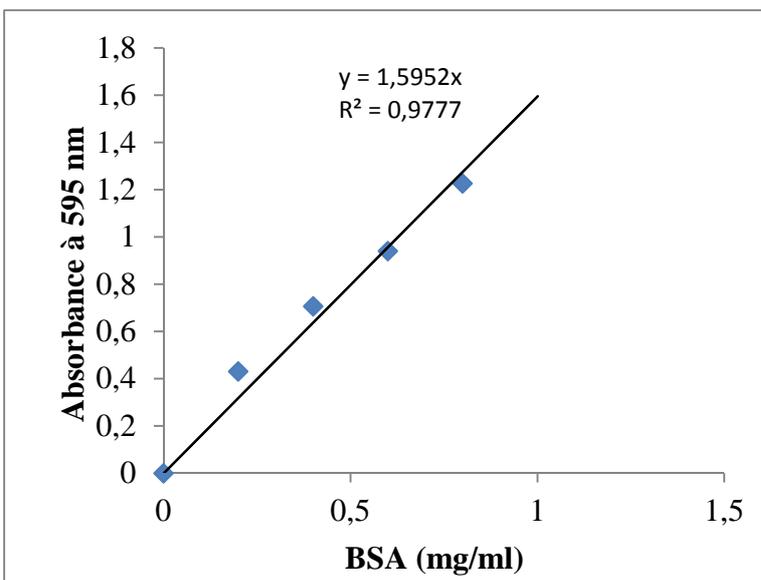


Figure 1: Courbe d'étalonnage des protéines

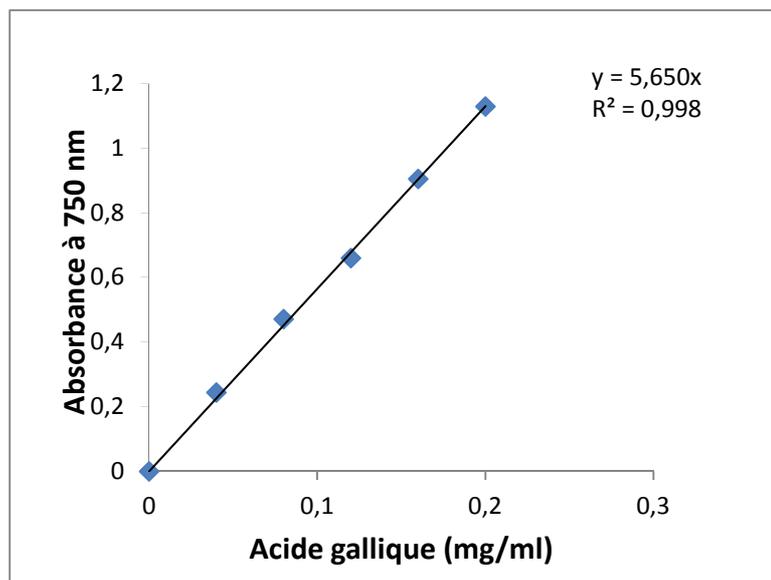


Figure 2: Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

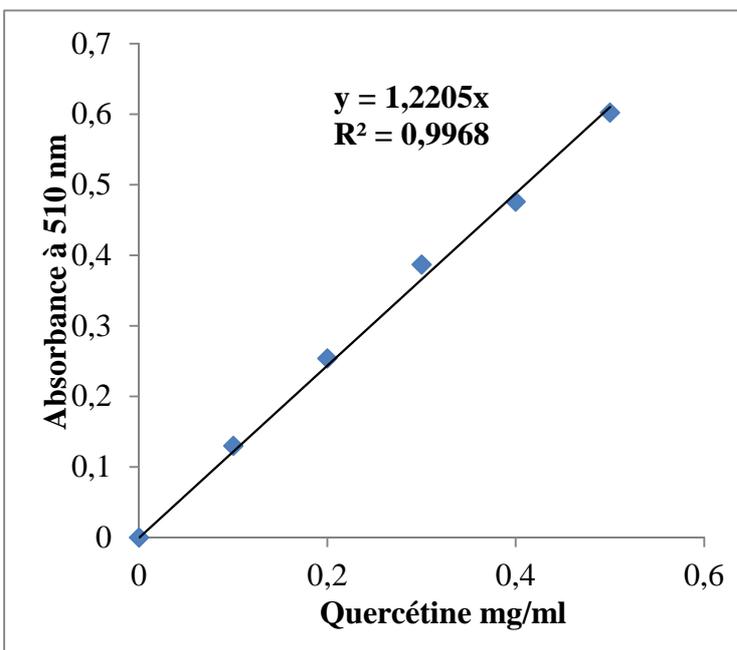


Figure 3: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

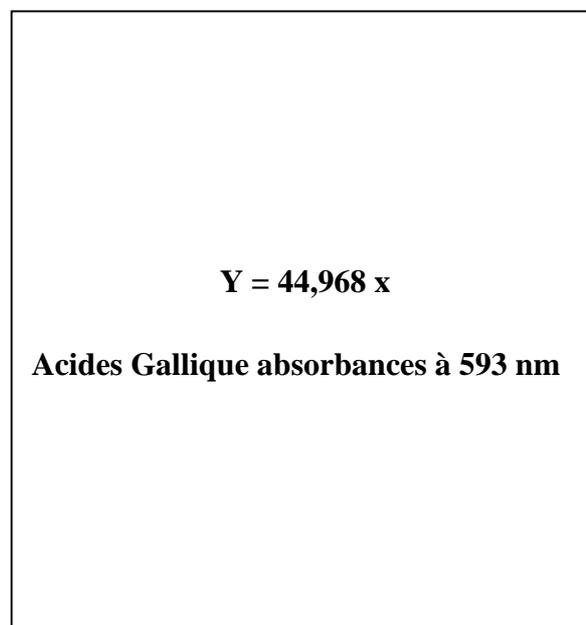


Figure 4: Courbe d'étalonnage des orthodiphénols

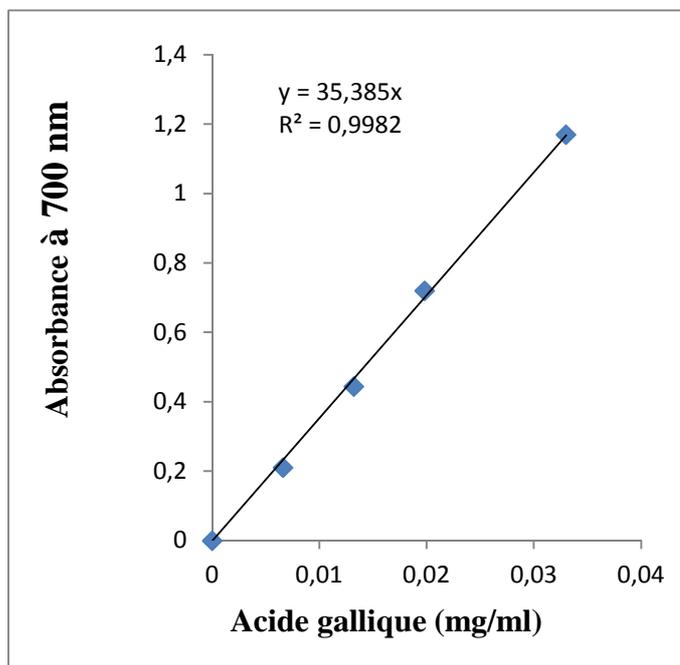


Figure 5: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

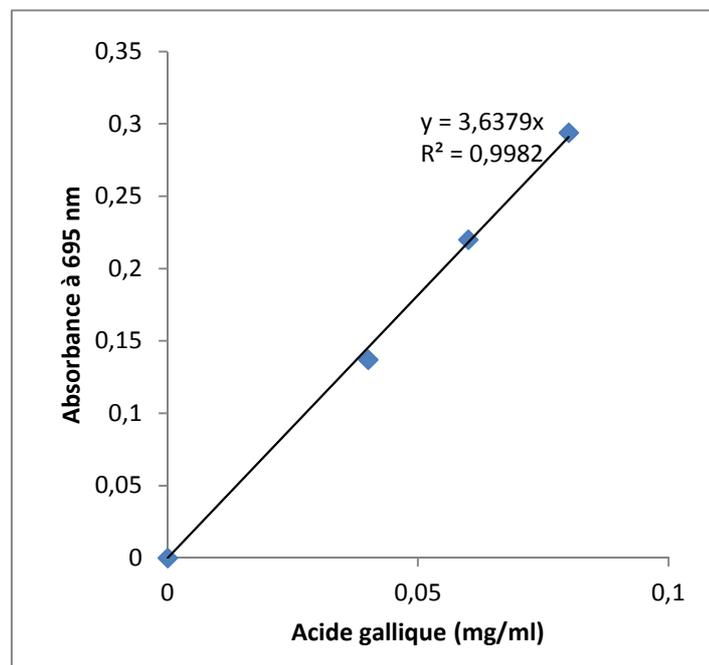


Figure 6: Courbe d'étalonnage de phosphomolybdate

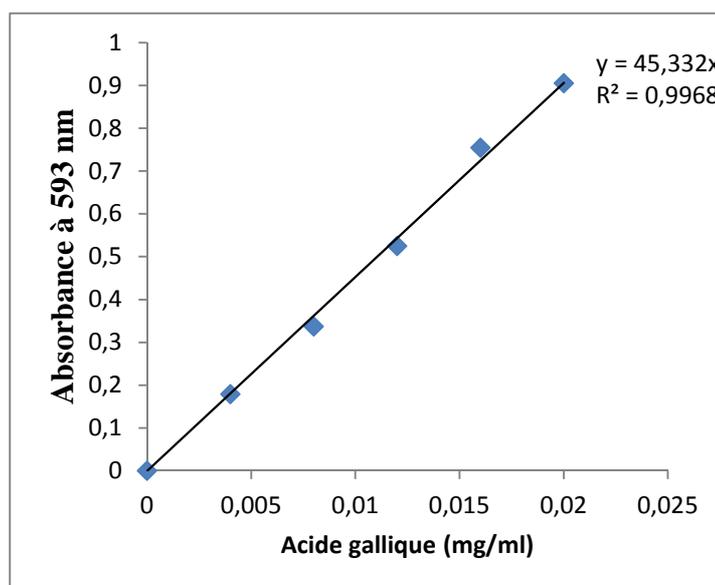


Figure 7: Courbe d'étalonnage de test FRAP

Annexe III

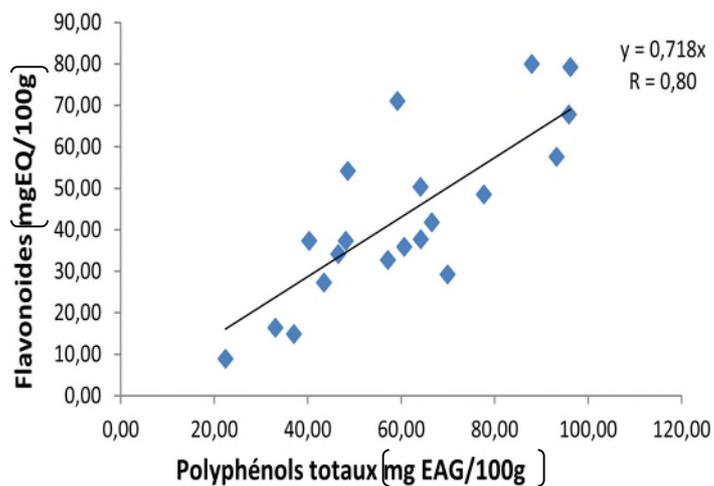


Figure 1 : Corrélation entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes

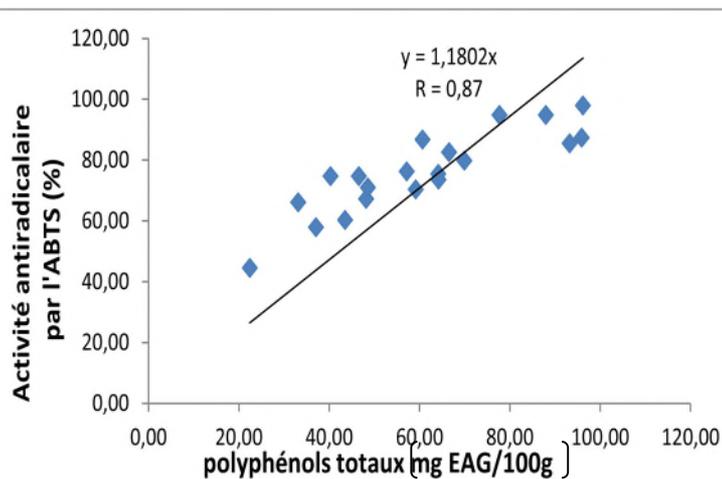


Figure 2 : Corrélation entre les polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire par l'ABTS.

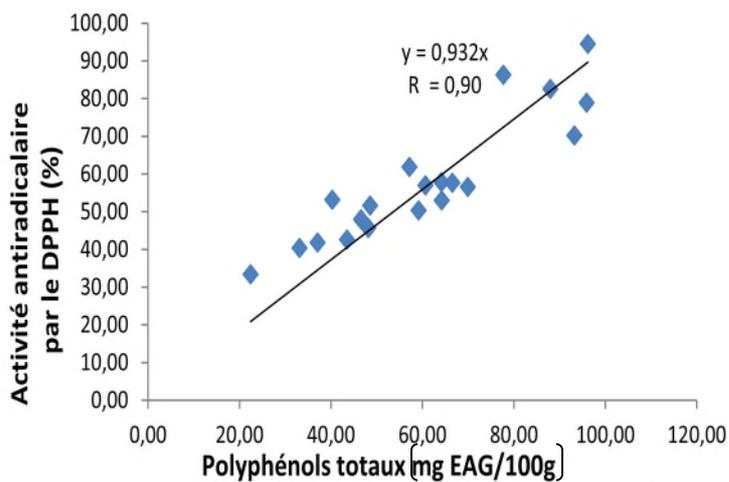


Figure 3 : Corrélation entre les polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire par le DPPH.

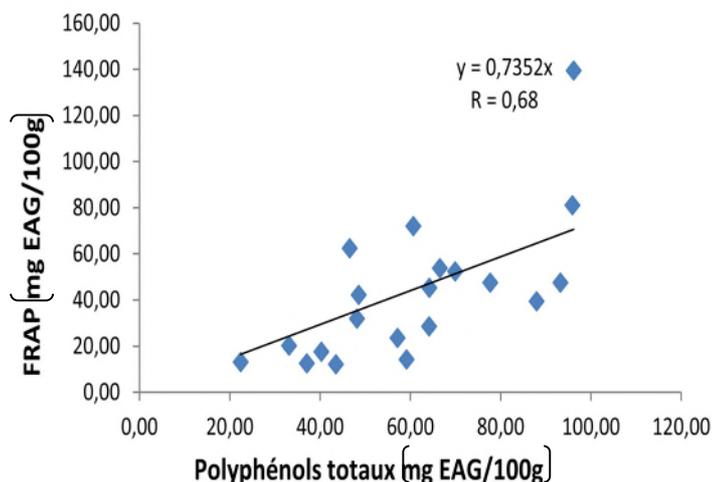
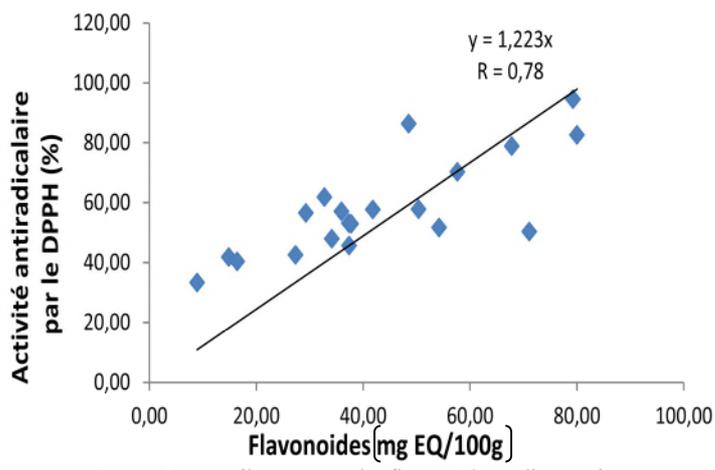
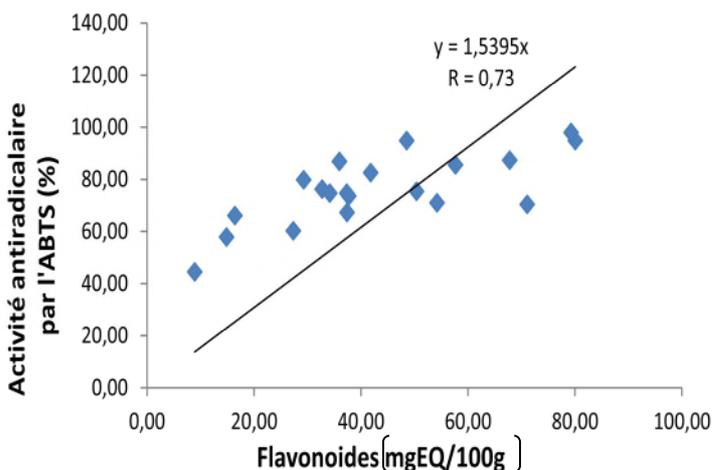
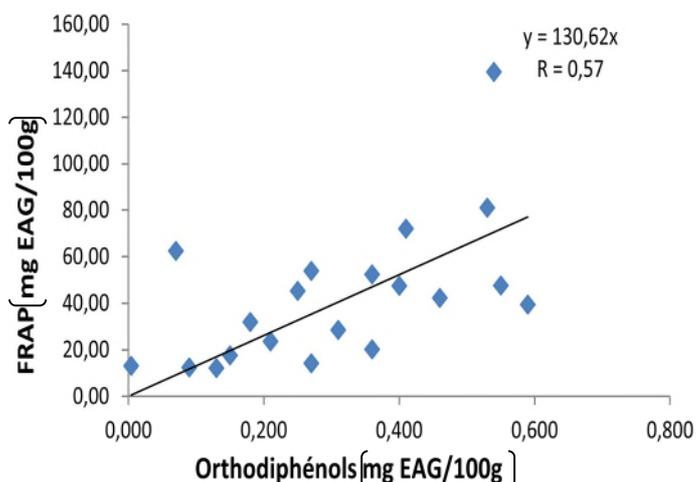
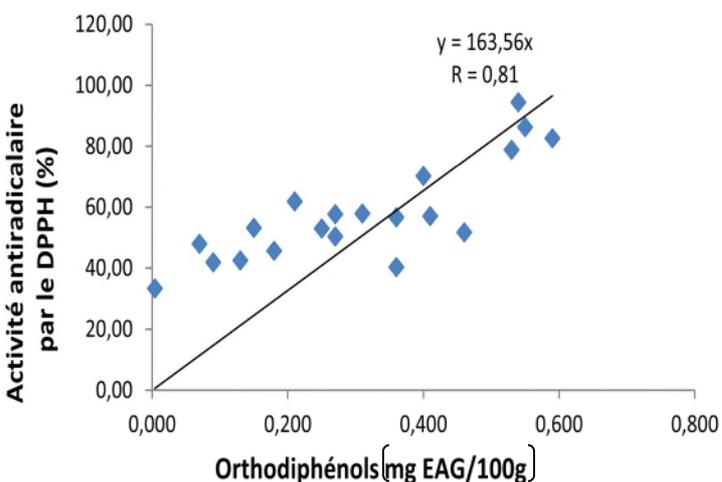
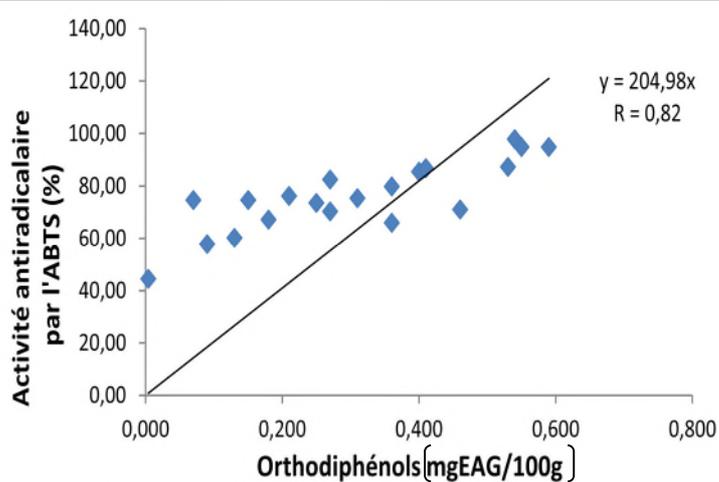
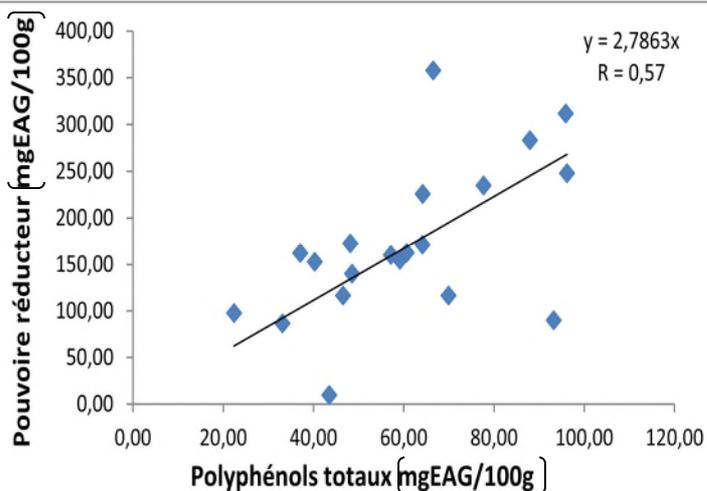


Figure 4 : Corrélation entre les polyphénols totaux et la FRAP.



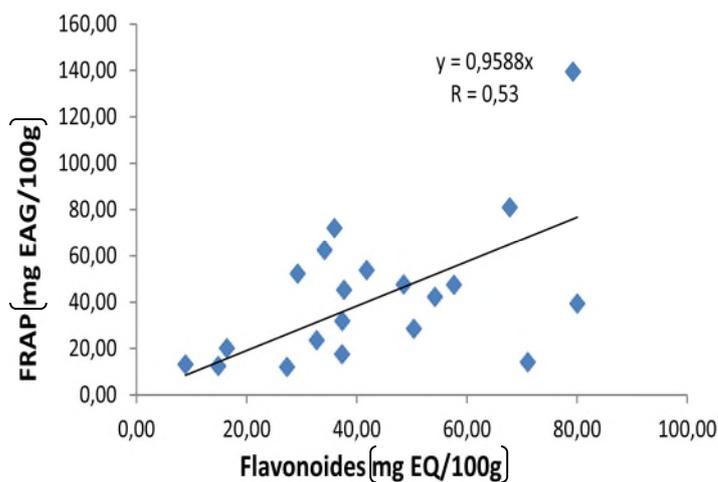


Figure 11 : Corrélation entre les flavonoïdes et la FRAP.

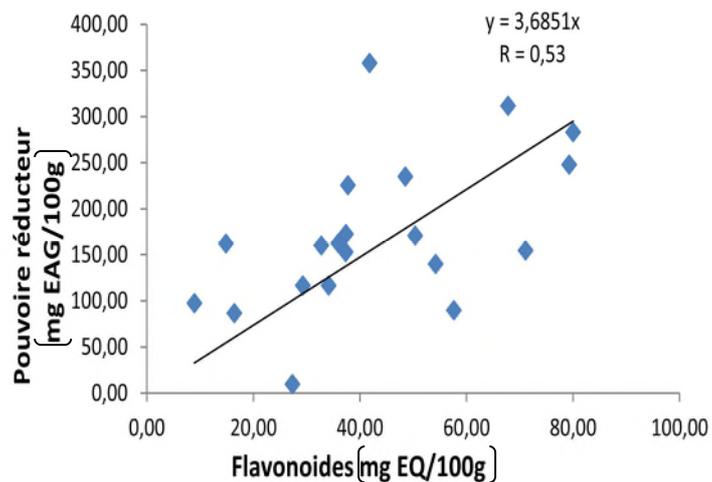


Figure 12 : Corrélation entre les flavonoïdes et le pouvoir réducteur.

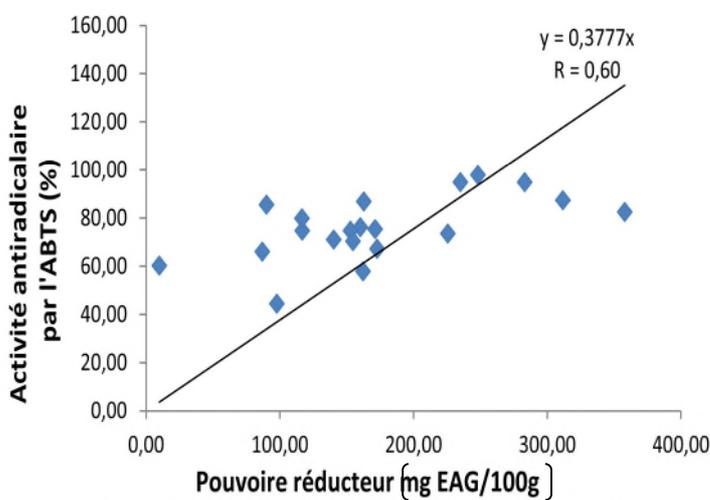


Figure 13 : Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité

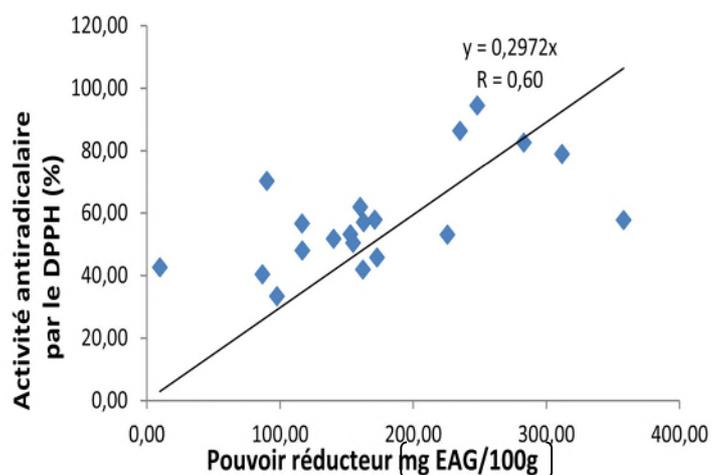


Figure 14 : Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire par le DPPH.

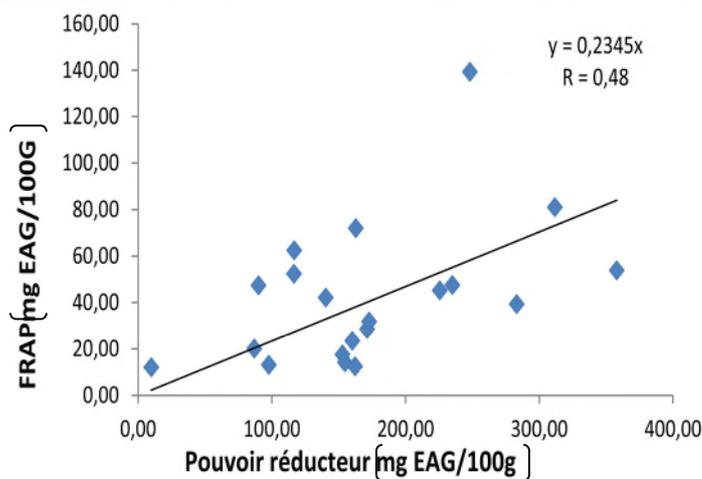


Figure 15 : Corrélation entre le pouvoir réducteur et la FRAP.

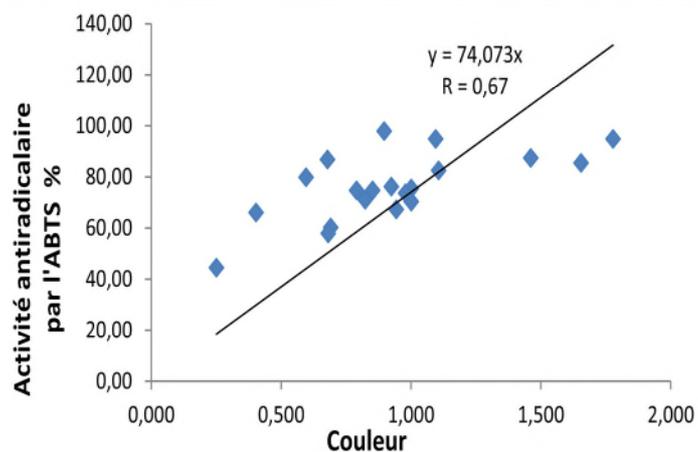


Figure 16 : Corrélation entre la couleur et l'activité antiradicalaire par l'ABTS.

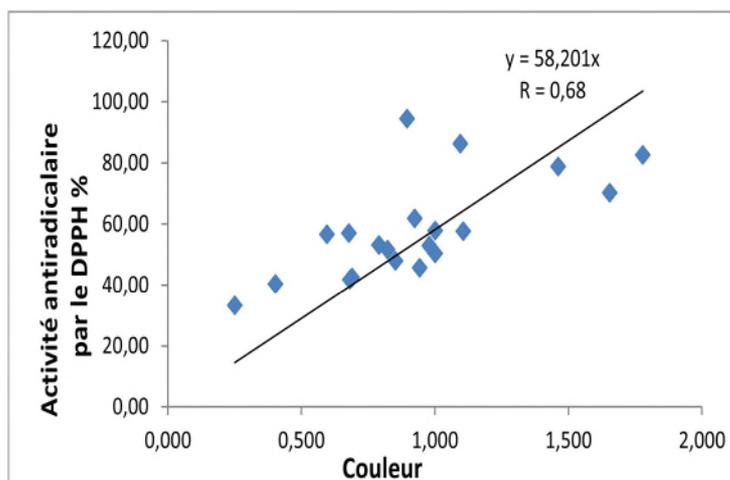


Figure 17 : Corrélation entre la couleur et l'activité antiradicalaire par le DPPH.

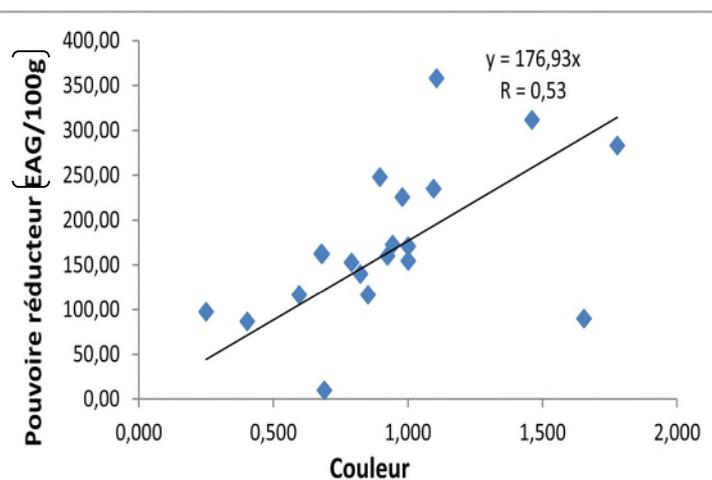


Figure 18 : Corrélation entre la couleur et le pouvoir réducteur.

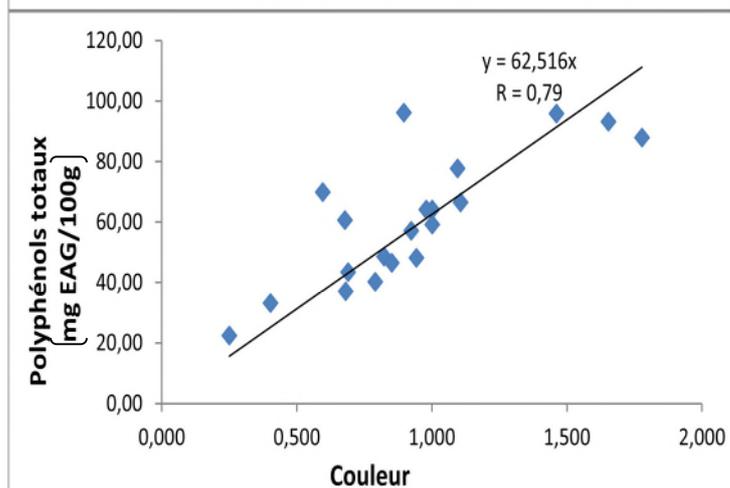


Figure 19 : Corrélation entre la couleur et les polyphénols totaux.

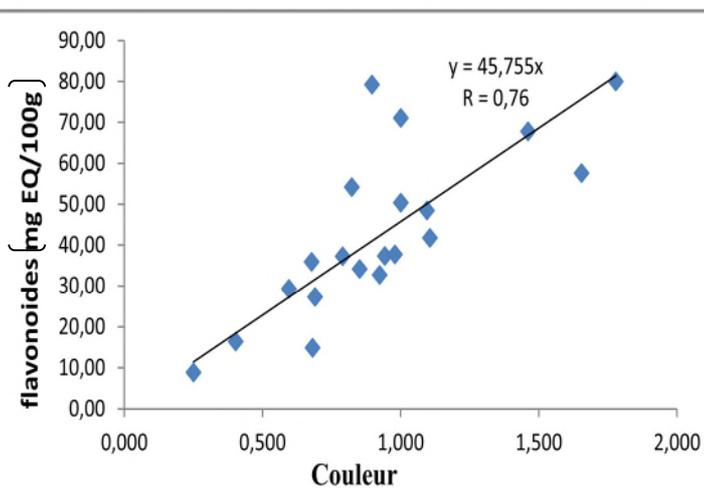


Figure 20 : Corrélation entre la couleur et les flavonoïdes.

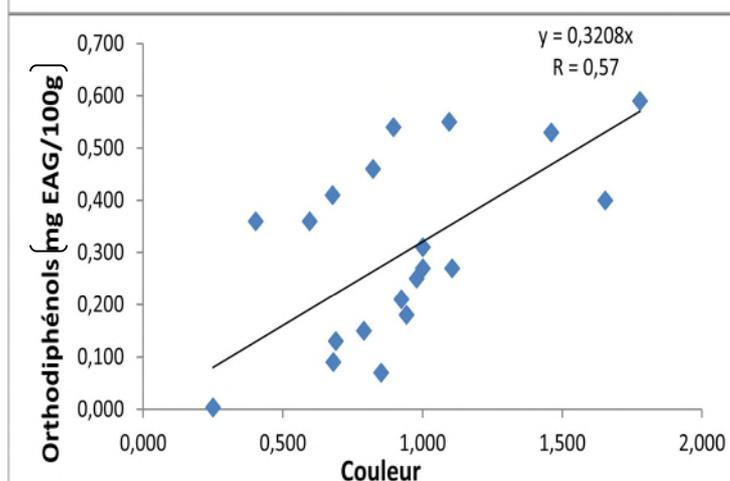


Figure 21 : Corrélation entre la couleur et les orthodiphénols.

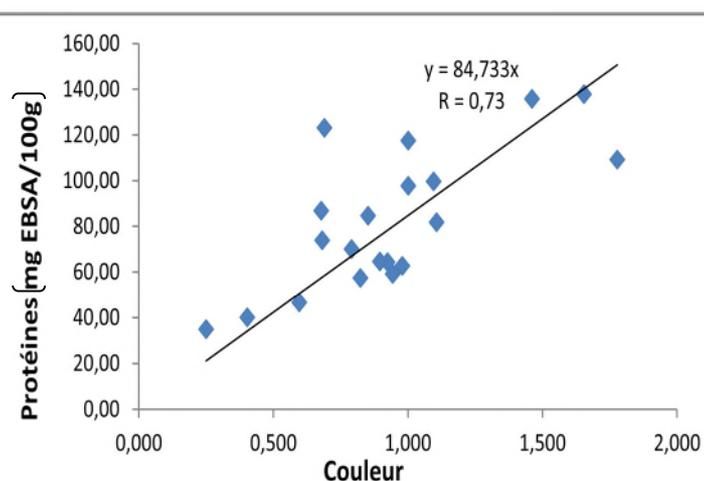


Figure 22 : Corrélation entre la couleur et les protéines.

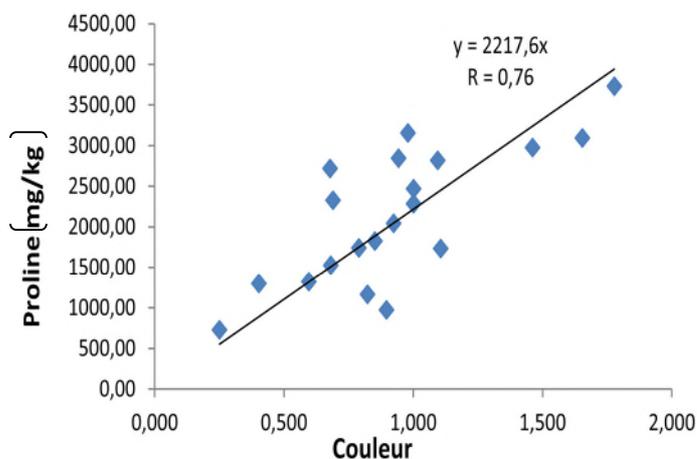


Figure 23 : Corrélation entre la couleur et la proline.

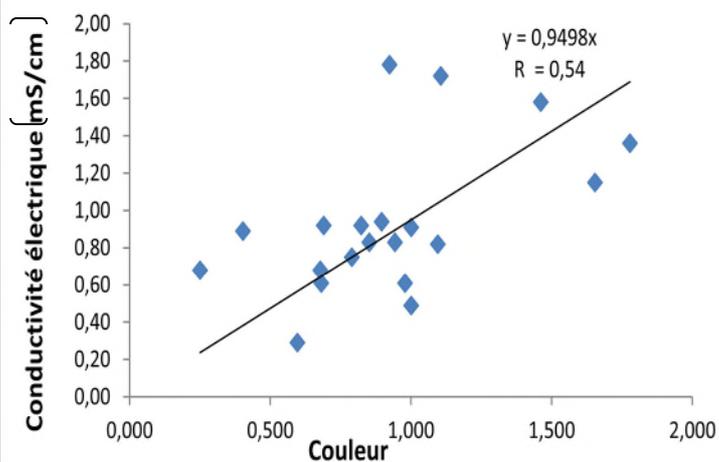


Figure 24 : Corrélation entre la couleur et la conductivité électrique.

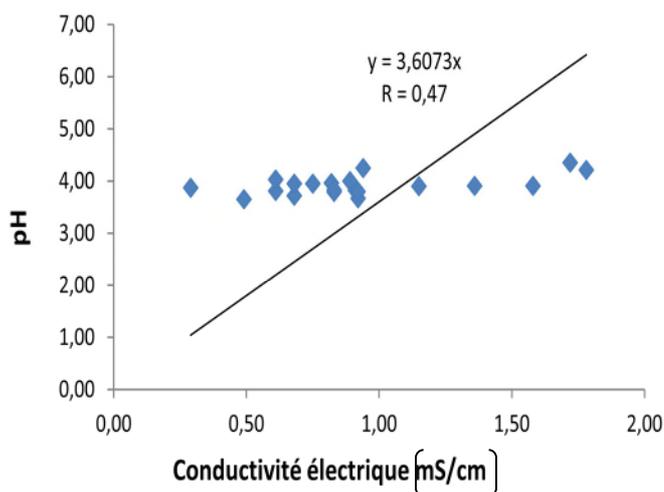


Figure 25 : Corrélation entre la conductivité électrique et le pH.

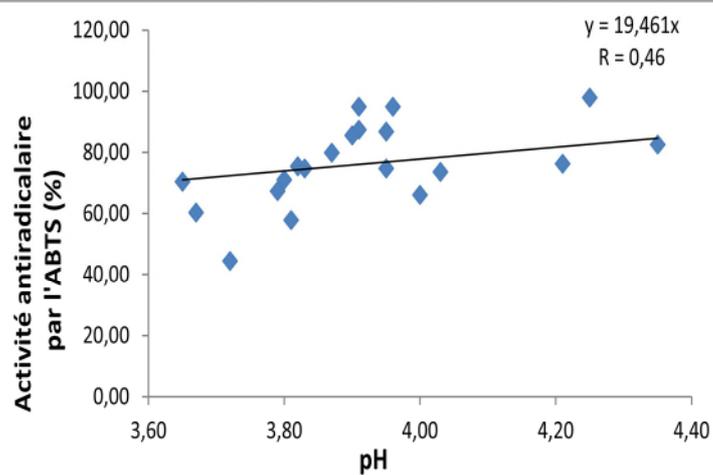


Figure 26 : Corrélation entre le pH et l'activité antiradicalaire par l'ABTS.

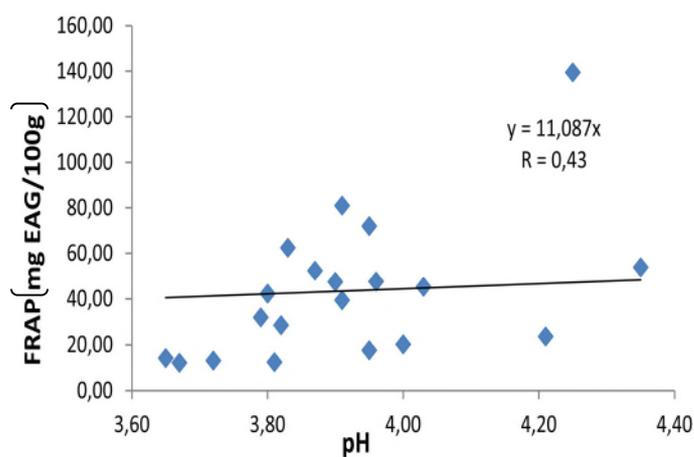


Figure 27 : Corrélation entre le pH et la FRAP.

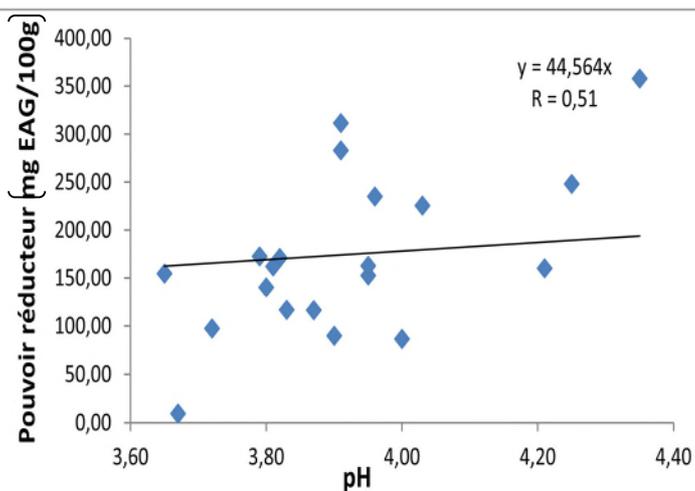


Figure 28 : Corrélation entre le pH et le pouvoir réducteur.

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

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .05000$ N=60 (Suppression des observ. à VH)																			
Variable	ABTS	BRIX	CP	CE_MS	COULEUR	CENDRE	DPPH	FERROZ	FLAVON	FRAP	HMF	IR	ORTHO	PH	PHOSPH	P_REDUC	RETATO	PROLIN	PROTEI	T_EAU
	R	S	R	S	R	S	R	IN	OI						O	CT	IR	E	NE	
ABTS	1.00	-.07	.87	.34	.67	.34	.91	-.38	.73	.71	-.07	-.06	.82	.46	.25	.60	.01	.44	.41	.06
BRIX	-.07	1.00	-.24	-.01	-.16	-.01	-.17	.24	-.35	-.15	-.56	1.00	-.03	.05	-.10	.04	.06	-.23	-.36	-.98
CP	.87	-.24	1.00	.37	.79	.37	.90	-.63	.80	.68	-.01	-.24	.78	.31	.15	.57	-.01	.51	.57	.24
CE_MS	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
COULEUR	.67	-.16	.79	.54	1.00	.54	.68	-.43	.76	.26	-.21	-.17	.57	.15	-.14	.53	-.19	.76	.73	.17
CENDRES	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
DPPH	.91	-.17	.90	.39	.68	.39	1.00	-.56	.78	.70	-.03	-.17	.81	.39	.36	.60	.01	.38	.43	.17
FERROZIN	-.38	.24	-.63	.02	-.43	.02	-.56	1.00	-.62	-.38	-.04	.23	-.51	.14	-.22	-.09	-.08	-.08	-.40	-.27
FLAVONOI	.73	-.35	.80	.30	.76	.30	.78	-.62	1.00	.53	.12	-.34	.72	.13	.07	.53	.12	.43	.52	.38
FRAP	.71	-.15	.68	.16	.26	.16	.70	-.38	.53	1.00	.26	-.15	.57	.43	.44	.48	.23	-.02	.10	.16
HMF	-.07	-.56	-.01	-.28	-.21	-.28	-.03	-.04	.12	.26	1.00	-.55	-.11	-.08	.19	-.24	.23	-.16	-.09	.60
IR	-.06	1.00	-.24	-.02	-.17	-.02	-.17	.23	-.34	-.15	-.55	1.00	-.02	.04	-.09	.03	.07	-.23	-.36	-.98
ORTHO	.82	-.03	.78	.25	.57	.25	.81	-.51	.72	.57	-.11	-.02	1.00	.25	.14	.49	.23	.36	.32	.05
PH	.46	.05	.31	.47	.15	.47	.39	.14	.13	.43	-.08	.04	.25	1.00	.28	.51	.19	-.07	-.14	-.08
PHOSPHO	.25	-.10	.15	-.25	-.14	-.25	.36	-.22	.07	.44	.19	-.09	.14	.28	1.00	.03	.23	-.33	-.26	.08
P_REDUC	.60	.04	.57	.50	.53	.50	.60	-.09	.53	.48	-.24	.03	.49	.51	.03	1.00	.03	.30	.16	-.04
RETATOIR	.01	.06	-.01	-.09	-.19	-.09	.01	-.08	.12	.23	.23	.07	.23	.19	.23	.03	1.00	-.26	-.30	-.02
PROLINE	.44	-.23	.51	.25	.76	.25	.38	-.08	.43	-.02	-.16	-.23	.36	-.07	-.33	.30	-.26	1.00	.68	.21
PROTEINE	.41	-.36	.57	.35	.73	.35	.43	-.40	.52	.10	-.09	-.36	.32	-.14	-.26	.16	-.30	.68	1.00	.36
T_EAU	.06	-.98	.24	.02	.17	.02	.17	-.27	.38	.16	.60	-.98	.05	-.08	.08	-.04	-.02	.21	.36	1.00

Figure 1 : Corrélations significatives marquées à $p < 0,05$.

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .01000$ N=60 (Suppression des observ. à VH)																			
Variable	ABTS	BRIX	CP	CE_MS	COULEUR	CENDRE	DPPH	FERROZ	FLAVON	FRAP	HMF	IR	ORTHO	PH	PHOSPH	P_REDUC	RETATO	PROLIN	PROTEI	T_EAU
	R	S	R	S	R	S	R	IN	OI						O	CT	IR	E	NE	
ABTS	1.00	-.07	.87	.34	.67	.34	.91	-.38	.73	.71	-.07	-.06	.82	.46	.25	.60	.01	.44	.41	.06
BRIX	-.07	1.00	-.24	-.01	-.16	-.01	-.17	.24	-.35	-.15	-.56	1.00	-.03	.05	-.10	.04	.06	-.23	-.36	-.98
CP	.87	-.24	1.00	.37	.79	.37	.90	-.63	.80	.68	-.01	-.24	.78	.31	.15	.57	-.01	.51	.57	.24
CE_MS	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
COULEUR	.67	-.16	.79	.54	1.00	.54	.68	-.43	.76	.26	-.21	-.17	.57	.15	-.14	.53	-.19	.76	.73	.17
CENDRES	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
DPPH	.91	-.17	.90	.39	.68	.39	1.00	-.56	.78	.70	-.03	-.17	.81	.39	.36	.60	.01	.38	.43	.17
FERROZIN	-.38	.24	-.63	.02	-.43	.02	-.56	1.00	-.62	-.38	-.04	.23	-.51	.14	-.22	-.09	-.08	-.08	-.40	-.27
FLAVONOI	.73	-.35	.80	.30	.76	.30	.78	-.62	1.00	.53	.12	-.34	.72	.13	.07	.53	.12	.43	.52	.38
FRAP	.71	-.15	.68	.16	.26	.16	.70	-.38	.53	1.00	.26	-.15	.57	.43	.44	.48	.23	-.02	.10	.16
HMF	-.07	-.56	-.01	-.28	-.21	-.28	-.03	-.04	.12	.26	1.00	-.55	-.11	-.08	.19	-.24	.23	-.16	-.09	.60
IR	-.06	1.00	-.24	-.02	-.17	-.02	-.17	.23	-.34	-.15	-.55	1.00	-.02	.04	-.09	.03	.07	-.23	-.36	-.98
ORTHO	.82	-.03	.78	.25	.57	.25	.81	-.51	.72	.57	-.11	-.02	1.00	.25	.14	.49	.23	.36	.32	.05
PH	.46	.05	.31	.47	.15	.47	.39	.14	.13	.43	-.08	.04	.25	1.00	.28	.51	.19	-.07	-.14	-.08
PHOSPHO	.25	-.10	.15	-.25	-.14	-.25	.36	-.22	.07	.44	.19	-.09	.14	.28	1.00	.03	.23	-.33	-.26	.08
P_REDUC	.60	.04	.57	.50	.53	.50	.60	-.09	.53	.48	-.24	.03	.49	.51	.03	1.00	.03	.30	.16	-.04
RETATOIR	.01	.06	-.01	-.09	-.19	-.09	.01	-.08	.12	.23	.23	.07	.23	.19	.23	.03	1.00	-.26	-.30	-.02
PROLINE	.44	-.23	.51	.25	.76	.25	.38	-.08	.43	-.02	-.16	-.23	.36	-.07	-.33	.30	-.26	1.00	.68	.21
PROTEINE	.41	-.36	.57	.35	.73	.35	.43	-.40	.52	.10	-.09	-.36	.32	-.14	-.26	.16	-.30	.68	1.00	.36
T_EAU	.06	-.98	.24	.02	.17	.02	.17	-.27	.38	.16	.60	-.98	.05	-.08	.08	-.04	-.02	.21	.36	1.00

Figure 2 : Corrélations significatives marquée à $p < 0,01$.

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .00100$ N=60 (Suppression des observ. à VH)																			
Variable	ABTS	BRIX	CP	CE_MS	COULEUR	CENDRE	DPPH	FERROZ	FLAVON	FRAP	HMF	IR	ORTHO	PH	PHOSPH	P_REDUC	RETATO	PROLIN	PROTEI	T_EAU
	R	S	R	S	R	S	R	IN	OI						O	CT	IR	E	NE	
ABTS	1.00	-.07	.87	.34	.67	.34	.91	-.38	.73	.71	-.07	-.06	.82	.46	.25	.60	.01	.44	.41	.06
BRIX	-.07	1.00	-.24	-.01	-.16	-.01	-.17	.24	-.35	-.15	-.56	1.00	-.03	.05	-.10	.04	.06	-.23	-.36	-.98
CP	.87	-.24	1.00	.37	.79	.37	.90	-.63	.80	.68	-.01	-.24	.78	.31	.15	.57	-.01	.51	.57	.24
CE_MS	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
COULEUR	.67	-.16	.79	.54	1.00	.54	.68	-.43	.76	.26	-.21	-.17	.57	.15	-.14	.53	-.19	.76	.73	.17
CENDRES	.34	-.01	.37	1.00	.54	1.00	.39	.02	.30	.16	-.28	-.02	.25	.47	-.25	.50	-.09	.25	.35	.02
DPPH	.91	-.17	.90	.39	.68	.39	1.00	-.56	.78	.70	-.03	-.17	.81	.39	.36	.60	.01	.38	.43	.17
FERROZIN	-.38	.24	-.63	.02	-.43	.02	-.56	1.00	-.62	-.38	-.04	.23	-.51	.14	-.22	-.09	-.08	-.08	-.40	-.27
FLAVONOI	.73	-.35	.80	.30	.76	.30	.78	-.62	1.00	.53	.12	-.34	.72	.13	.07	.53	.12	.43	.52	.38
FRAP	.71	-.15	.68	.16	.26	.16	.70	-.38	.53	1.00	.26	-.15	.57	.43	.44	.48	.23	-.02	.10	.16
HMF	-.07	-.56	-.01	-.28	-.21	-.28	-.03	-.04	.12	.26	1.00	-.55	-.11	-.08	.19	-.24	.23	-.16	-.09	.60
IR	-.06	1.00	-.24	-.02	-.17	-.02	-.17	.23	-.34	-.15	-.55	1.00	-.02	.04	-.09	.03	.07	-.23	-.36	-.98
ORTHO	.82	-.03	.78	.25	.57	.25	.81	-.51	.72	.57	-.11	-.02	1.00	.25	.14	.49	.23	.36	.32	.05
PH	.46	.05	.31	.47	.15	.47	.39	.14	.13	.43	-.08	.04	.25	1.00	.28	.51	.19	-.07	-.14	-.08
PHOSPHO	.25	-.10	.15	-.25	-.14	-.25	.36	-.22	.07	.44	.19	-.09	.14	.28	1.00	.03	.23	-.33	-.26	.08
P_REDUC	.60	.04	.57	.50	.53	.50	.60	-.09	.53	.48	-.24	.03	.49	.51	.03	1.00	.03	.30	.16	-.04
RETATOIR	.01	.06	-.01	-.09	-.19	-.09	.01	-.08	.12	.23	.23	.07	.23	.19	.23	.03	1.00	-.26	-.30	-.02
PROLINE	.44	-.23	.51	.25	.76	.25	.38	-.08	.43	-.02	-.16	-.23	.36	-.07	-.33	.30	-.26	1.00	.68	.21
PROTEINE	.41	-.36	.57	.35	.73	.35	.43	-.40	.52	.10	-.09	-.36	.32	-.14	-.26	.16	-.30	.68	1.00	.36
T_EAU	.06	-.98	.24	.02	.17	.02	.17	-.27	.38	.16	.60	-.98	.05	-.08	.08	-.04	-.02	.21	.36	1.00

Figure 3 : Corrélations significatives marquées à $p < 0,001$.

Résumé

Le but de cette étude consiste à la détermination de quelques propriétés physico-chimiques (humidité, pH, conductivité électrique, pouvoir rotatoire, les teneurs en proline et en protéines, couleur et HMF), des taux en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes et orthodiphénols) ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par 6 méthodes différentes (activités antiradicalaires par l'ABTS et le DPPH, pouvoir réducteur et chélateur de fer, réduction de phosphomolybdate et du FRAP) de 20 échantillons de miels Algériens récoltés dans différentes wilayas. Les résultats obtenus montrent que la majorité des miels analysés sont conformes à la législation. L'humidité et le pH les oscillent, respectivement, de 14,95 à 22,27% et de 3,65 à 4,35. La teneur en proline varie de 731,273 à 3730,90 mg/kg indique que les miels analysés sont probablement authentique. Le taux en phénols totaux, en flavonoïde et en orthodiphénols varient de 22,41 à 96,16 mg EAG/100g, de 6,3 à 80,02 mg EQ/100g et de 0,04 à 0,59 respectivement. La majorité des miels analysés sont lévogyres, à l'exception du miel M12 qui est dextrogyre (+ 6,45). Les miels analysés possèdent des activités antioxydantes variables. Par exemple elles sont comprises entre 33,40 à 94,50 pour l'activité antiradicalaire avec le DPPH et de 44,52 à 97,95 pour l'ABTS. Ces variations sont dues à l'origine botanique des échantillons de miels analysés. De nombreuses corrélations sont observées entre la couleur, les antioxydants et les activités antioxydantes. Des corrélations très hautement significatives sont observées entre les antioxydants et les activités antioxydantes ($r=0,87$ entre polyphénols et ABTS ; $r = 0,90$ entre polyphénols/DPPH ; $r = 0,68$ entre polyphénols/FRAP) idem pour la couleur et les antioxydants ($r = 0,67$; $r = 0,76$ et $r = 0,57$ pour les phénols totaux, flavonoïdes, orthodiphénols respectivement). Tenant compte de ces résultats, le miel constitue une source importante en antioxydant et possède de multiples effets thérapeutiques.

Mots clés : Miel, Propriétés biologiques, Analyses physico-chimiques, Activités antioxydantes.

Summary

The purpose of this study is to determine some physico-chemical properties (moisture, pH, electrical conductivity, optical rotation, the teneurs proline and protein, color and HMF), rates of antioxidants (polyphenols, flavonoids and ortho) and the evaluation of antioxidant activity by 6 different methods (ABTS radical scavenging activities and DPPH, reducing power and iron chelator, reduced phosphomolybdate and FRAP) of 20 honey samples collected from different provinces Algerians. The results show that the majority of honeys analyzed are consistent with the legislation. The humidity and the pH ranged, respectively from 14.95 to 22.27% and from 3.65 to 4.35. The proline content varies from 731.273 to 3730.90 mg / kg indicates that the analyzed honeys are probably authentic. The ratio of total phenolics, and flavonoid orthodiphénols vary 22,41 to 96,16 EAG mg / 100g, 6.3 to 80, EQ 02 mg / 100 g and 0.04 to 0.59 respectively. The majority of the analyzed honeys are levorotatory, with the exception of honey which M12 is dextrorotatory (+ 6.45). Honeys analyzed variables have antioxidant activities. For example, they range from 33.40 to 94.50 for the scavenging activity with DPPH and 44.52 to 97.95 for ABTS. These variations are due to the botanical origin of honey samples analyzed. Many correlations were observed between color, antioxidants and antioxidant activities. Very highly significant correlations were observed between antioxidants and antioxidant activities ($r = 0.87$ between polyphenols and ABTS $r = 0.90$ between polyphenols / DPPH $r = 0.68$ between polyphenols / FRAP) same for color and the antioxidant ($r = 0.67$, $r = 0.76$ and $r = 0.57$ for total phenolics, flavonoids, ortho respectively). Taking into account these results, the honey is an important source of antioxidant and has many therapeutic effects.

Keywords : Honey, Biological properties, physico-chemical analysis, antioxidant activities.