

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

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Filière : Sciences Biologiques  
Option: Master en Biotechnologie Microbienne



Réf:.....

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

**MASTER**

***Thème***

Etude des activités antioxydantes et  
antibactériennes de certains miels de la  
région de Tizi Ouzou

Présenté par :

**Siad besma**

Soutenu le : **13 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme ARKOUB W.

M BOUKHALFA F.

Mme LAINCER F.

MCB

MAA

MAA

President

Encadreur

Examineur

**Année universitaire : 2014 / 2015**



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents Brahim et Akila que j'aime énormément.*

*L'amour et le respect que je leur porte reste pour moi primordiaux . Que ce travail leur apporte joie et fierté. Ce travail, fruit de leurs conseils et encouragements est le cadeau que je puisse leur offrir. Vous mes très chers parents, je vous dis  
merci.*

*A mes frères, Riad, Ramzi, Fahem et Anis, qui m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées au cours de mes années d'études avec leurs patiences et leurs encouragements.*

*A mes adorables amies : Nassima, souhila, Souad, et les autres.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation  
de ce Travail.*

*A tout les gents de ma promotion, enseignant et étudiants.*

*Besma*





## *Remerciements*

*En premier lieu, je remercie dieu le tout puissant pour son aide et pour m'avoir donné volonté, courage et patience.*

*j'adresse un vif remerciement à mon promoteur*

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

*Pour l'honneur qu'il m'a accordé en M' encadrant.*

*Ce travail témoigne de son confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.*

*Qu'il trouve ici l'expression de ma*

*Haute considération et ma*

*Profonde reconnaissance.*

*Mes remerciements s'adressent également à M<sup>me</sup> ARKOUB*

*d'avoir accepté de présider le jury et M<sup>me</sup> LAINCER*

*pour avoir accepté d'examiner*

*Cet humble travail.*

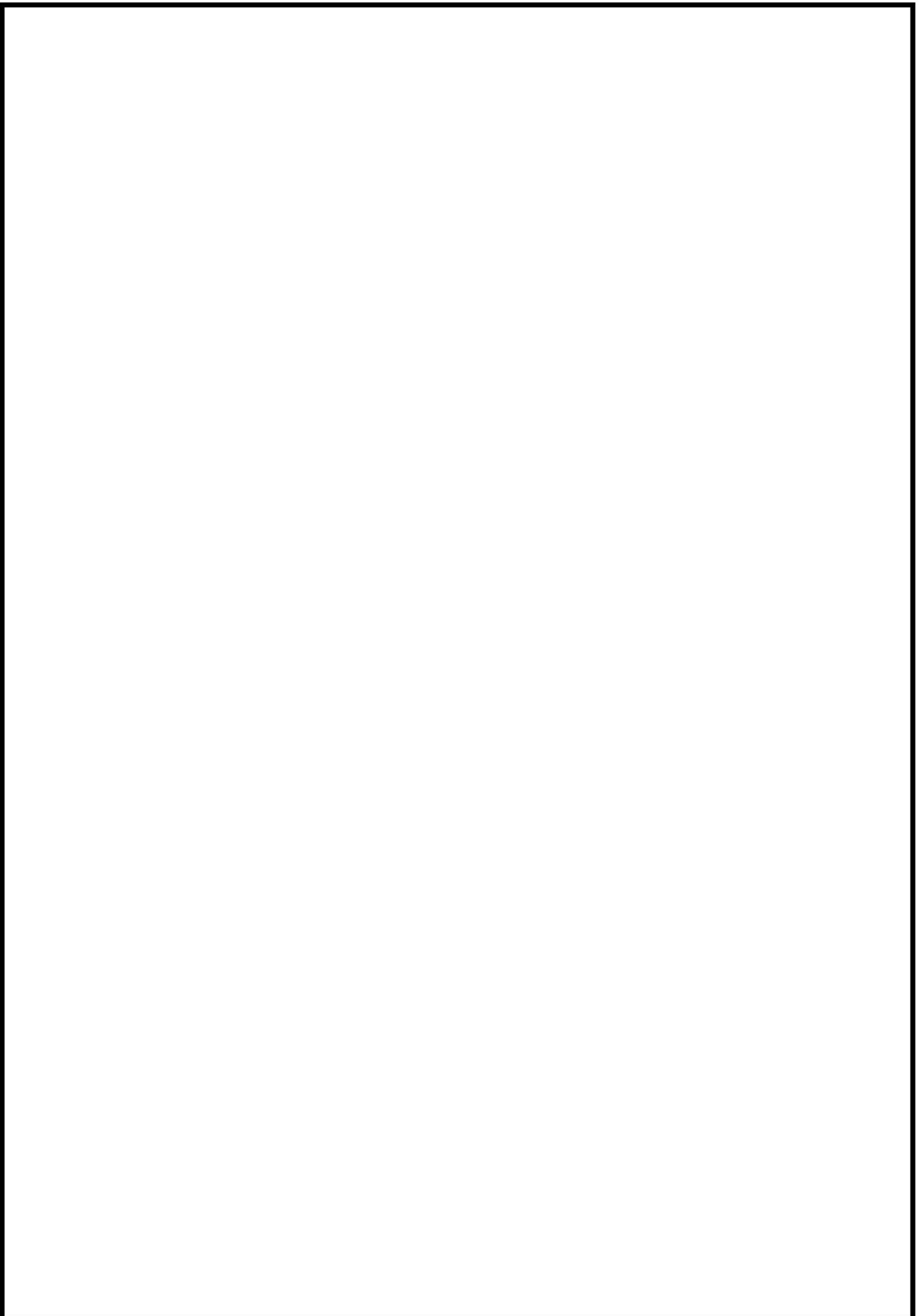
*Je tien aussi à remercier tout le personnels du laboratoire pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesse.*

*Un grand merci à toute personne ayant contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.*

*Merci*

*Besma*





# *Sommaire*

Liste des abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux

**Introduction..... 1**

## *Généralités sur le miel*

**I- Le miel.....3**

I-1 Composition de miel.....4

I-2 Propriétés du miel.....7

I-2.1 Valeur nutritionnelle .....7

I-2.2 Propriétés thérapeutiques.....7

I-3 Données économiques.....9

**II- Les molécules bioactives.....11**

II-1 Composés phénolique .....11

II-2 Flavonoïdes.....12

II-3 Tannins.....12

II-4 Vitamine C.....13

II-5 Oligo-éléments .....13

## *Matériel et méthode*

III-Matériel et expérimental.....15

III-1 Echantillonnage.....15

III-2 Extraction des Polyphenols.....15

III-3 Dosage des antioxydants.....16

III-3.1 Dosage Polyphénols totaux.....16

III-3.2 Dosage Flavonoïdes.....16

III-3.3 Dosage Anthocyanines.....	16
III-3.4 Dosage Caroténoïdes.....	17
III-3.5 Dosage Acide ascorbique (vitamine C).....	17
III-4 Détermination de l'activité anti-oxydante.....	18
III-4.1 Pouvoir réducteur.....	18
III-4.1.1 Réduction de chlorure ferrique.....	18
III-4.2 Neutralisation des radicaux libres.....	19
III-4.2.1 Inhibition du radical DPPH*.....	19
III-4.2.2 Inhibition du radicale ABTS* <sup>+</sup> .....	19
III-5 Etude de l'activité antibactérienne.....	20
III-5.1 Evaluation de l'activité antibactérienne (antibiogramme).....	20
III-5.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	21
III-6 Etude statistique.....	22

### ***Résultats et discussions***

IV-1 Dosage de antioxydants.....	23
IV-1.1 Dosage Polyphénols totaux.....	23
IV-1.2 Dosage Flavonoïdes.....	25
IV-1.3 Dosage Anthocyanines.....	26
IV-1.4 Dosage Caroténoïdes.....	27
IV-1.5 Dosage Acide ascorbique.....	29
IV-2 Evaluation des activités antioxydantes.....	30
IV-2.1 Pouvoir réducteur.....	30
IV-2.1.1 Réduction du chlorure ferrique(FeCl <sub>3</sub> ).....	30
IV-2.2 Pouvoir anti-radicalaire.....	32
IV-2.2.1 Pouvoir anti-radicalaire DPPH*.....	32
IV-2.2.2 Pouvoir anti-radicalaire ABTS* <sup>+</sup> .....	34
IV-3 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	35
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>

### *Références bibliographique*

### *Annexes*

## *Liste des abréviations*

**Abs:** Absorbance.

**°C:** degré Celsius

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

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

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

**E. .C:** Equivalent de  $\beta$ -Carotène.

***E. coli :*** *Escherichia coli*

**E.Q:** Equivalent de Quercétine

**HMF :**hydroxy- methyl -furfuraldehyde

**max:** maximum

**mg :** milligramme

**MH :** Muller Hinton

**min :** minimum

**ml :** millilitre

**pH :** potentiel d'hydrogène

**R<sup>2</sup> :** coefficient corrélation

***S. aureus :*** *Staphylococcus aureus*

**TCA :** acide trichloroacétique

**UFC:** Unité formant Colonies.

**µg:** microgramme

## *Liste des figures*

<b>Figure n° 1 :</b> Mécanisme de la transformation des sucres en HMF.....	6
<b>Figure n°2:</b> Echantillons de miel.....	15
<b>Figure n°3:</b> Teneur moyenne en polyphénols totaux des miels étudiés.....	23
<b>Figure n°4:</b> Teneur moyenne en flavonoïdes des miels étudiés.....	25
<b>Figure n°5:</b> Teneur moyenne en anthocyanine du miel étudié.....	26
<b>Figure n°6:</b> Teneur moyenne en caroténoïdes des miels étudiés.....	27
<b>Figure n°7:</b> Teneur moyenne en acide ascorbique des miels étudiés.....	29
<b>Figure n°8:</b> Pouvoir réducteur en FeCl <sub>3</sub> échantillons étudiés.....	31
<b>Figure n°9:</b> Pouvoir anti-radicalaire <i>vis-à-vis</i> DPPH* des miels étudiés .....	33
<b>Figure n°10:</b> Pouvoir anti-radicalaire <i>vis-à-vis</i> l'ABTS* <sup>+</sup> des miels.....	34
<b>Figure n°11:</b> Activité antibactérienne des échantillons étudiés <i>vis-à-vis</i> deux souches bactérienne.....	36

*Liste des tableaux*

**Tableau I :** Taux de production du miel des différentes communes et subdivisions de la Wilaya de Bejaia (Direction de l'Agriculture de Wilaya de Bejaia, 2011).....9

## **Introduction**

Le miel est un produit naturel qui a accompagné Homme depuis la plus haute antiquité. Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Le miel est une solution hautement concentrée en sucre, et qui renferme aussi une large gamme de composés nutritionnels (vitamines et oligo-éléments) et d'antioxydants tels que les polyphénols, les flavonoïdes, et les caroténoïdes (**Azeredo et al., 2003**).

Au-delà d'être un aliment simple avec une valeur énergétique très élevée, il est facilement assimilable, plusieurs vertus sont attribuées aux miels, et il a été employé dans l'ethnomédecine depuis les premiers humains, jusqu'aux temps les plus récents, dans le traitement des brûlures, des troubles gastro-intestinaux, de l'asthme, des blessures infectées et des ulcères de peau (**Al-Mamary et al., 2002 ; Lobreau-Callen et al., 1999**).

Face au problème posé par les résistances des microorganismes aux antibiotiques classiques, un besoin impérieux de renouvellement constant des principes actifs est soulevé et une recherche vers de nouvelles molécules subsistantes est lancée (**Mwambete, 2009**).

Ces molécules doivent posséder diverses autres propriétés chimiques et utiliser de nouveaux mécanismes d'action contre ces microbes pathogènes (**Mada et al., 2013**).

Plusieurs études se sont intéressées aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, et qui ne présentent pas généralement des effets secondaires, dont le miel compte parmi ces produits les plus convoités, en raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques (**Baltrusaityte et al., 2007; Badawy et al., 2004**).

L'aspect thérapeutique du miel est souvent attribué à ses propriétés antioxydantes et anti-microbiennes (**Kucuk et al., 2005**), qui résulte de la présence d'un éventail de molécules bioactives dont les poly-phénols, les caroténoïdes et certaines vitamines et également les enzymes (lysozymes) et les substances volatiles et aromatiques (**Bendahouet Hasnat, 2002**).

La composition du miel dépend essentiellement des sources florales et certains facteurs externes comme les facteurs environnementaux et les méthodes de traitement (**Terrab et al.,**

2003), dans ce contexte s'inscrit l'objectif de cette étude qu'est l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des six échantillons du miel naturel, récoltés dans différentes régions de la willaya de Tizi Ouzou *vis-à-vis* deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

Ce travail est scindé en deux parties, la première concerne l'étude théorique, elle traite les données bibliographiques sur le miel et leur différentes molécules bioactives, alors que la seconde est une étude pratique incluant matériel et méthodes et l'analyse interprétations des résultats obtenus. On termine par une conclusion générale.

## I-Le miel

Le miel est connu par l'homme depuis la nuit des temps. Utiliser dans la momification des pharaons et considéré comme source de vie chez les Egyptiens, il avait une importance majeure dans l'alimentation et la pharmacopée pour soigner les brûlures et morsures de serpent ou plaies en Afrique.

Plusieurs définitions existent sur le miel, mais la définition légale donnée par le Codex Alimentarius (**Norme adoptée en 1981, Révisions en 1987 et 2001**) est : « Le miel est la substance naturelle sucrée, produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes, ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs, laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche.

Il est également considéré comme un mélange complexe de composition éminemment variable suivant l'origine du produit et les plantes butinées par les abeilles (**Bogdanov, 1995**).

L'origine du miel, est importante vis-à-vis de l'évaluation de sa qualité par les consommateurs. Son origine botanique influence sur ses caractéristiques organoleptiques ainsi que son origine géographique (**Baroni et al., 2008**). Il existe deux grandes variétés de miel selon l'origine sécrétoire, soit à partir du nectar ou à partir du miellat recueilli sur les plantes. (**Meda, 2005**).

### ➤ Le miel du nectar

Le nectar, appelé aussi miel de fleur, est un suc ou une solution sucrée, sécrétée par une glande spéciale appelée nectaire, dont sa production dépend de l'âge, de la taille et de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'air, de la durée de floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et enfin du milieu environnant (**Meda, 2005 ; Sanz et al., 2005**).

Le nectar est composé essentiellement de sucres mais contient aussi d'autres composants tels que le chlorure de sodium, l'acide chlorhydrique...etc. (**Ohad et al., 2008**).

### ➤ Le miel du miellat

Le miellat est formé à partir d'excrétions d'insectes (pucerons, cochenilles) qui ont sucé la sève des plantes, dont les abeilles butineuses récoltent en léchant ce liquide brillant, visqueux qui

se trouve sur les feuilles des plantes en général, les aiguilles des conifères ou d'autres organes végétaux (**Bogdanov, 1995**).

La composition du miellat en minéraux s'étend de 0,1% à 1,0% dont le taux le plus élevé est ce lui du potassium, suivi par le calcium, le magnésium, le sodium, le soufre et le phosphore. Les oligoéléments incluent le fer, cuivre, zinc et manganèse (**Lachman et al., 2007**). Cette teneur qui lui confère une conductivité électrolytique plus élevée par rapport au miel de nectar.

Les miels monofloraux, provient principalement d'une seule fleur, ont des caractéristiques sensorielles physique et chimique spécifique (**Bogdanov, 1995**).

## I-1 Composition du miel

Le miel est un produit qui est constitué d'environ 200 substances, sa composition varie selon les différents types de plantes, du climat, des états environnementaux et de la contribution des apiculteurs (**Kûçûket al., 2005**). Le miel se compose des glucides (environ 79%), l'eau (environ 17%), et d'autres composants (environ 4%), qui incluent des minéraux, vitamines, acides organiques, protéines, acides aminés, alcaloïdes, phénols et d'autres (**Ohad et al., 2008**).

Le miel est non seulement un aliment mais on peut le considérer comme un médicament car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes et thérapeutiques). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (**Lobreau-Callen et al., 1999**). La composition du miel peut varier d'un miel à un autre mais en générale elle est stable pour un miel donné (**Annexe IX**).

### ➤ Eau

Le miel est un produit semi-liquide, l'eau représente approximativement 15-18% (**Fallico et al., 2004**). La teneur en eau influence sur la qualité et la conservation du miel. Les teneurs élevées en eau sont généralement causées par la récolte précoce et/ou le climat humide et sont à l'origine de la fermentation des miels (**Meda, 2005**).

La détérioration microbiologique peut avoir lieu lorsque la teneur en eau dépasse 21% par la masse à l'exception du miel de trèfle et de bruyère la valeur ne doit pas être plus de 23% (**Isengard et Schultheib, 2003**).

### ➤ Sucre

Le miel contient environ 80 à 85% de glucides, dont essentiellement le fructose (38,5%) et le glucose (31,3%). D'autres sucres, existent dans le miel comme le maltose (7,2%), le sucrose (1,5%) et une série d'oligosaccharides (4,2%) (**Meda, 2005 ; Shin et Ustunol, 2005**). La composition du miel en hydrate de carbone dépend de la source floral, un nombre d'entre eux tels que le fructose, le glucose, le sucrose, le contenu de maltose, et les rapports de glucose/eau ont été suggérés pour la caractérisation floral (**Shin et Ustunol, 2005**).

#### ➤ **Acides organiques**

Le miel contient plusieurs acides organiques, avec une teneur allant de 0,17 à 1,17%, ce qui donne au produit un pH bas de l'ordre de 3,9. Ces acides sont représentés le plus souvent par l'acide gluconique, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acide citrique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique. (**Shin et Ustunol, 2005**).

Les acides organiques peuvent être utilisées comme indicateurs de détérioration à cause du stockage, vieillissement ou même mesurer pureté et authenticité ainsi que la caractérisation des différents miels. Ils sont également considérés comme responsable de la saveur du miel (**Suarez-Luque et al., 2002**).

#### ➤ **Matières azotées**

Les substances azotées du miel sont en très faible quantité de l'ordre de 0,26%, dont représentées par des acides aminés libres et des protéines telles que les peptones, les albumines, les globulines et les nucléoprotéines. Parmi les acides aminés libres, l'acide glutamique, l'alanine, la glycine et la leucine sont pratiquement présents dans tous les miels, le tryptophane y est très souvent absent, alors que les autres acides aminés différents d'un miel à un autre (**Meda, 2005 ; Bogdanov et al., 2004**).

La proline est la plus importante acide aminé du miel et sa teneur donne des informations sur la maturité du miel et peut servir pour l'authentification du miel et détecter des falsifications et l'adultération (**Meda et al., 2005 ; Bogdanov et al., 2004 ; Paradkar et Irudayaraj, 2001**).

Plusieurs enzymes sont présentes dans le miel à savoir la diastase, l'invertase (glucosylase d'alpha), l'oxydase de glucose, la catalase et la phosphatase, dont l'origine le plus souvent est les sécrétions salivaires des abeilles ou issues du pollen. (**Persano Oddo et al., 1999**).

#### ➤ **Matières minérales (cendres)**

La composition minérale est liée à l'origine géographique et botanique, dont la teneur moyenne est d'environ 0,1%. (**Baroniet al., 2008 ; Bogdanov et al., 2004**). Cette teneur est



Le miel renferme entre 100 à 5000 grains de pollen par gramme de miel, dont chaque miel peut ainsi être déterminé précisément par sa composition pollinique qui est un outil très utilisé dans la répression des fraudes (**Jean-Prost, 2005**).

Le miel est relativement pauvre en vitamines. On peut trouver des vitamines du groupe B apportées par les grains de pollen en suspension dans le miel. Les vitamines A et D y sont virtuellement absentes et la vitamine C est présente en traces (**Jean-Prost, 2005 ; Meda, 2005**).

Les lipides du miel sont représentés par les stérols, les triglycérides et les acides gras.

## **I-2 Propriétés du miel**

### **I-2.1 Valeur nutritionnelle**

Le miel est un aliment simple, très assimilable, de valeur calorique importante soit 302Kcal pour 100g. Il est recommandé par les nutritionnistes au petit déjeuner où l'apport principal de calorie devrait être des glucides simple a fin de stimuler l'appétit (**Biri, 2003 ; Esti et al., 1996**).

A son action dynamogénique et stimulante du cœur très remarquable, le miel favorise l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme, qui sont deux minéraux essentiels au bon fonctionnement de notre organisme. En fin, le miel, grâce à ses nombreux enzymes, 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 (**Meda, 2005**). Il facilite la rétention du Ca, active l'ossification et la sortie des dents.

### **I-2.2 Propriétés thérapeutiques**

Le miel est très employé, depuis l'histoire, à des fins thérapeutiques (**Kûçûk et al., 2005**). Il est considéré comme un médicament pour ces propriétés préventives et même curatives à l'égard des maladies humaines et animales, vu son pouvoir d'entretenir, de restaurer, de corriger et même de modifier certains fonctions organiques (**Jean-Prost, 2005**).

Les études ont prouvés son efficacité pour les traitements de diverses maladies gastro-intestinales telles que les ulcères gastriques et la dysenterie. Il permet une cicatrisation plus rapide des tissus et stimule leurs régénérations en favorisant et facilitant l'épithélialisation de la plaie. (**Jean-Prost, 2005 ; Meda, 2005**).

Plusieurs travaux ont montrés que le miel stimule les capacités du système immunitaire en multipliant les lymphocytes B et T et en activant les neutrophiles (**Meda, 2005**). Il peut traiter aussi l'insomnie, les maux de gorge certains infections cardiaque, et augmente la teneur du sang en hémoglobuline ainsi la vigueur musculaire.

En usage externe, le miel active la guérison des brûlures, des infections rhinopharyngées, neuropsychique (**Jean-Prost, 2005**).

#### **a. Activité antioxydante du miel**

Le miel est un aliment très riche en antioxydant naturel tel que les caroténoïdes, les polyphénols, et certaines vitamines et oligominéraux, et aussi un système antioxydant enzymatique (**Ouchemoukh et al., 2007**). Ces antioxydants peuvent se diviser en deux :

- Les substances enzymatiques: la catalase, l'oxydase de glucose et la peroxydase
- Les substances non-enzymatiques : l'acide ascorbique, l'α-tocophérol, les caroténoïdes, les acides aminés, les protéines, les acides organiques, les Produits de réaction Maillard et plus de 150 composés poly phénoliques, y compris des flavonoïdes, acides phénoliques, catéchine, et dérivés acides cinnamiques (**Aires et al, 2009**).

#### **b. Activité antibactérienne du miel**

**Ketel (1892)** semble être le premier à rapporter l'activité antibactérienne du miel suivit par **Sackett** qui, a également montré, que son pouvoir antibactérien dépend d'une concentration (dilution) limitée de miel.

Une étude plus intensive réalisée par **Dold et al., (1937)**, ont présenté le terme « inhibine » pour désigner la dilution limitée de miel, responsable de l'activité antibactérienne. Cette activité est expliquée le plus souvent par un ensemble de substances et propriétés de miel (**Molan, 1992**), dont :

- **Acidité** : Le pH très bas permet de ralentir ou d'empêcher la croissance de beaucoup d'espèces de bactéries, mais cette acidité peut être neutralisée avec les dilutions avec les solutions des liquides corporels.
- **Osmolarité** : La teneur élevée en sucre du miel rend l'eau indisponible pour les micro-organismes d'où aucune bactérie ou mycète ne peut se développer en miel entièrement mûri. Le miel dilué devient, très proliférable par plusieurs d'espèces.
- **Peroxyde d'hydrogène** : L'enzyme d'oxydase de glucose produit du peroxyde d'hydrogène qui est généralement le facteur antibactérien principal en miel. Cette enzyme devient inactivée en chauffant le miel, ou en exposant à la lumière prolongée.
- **Autres composants** - les miels de quelques sources florales contiennent de diverses substances antibactériennes, vraisemblablement produites par certaines espèces des plantes, qui dans certains cas peuvent expliquer une grande partie de l'activité antibactérienne du miel (**Hyungjae et al., 2008 ; Iurlina et Fritz, 2005 ; Molan, 1992**).

Une activité antimicrobienne additionnelle pourrait être attribuée aux composés (protéiques) produits par les bactéries indigènes dans les estomacs d'abeille avant la maturation de miel (Hyungjae *et al*, 2008).

### I-3 Données économiques

En Algérie la production selon le président de la Fédération nationale des associations d'apiculteurs, Mr Lakehal Mahmoud la production atteindra les 100,000 tonnes à l'horizon 2015 à la faveur du programme de proximité de développement rural intégré (PPDRI), pour 2010 elle est estimée à 40,000 tonnes (DSA, 2011).

Selon Ouchemoukh *et al.*, (2007), Bejaia est parmi les producteurs importants du miel en Algérie, avec la production locale estimée à 85 tonnes en 2003; pour l'année 2008/2009 les estimations données par la direction de l'agriculture de Wilaya de Béjaia est de 123 000 Kg, elles sont données selon les différents secteurs dans le tableau suivant:

**Tableau I** Taux de production du miel des différentes communes et subdivisions de la Wilaya de Bejaia (Direction de l'Agriculture de Wilaya de Bejaia, 2011).

Communes Subdivisions Wilaya	Production d'essaims		Production du miel	
	Nombre de colonies mises	Nombre de colonies Production (Nbr)	Nombre de colonies mises	Miel (kg)
Adekar	200	226	2411	7996,8
Sidi- Aich	260	185	2794	9797,76
Seddouk	1990	1180	3960	17501,8
Akbou	316	1200	2053	9390,39
Tazmalt	0	340	260	10494



## II- Molécules bioactives

Un antioxydant est une substance qui peut retarder ou inhiber l'oxydation d'un substrat (**Pincemail et al., 1998**), réagissant rapidement avec les radicaux libres, molécules possédant un ou plusieurs électrons libres qui les rend très réactives (**Berthet et Costesec, 2006**) tel que les espèces oxygénées réactives ( $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^*$ ,  $\text{HO}^*$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}^*$ ), les peroxydes lipidiques, les ions métalliques (Cu, Fe) et certaines enzymes (Lipoxygénase, peroxydase) (**Berset, 1999**). Plusieurs études ont montrés qu'une augmentation de la consommation de fruit et légume est un bon moyen de se protéger contre le stress oxydatif. L'effet préventif de ces aliments résulte de la présence d'un éventail de molécules, dont les polyphénols, les caroténoïdes, certaines vitamines et oligo-éléments qui s'opposent à l'action néfaste de ces radicaux libres (**Knert et al., 2002**).

### II-1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des produits métaboliques secondaires, formés à partir de quelques acides aminés aromatiques tels que tryptophane, tyrosine, et phénylalanine et des sous-produits de leur métabolisme **Ladaniya (2008)**. Ils se reconnaissent à la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles, attachés à une structure aromatique et souvent liés à des glucosides (**Benbrook et Charles, 2005 ; Richter, 1993**).

#### ➤ Propriétés biologiques des polyphénols

L'effet bénéfique des composés phénoliques est attribué à leur activité antioxydante et à d'autres propriétés physiologiques (**Atmani, 2009**).

Les polyphénols s'adhèrent aussi, à la surface de la membrane plasmique et pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne, inactivant ainsi certaines enzymes telles que les perméases, qui sont impliquées dans le transport des substrats (aminoacides et des polysaccharides), ce qui peut entraîner une modification de la perméabilité cellulaire, induisant la lyse de la cellule bactérienne (**Lojkowska et Holubovska, 1992 ; Sousa et al., 2006**).

D'après **Rice-Evans et al., (1997)** les polyphénols sont des agents cardioprotecteurs et anticancéreux. Ils ont un effet sur le diabète, les maladies cardiovasculaires et neurologiques (**Del Caro et al., 2004**) et possèdent également des activités anti-inflammatoires et anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales (**Babar Ali et al., 2007**), anti allergènes et vasodilatatrices (**Falleh et al., 2008**). Enfin, ils contribuent à la diminution de l'oxydation du cholestérol dans les lipoprotéines à basse densité (LDL) (**Middleton et al., 2000**).

### II-2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires, possédant un squelette benzopyrone, constitué de deux cycles aromatiques (A et B), relié à un autre cycle pyrone (C) dans le cas de flavones, ou dihydropyrone dans le cas de flavanones (**Gattuso et al., 2007**). Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Milane, 2004**).

Les flavonoïdes sont présents dans les feuilles, les fleurs, pollen, et les fruits. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde **Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, et al., (1999)**.

Les flavonoïdes sont les plus actifs parmi les antioxydants végétaux alimentaires, ils occupent une place importante dans le domaine alimentaire, outre la coloration qu'ils confèrent aux denrées d'origine végétale **Ghedira. K, (2005) ; Zhu, (2007)**.

## II- Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques complexes largement répandus dans le régime alimentaire d'origine végétal obtenus à partir de la condensation des phénols simples **Makkar, (2003)**. Ils représentent des composés phénoliques secondaires connus essentiellement pour leur capacité de se lier et de précipiter les protéines et autres macromolécules **Hagerman et al, (1998)**.

(**Swain T, 1979**) a divisé les tannins en quatre groupes dont deux groupes principaux :

les tannins hydrolysés ; les tannins condensés (les proanthocyanidines) ; les oxytannins ; les beta-tannins et les prototannins.

Les deux principaux groupes, les tannins hydrolysés et les tannins condensés, sont largement distribués dans différentes familles de plantes vasculaires.

- **Tannins hydrolysés**

Ce groupe de tannins est constitué des formes désoxydées des acides phénoliques simples, comme l'acide gallique et sa forme dimère (gallotannin), l'acide éllagique (ellagitannin), qui s'agglomère avec le glucose (généralement avec D-glucose) (**Bruneton, 1999**).

- **Tannins condensés**

Les tannins condensés (proanthocyanidines) forment le groupe de tannins le plus important dans plusieurs espèces de plantes vasculaires **Swain.T, (1979)**. Ce sont des oligomères et polymères de flavan-3-ol (catechines) liés entre eux par des liaisons carbone **Bruneton, (1999)**.

Les tannins condensés les plus communément présents dans les plantes sont les

procyanidines, qui dérivent de catechines ou d'epicatechines pouvant contenir des esters d'acide gallique.

#### II-4 Vitamine C

L'antioxydant hydrosoluble majeur est L- acide ascorbique. Elle est facilement oxydé par l'O<sub>2</sub> en milieu neutre ou alcalin (Couplan F, 1998); (Berthet et Costesec, 2006), stable en milieu acide et très stable lorsqu'elle est séchée. Elle est thermosensible et subit une altération en contact avec les métaux et la lumière (Couplan, 1998). L'organisme humain incapable de la synthétiser et donc doit être apportée par l'alimentation Lee et al., (2004).

##### ➤ Propriétés biologiques de la vitamine C

Cette vitamine joue un rôle important dans la génération de la vitamine E et le glutathion, et possède aussi une action anti-infectieuse et antitoxique vis-à-vis des poisons chimiques et des toxines bactériennes. Elle participe dans la prévention des cancers et favorise l'absorption de fer et de calcium alimentaire (Couplan, 1998), ainsi que la protection contre l'oxydation des lipides (LDL-cholestérol) (Kitts, 1997).

#### II-5 Oligo-éléments

Les oligo-éléments font partie de la famille des minéraux (l'autre catégorie étant les macroéléments). Ce sont des éléments minéraux purs, nécessaires à l'organisme, en toute petite quantité ; c'est pourquoi on les nomme également « éléments traces ». Certains oligo-éléments ne peuvent être synthétisés par notre organisme, et doivent donc être puisés dans l'alimentation Ducros et Favier, (2004)

##### ➤ Propriétés biologiques des oligo-éléments

Certains éléments sont doués de plusieurs activités telles que l'activité antibactérienne (l'argent), anti-inflammatoire et anti-infectieux (l'or), et même antitoxique et hypotenseur (l'iode). Le brome est un sédatif du système nerveux. Le lithium est un équilibrant psychique. Le sélénium est un antioxydant, dont l'action est complémentaire de celle de la vitamine E dans l'élimination des radicaux libres (Couplan, 1998).

L'insuffisance diététique du sélénium est responsable d'une gamme de maladies, en particulier les myopathies « de muscle blanc » et cardiomyopathies « de cœur de mûre » de plusieurs animaux de ferme, de même chez les humains, deux maladies sont associées à des niveaux bas de la consommation diététique (Rice-Evans, 1997).

Le zinc a un rôle d'antioxydant en intervenant par différents mécanismes. Il joue notamment un rôle structural d'une enzyme, le superoxyde dismutase, qui intervient dans la lutte contre les radicaux libres (**Gervaise, 2004**).

### III-Matériel expérimental

#### III-1 Echantillonnage

Notre étude est réalisée sur les échantillons de miel, au nombre de six offerts par les apiculteurs. Ces échantillons ont été récoltés durant le mois de juillet de l'année 2014, d'une manière aléatoire, dans différents régions de La wilaya de Tizi ousou (Figure n°2). Ces échantillons se diffèrent entre eux par la couleur et aussi par la composition florale de la région de récolte.

L'extraction du miel à partir des cadres de cire, provenant de ruches traditionnelle est effectuée manuellement (pression).



**Figure n° 2** : Echantillons de miel

#### III-2 Extraction des polyphénols

L'extraction des antioxydants du miel étudié est réalisée selon la méthode décrite par (Al-Farsiet *al.* (2005), légèrement modifiée par Heinonen et *al.* (1998) en utilisant l'éthanol (80%) comme solvant d'extraction.

Une prise d'essai du miel (1g) est mise en contact avec 7ml de solvant d'extraction (éthanol 80%). Après une agitation mécanique durant 60 minutes à l'abri de la lumière, le miel est filtré, et le filtrat subit deux autres extractions dans la même condition jusqu'à l'obtention d'une couleur plus au moins transparente. Les filtrats ainsi récupérés sont additionnés, et conservés en congélateur.

### III-3 Dosage des antioxydants

#### III-3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénolique totaux des échantillons du miel étudiés est déterminé selon la méthode décrite par **(Wilferd et al., 2006)**.

Les 500ul d'extrait sont additionnées à (1,5 ml) de réactif de Folin-Ciocalteu (dilue dix fois), auquel un volume de (1,5 ml) de carbonate de sodium (60g/l) est ajouté après cinq minutes. Après une incubation de 90mn à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 725 nm.

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

#### III-3.2 Dosage des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des échantillons du miel étudiés est évaluée selon la méthode décrite par **Ordenez et al. (2006)**.

Pour 1,5 ml d'extrait sont ajoutées 1,5 ml de chlorure d'aluminium (2%) après une heure d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 420 nm.

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

#### III-3.3 Dosage des anthocyanines

La teneur en anthocyanine est déterminée selon la méthode décrite par **Lako et al., (2007)**, légèrement modifiée en utilisant les tampons de chlorure (pH=1 ; 0,25M) et d'acétate (pH=4,5 ; 0,4M).

Une quantité de miel 2g est mélangée avec 10ml d'eau distillée, l'égerment acidifiée avec l'acide chlorhydrique (0,1N). Après 15minutes d'agitation, le mélange est filtré, le résidu subit une deuxième extraction dans les mêmes conditions. Les filtrats additionnés, sont centrifugés à 1500g pendant 10minutes.

Deux tubes à essai, contenant chacun 1ml d'extrait, sont ajoutés 8ml de tampon (pH=1,0) pour le premier et 8ml tampon (pH=4,5) pour le deuxième tube, et l'absorbance est mesurée à 510nm et à 700nm pour chacun.

Les teneurs en anthocyanines, exprimées en mg d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100g de produite, sont calculées selon la formule suivante :

$$\text{Anthocyanine (mg/100g)} = \frac{\text{Abs} \times \text{MM} \times \text{FD} \times (\text{V/P}) \times 100}{\epsilon \times \text{L}}$$

Avec :

**Abs:** absorbance à 510nm. **L:** Trajet optique cm.

**FD:** Facteur de dilution. **P:** Masse de l'échantillon (mg).

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

**MM:** Poids moléculaire de cyanidines-3-glucoside(449.2g/mol).

**$\epsilon$ :** Coefficient d'absorbance molaire de la cyanidines-3-glucoside (26900)  $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

### III-3.4 Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par **Zamora et al. (2005)**, qui consiste à extraire les caroténoïdes, à l'abri de la lumière, en homogénéisant 5g du miel avec 30ml d'un mélange de solvants (hexane, acétone, méthanol, toluène : 10 : 7 : 6 : 7) pendant 15 minutes.

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

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

### III-3.5 Dosage de l'acide ascorbique (vitamine C)

La teneur en acide ascorbique des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode de **Klein et Perry (1982)**, légèrement modifiée où le solvant d'extraction l'acide métaphosphorique (1%) est remplacé par l'acide oxalique (0,4%).

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

Pour 500µl de filtrat, sont ajoutés 2,5ml du réactif 2.6 dichlorophenol-indophénol (DCPIP), qui permet d'oxyder la vitamine C en milieu acide. La solution de DCPIP, de couleur bleue, devient rose après réduction (**Ball, 1997**) et l'absorbance est mesurée à 515 nm.

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

### III-4 Détermination de l'activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante des échantillons du miel étudiés est déterminée selon deux méthodes. La première est l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques (fer ferrique en fer ferreux). La deuxième évalue le pouvoir anti-radicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation d'un radical (DPPH\* et ABTS\*+) par les antioxydants présents dans l'échantillon du miel.

#### III-4.1 Pouvoir réducteur

##### III-4.1.1 Réduction de chlorure ferrique

La réduction de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par (**Lim et al., 2006**).

Pour 1ml d'extrait sont ajoutés 1ml de tampon phosphate (0,2M ; pH =6,6) et 2,5ml de Ferrocyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 30 mn dans un bain marié, 1,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés, et le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 20min.

En suite, 1,5ml du surnageant sont additionnés de 1,5ml d'eau distillé et 0,5 ml de Chlorure ferrique(0,1), l'absorbance est mesurée à 700 nm après 10mn.

Des courbes d'étalonnage ont été établies avec des standards (l'acide ascorbique et la BHA) dans la même condition opératoire que les échantillons (**Annexe II**).

### III-4.2 Neutralisation des radicaux libres

#### III-4.2.1 Inhibition du radical DPPH\*

Le pouvoir anti-radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH\*, des échantillons du miel étudiés est évalué selon la méthode décrite par **Brand-Williams et al., (1995)**, légèrement modifiée par **Lim et al., (2006)**.

Pour 500 µl d'extrait, 2 ml de DPPH sont ajoutées. Après une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 515 nm.

L'évaluation de l'inhibition du radical DPPH\* par rapport à la concentration de standard (la quercétine) est réalisée dans les mêmes conditions. (**Annexe II**).

Le pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis le DPPH\* est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical, selon la formule suivante :

$$PI\% = \left[ 1 - \left( \frac{Abs_{Ech}}{Abs_T} \right) \right] \times 100$$

D'où :

**Abs Témoin** : Absorbance du témoin après 30 minutes à 517 nm.

**Abs Extrait** : Absorbance de l'extrait après 30 minutes à 517 nm.

#### III-4.2.2 Inhibition du radical ABTS\*<sup>+</sup>

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS\*<sup>+</sup> par les échantillons du miel étudiés est évalué selon la méthode décrite par **Reet al., (1998)**, qui consiste à additionner 2 ml de la solution d'ABTS\*<sup>+</sup> ( $A_{734nm} = 0,700 \pm 0,020$ ) à 20 µl de l'extrait.

La lecture de l'absorbance est mesurée, à partir de la première minute pendant 6 minutes, à 734 nm.

L'évaluation d'inhibition du radical ABTS\*<sup>+</sup> Par rapport aux concentrations des standards (Acide gallique et quercétine) est réalisée dans les mêmes conditions (III).

$$PI\% = \left[ \frac{(Abs_{\text{Contrôle}} - Abs_{\text{Extrait}})}{Abs_{\text{Contrôle}}} \right] \times 100$$

D'où :

**Abs** Contrôle : Absorbance du témoin

**Abs** Extrait : Absorbance de l'extrait

### III-5 Etude de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des échantillons de miel étudiée, on procède à la technique des disques en papier vis-à-vis des deux souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*). Ces dernières sont à l'origine d'une collection du laboratoire de microbiologie appliqué de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia. Ces souches sont repiquées quotidiennement dans des bouillons nutritifs pour des utilisations ultérieures.

Le choix des souches bactériennes a été effectué sur la base de la recherche bibliographique sur leurs fréquences élevées a contaminées les denrées alimentaires et de leur pathogénicité.

#### III-5.1 Evaluation de l'activité antibactérienne (antibiogramme)

L'activité antibactérienne des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par **Baydar et al., (2004)**. Ce test est effectué par la méthode de diffusion de disque ou les disques sont imbibés de chaque échantillon.

Des suspensions bactériennes d'une densité optique de 0,5 Mc Ferland ( $10^5$ UFC/ml) ont été préparées à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures).

Une dilution de  $10^{-5}$  a été préparée à partir des souches mères de  $10^5$ UFC/ml obtenus après standardisation, et un volume 1ml de chaque souche a étéensemencé par inondation dans les boîtes de pétri coulées de milieu gélosé Muller Hinton à une épaisseur de 4mm. L'excès est récupéré à l'aide d'une micropipette, et les boîtes sont mises à sécher pendant 15 minutes.

Des disques en papier wattman, (5 mm de diamètre) stériles sont imprégnés avec un volume de 20µl de chaque échantillon et les disques témoins sont imprégnés dans l'eau distillée représentent les témoins négatifs. A l'aide d'une pince les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencés (étalée) par une suspension microbienne d'une densité optique de 0,5 Mc Ferland.

Les boîtes de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4 °C pendant trois heures pour une pré-diffusion (**Bansmir et al.,2006**).

Après 18 à 24 heures d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en mm et noté. Les mesures peuvent être prises avec une règle sur le fond de la boîte sans enlever le couvercle. Les échantillons de miel inhibent le développement microbien. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

### III-5.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La concentration minimale inhibitrice CMI est définie comme étant la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne après 18 à 24 heures d'incubation (**Caque, 2004**). La CMI des extraits des miels des souches cibles est déterminée par la méthode de diffusion de disque

Sur des boîtes contenant le milieu gélosé Muller-Hinton sur une épaisseur de 4 mm , on procède à l'ensemencement en surface par inondation de 1ml de l'inoculum à raison de 10<sup>5</sup>UFC/ml et l'excès est récupéré à l'aide d'une micropipette et rejeté dans un bac d'eau de javel, et les boîtes sont mises à sécher pendant 15 minutes.

Les disques d'antibiogrammes dont le diamètre est de 5 mm sont imprégnés dans de dilutions (7,5g/ml et de 5g/ml et 2,5g/ml), avec un volume de 20µl de chaque extrait de miel et les disques témoins sont imprégnés dans l'eau distillée. A aide d'une pince les disques sont disposés à la surface d'un milieu ensemencés (étalée) par une suspension bacterienne d'une densité optique de 0,5 Mc Ferland.

Les boîtes de pétri sont mises au réfrigérateur à 4 °C pendant trois heures pour une pré-diffusion (**Bansmir et al.,2006**).

Après 18 à 24 heures d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en mm et noté. Les mesures peuvent être prises avec une règle sur le fond de la boîte sans enlever le

couvercle. Les échantillons de miel inhibent le développement microbien. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible

### **III-6 Etude statistique**

Une étude statistique des résultats obtenus est effectuée dans le but de la mise en évidence des différences significatives entre les résultats de chaque échantillon à l'aide du logiciel STATISTICA (comparaison post Hoc, test LSD). Pour l'analyse de la variance a un seul critère de classification (ANOVA), dont le degré de signification des données est pris à la probabilité de  $P < 0,05$ .

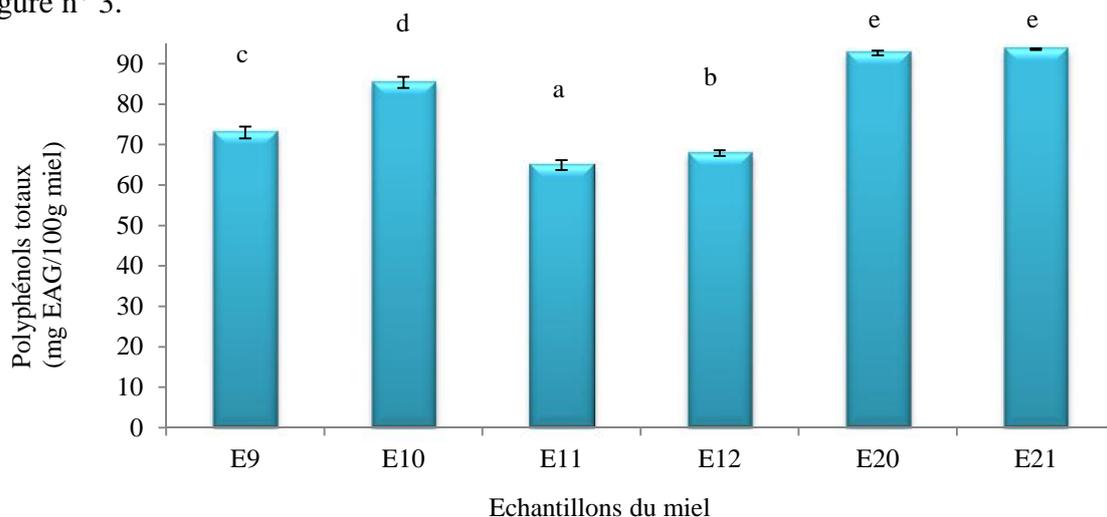
## IV-Résultats et discussion

### IV-1 Dosage des antioxydants

#### IV-1.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de différents types de miel est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu. Les composés phénoliques réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu [mélange de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ), et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ )], en donnant une coloration bleue proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968 ;Lapornik et al., 2005).

Les résultats de dosage des polyphénols des échantillons de miels étudiés, exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par 100g d'échantillon (mg E.A.G/100g) en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n° 3.



**Figure n°3 :** Teneur moyenne en polyphénols totaux des miels étudiés

Les valeurs représentent la moyenne (n 3)  
 Les barres verticales représentent les écart-types.  
 e>d>c>b>a: représentent les différences significatives (p<0,05)

Les résultats de cette figure(3), montrent que la teneur en composés phénoliques des miels étudiés varie de 64,91(E11) à 93,59(E21) mg d'E.A.G/100g d'échantillons. Le miel (E21) est considéré le plus riche en polyphénols, suivie respectivement par les miels de E20(92,65), E10(85,37), E9(73,01), E12(67,88) et de E11(64,91).

L'étude statistique montre l'existence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en polyphénols totaux des six échantillons du miel étudiés. Cependant, les échantillons du miel (E20) et (E21) ne présentent aucune différence significative.

Les résultats de la présente étude sont très proches de celles en effet, de la bibliographie. **Mouhoubi (2007)**, a rapporté des teneurs comprises entre 65,76 et 130,96 mg EAG/100g. Tandis que **AL-Mamary et al. (2002)** ont trouvés des taux en composés phénoliques de miel variant de 56,32 à 246,21 mg EAG/100g.

Certains auteurs, par contre, rapportent des valeurs plus importantes que ceux de la présente étude. Ces valeurs sont oscillent de 64 à 1304mg GAE/100 g pour les miels Algériens (**Ouchemoukh et al., 2007**), et de 64 à 1304 mg GAE/100 pour les miels de Slovènes (**Bertoncelj et al., 2007**).

Les miels foncés présentent des teneurs élevées en composés phénoliques (**Blasa et al., 2006**). En effet, ceci est constaté dans la présente étude. Le miel (E21) qui est le plus sombre contient la plus forte concentration en composé phénolique, alors que le miel (E11) ayant une couleur plus claire, renferme la quantité la plus faible.

Des études récentes ont montré que la concentration et le type de substances phénoliques dépendent de l'origine florale du miel ; ils sont les principaux facteurs responsables pour les activités biologiques de miel (**Al-Mamary et al., 2002 ; Wei et Zhirong, 2003**).

La détermination de la teneur en composés phénoliques totaux est également considérée comme une méthode prometteuse d'étudier les origines florales du miel. Il est recueilli à partir de l'origine botanique et géographique qui affecte la concentration en composés phénoliques, la distribution de pollen et l'activité antioxydante du miel (**Alvarez-Suarez et al., 2009**).

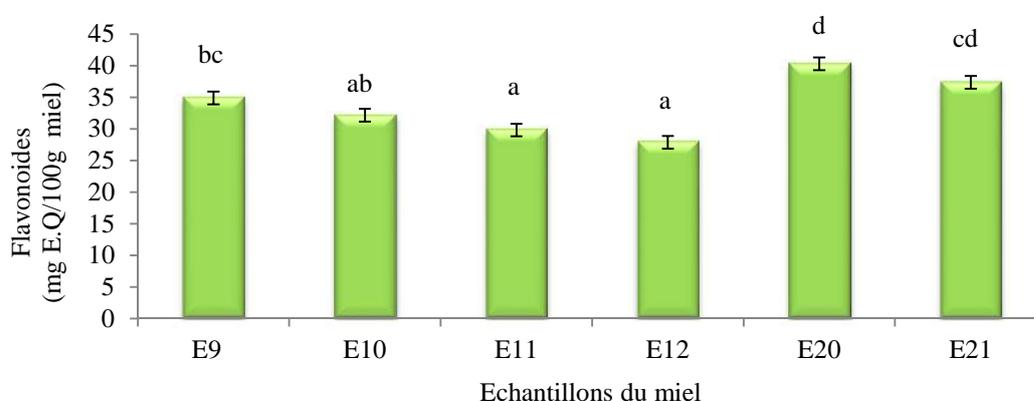
D'après **Anklam (1998)**, la variation de la teneur en polyphénols pourrait être due à l'origine géographique du miel et climatique spécifique et la flore végétales de la région.

Les techniques et les analyses expérimentales influent sur les résultats des teneurs en composée phénoliques des échantillons (**Zalibera, 2008**), comme la teneur de quelques composées phénoliques peut augmenter sous l'effet de l'intensité du rayonnement UV, l'infection par des microbes pathogènes et les parasites, et aussi les variations des températures (**Nacz et Shahidi, 2006**).

## II-1.2 Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits du miel est déterminée par une méthode colorimétrique basée sur la formation de complexe flavonoïdes-métaux, tel que l'aluminium apporté sous forme de chlorure ( $AlCl_3$ ), qui forme un complexe jaunâtre avec les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Ribereau-Gayon.,1986**).

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des miels étudiés, exprimées en mg d'équivalent de quercétine (E.Q/100g) en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n°4.



**Figure n°4:** Teneur moyenne en flavonoïdes des miels étudiés

Les valeurs représentent la moyenne ( $n = 3$ )  
 Les barres verticales représentent les écart-types.  
 $d > cd > bc > ab > a$  : représentent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).

Les résultats de la figure 4, montrent que la teneur en flavonoïdes des miels étudiés varie de 27,86 à 40,28mg d'EQ /100g. L'échantillon de miel (E20) est considéré le plus riche, suivie respectivement par les miels de E21(37,35), E9 (34,87), E10(32,15) et E11(29,81). Le miel (E12) est considéré le plus pauvre en flavonoïdes avec une teneur d'environ de 27,86mg/EQ.

L'étude statistique montre l'existence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en flavonoïdes des six échantillons du miel étudiés, à l'exception des échantillons (E11, E12) qui ne présentent aucune différence significative entre eux.

**Socha et al.,(2009)**, rapportent des teneurs en flavonoïdes oscillent de 6,9 à 28,5mgd'E.Q/100g de miel. Ces concentrations sont inférieures à celles de la présente étude, ceci

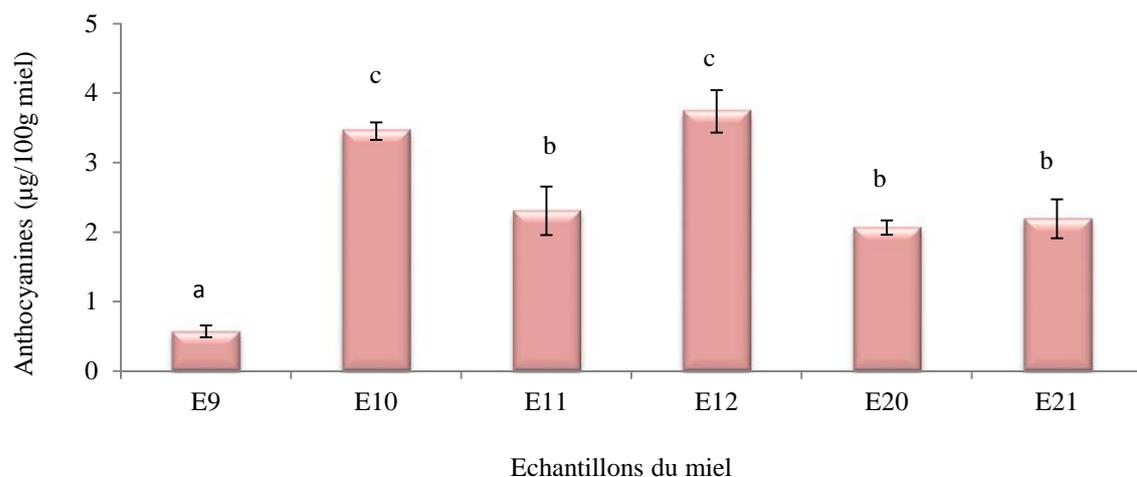
peut être due à plusieurs facteurs tels que; l'origine florale, la situation géographiques aussi bien que par le climat (Sladana et al.,2011;Lianda et al.,2012).

La quantité et le type de flavonoïdes du miel varient selon la source forale. Les miels les plus foncés, comme ceux issus du tournesol et du sarrasin, contiennent des quantités de flavonoïdes supérieure aux miels plus pales (Medic et al.,2004).

### II-1.3 Les anthocyanines

Les anthocyanes ou les pigments des fleurs et des fruits, sont déterminés selon la méthode de pH différentielle basant sur le fait que la structure des anthocyanes subit une transformation réversible lors d'un changement de pH et qui se manifeste par des spectres d'absorption différents( Giusti etWrolstad,2001).

Les teneurs en anthocyanines, des miels étudiés, obtenues exprimées en mg d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100 g de l'échantillon, sont représentées dans la figure n°5.



**Figure n°5 :** Teneur moyenne en anthocyanine des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne (n 3)  
 Les barres verticales représentent les écart-types.  
 c>b a: représentent les différences significatives (p<0,05).

D'après les résultats de la présente étude, les teneurs en anthocyanines des différents miels étudiés varient de 0,57 à 3,73 µg d'équivalent cyanidines-3-glucoside/100g.

Le miel E12 (3,73 $\mu$ g) est considéré comme le plus riche suivie respectivement par les échantillons E10 (3,45), E11(2,30), E21(2,18), E20(2,06) et E9(0,57).L'échantillon du miel E9 est considéré comme le plus pauvre en anthocyanines.

L'étude statistique montre l'existence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en anthocyanines des échantillons du miel étudiés. Cependant aucune différence significative entre les teneurs en anthocyanines des miels E11, E20, E21, et de même pour les échantillons E10, E12 entre eux.

Les anthocyanines sont des composés très sensibles, et plusieurs facteurs (la température élevée, le pH, la lumière, la structure et la concentration des anthocyanines) peuvent les déstabiliser (Laleh et al., 2006).

## II-1.4 Caroténoïdes

Les caroténoïdes contiennent dans leurs structures plusieurs doubles liaisons conjuguées, qui sont responsables de l'absorption de la lumière par excitation des liaisons (Rodriguez-Amaya,2001).

Les résultats du dosage des caroténoïdes obtenus, exprimé en  $\mu$ g d'équivalent de  $\beta$ -carotène/100 g en se référant à la courbe d'étalonnages réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n°6.

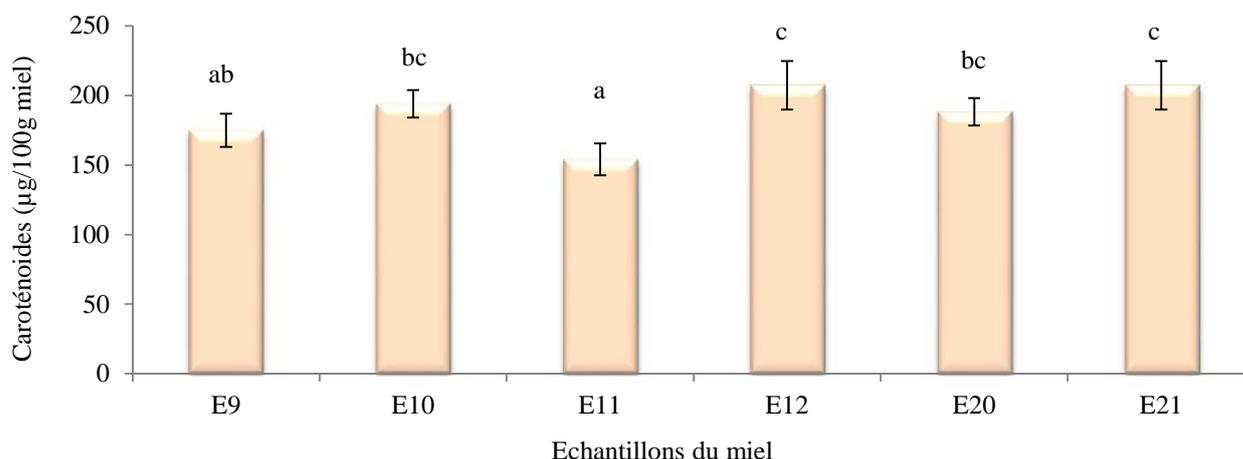


Figure n°6 : Teneur moyenne en caroténoïdes des miels étudiés

Les valeurs représentent la moyenne (n 3)  
 Les barres verticales représentent les écart-types.  
 c>bc ab>a : représentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ).

Les résultats de la présente étude, montre que la teneur en caroténoïde des miels étudiés varie de 153,99 à 207,22  $\mu\text{g}$  d'E. /100 g de miel, dont les miels E21, E12 sont considérés les plus riches, suivie respectivement par les échantillons du miel E10 (193,91 $\mu\text{g}$ ), E20 (188,21 $\mu\text{g}$ ) et E9 (174,90 $\mu\text{g}$ ). L'échantillon E11 (153,99 $\mu\text{g}$ ) est considéré le plus pauvre en caroténoïdes.

L'étude statistique montre l'existence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en anthocyanines des échantillons du miel étudiés. Cependant, pas de différence significative enregistrée entre les couples d'échantillons (E10, E20) et (E12, E21).

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

Les teneurs en caroténoïdes rapportés par **Aires et al., (2009)** 93 à 950  $\mu\text{g}/100\text{g}$  du miel.

Les teneurs de la présente étude sont différentes de celle rapportées par la bibliographie, et ceci peuvent être attribuées à plusieurs facteurs dont les méthodes d'extraction et d'analyse, l'origine géographique (taux d'ensoleillement), la source florale, le caractère génétique, le degré de maturité et les conditions de stockage (**Alvarez-Suarez et al., 2010**).

La littérature rapporte que le miel possède une teneur faible en caroténoïdes (**Gonnet, 1982**). Ceci est confirmé par les résultats de cette étude sur six les échantillons de miels.

L'extraction lente des caroténoïdes ainsi que l'exposition à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées et aux métaux pro-oxydants, tels que le fer ou le cuivre, provoque des pertes de caroténoïde pendant le procédé d'extraction (**DeQuiro, 2006**).

La saponification provoque des pertes, particulières des caroténoïdes plus polaires tels que la lutéine, la violaxanthine et la neoxanthine (**Niizu, 2004**).

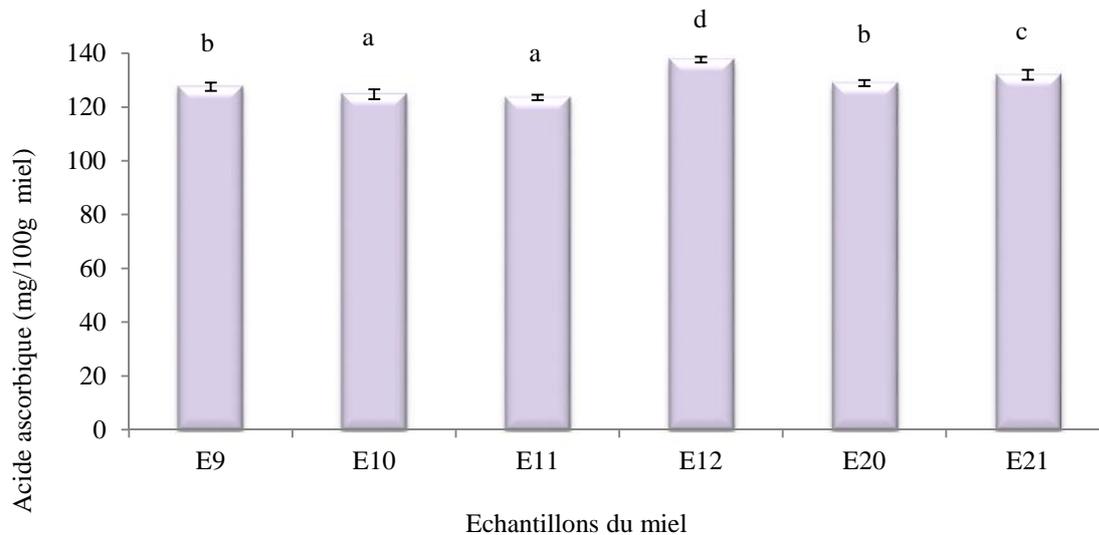
De nombreux facteurs affectent la composition des caroténoïdes tels que les différences environnementales (**Martinez et al., 2007 ; Dutta, 2005 ; Mercadante, 2003**)

### II-1.5 Acide ascorbique

Le DCPIP permet l'oxydation de la vitamine C en milieu acide, qui est coloré sous sa forme oxydé en bleu et devient rose après réduction de cette molécule (**Ball, 1997**). Selon la réaction suivante :



Les teneurs en acide ascorbique obtenus, exprimé en mg d'équivalent d'acide ascorbique(E.A.Asc/100g) de miel en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n°7.



**Figure n°7:** Teneur moyenne en acide ascorbique des miels étudiés

Les valeurs représentent la moyenne (n = 3)

Les barres verticales représentent les écart-types.

d > c b > a : représentent les différences significatives (p < 0,05).

Les résultats de la présente étude, montre que les teneurs en vitamine C du miel étudiés sont de l'ordre de 123,57 à 137,67mg d'E.A Ascorbique/100g de miel. L'échantillon du miel de(E11) est considéré comme le plus pauvre en acide ascorbique.

L'étude statistique montre l'existence d'une différence significative (p < 0,05) entre les teneurs en acide ascorbique des six échantillons étudiés. Cependant, pas de différence significative entre les couples d'échantillons (E10, E11) et (E20, E9).

Selon **Ferreira et al.,(2009)**, la teneur en vitamine C retrouvé dans le miel est d'environ de14, 001mg/100gd'échantillon.

## **IV.2 Evaluation des activités antioxydantes**

L'activité antioxydante des différents échantillons de miels étudiés est évaluée selon deux principes. Le premier, regroupe le test de la réduction de chlorure ferrique, qui mesure la capacité antioxydante ou le pouvoir réducteur. Le deuxième, inclut les tests scavenger vis-à-vis le radicale DPPH\*et le radical cationique ABTS\*<sup>+</sup>, qui mesurent le pouvoir anti-radicalaire des différentes substances présentes dans les extraits.

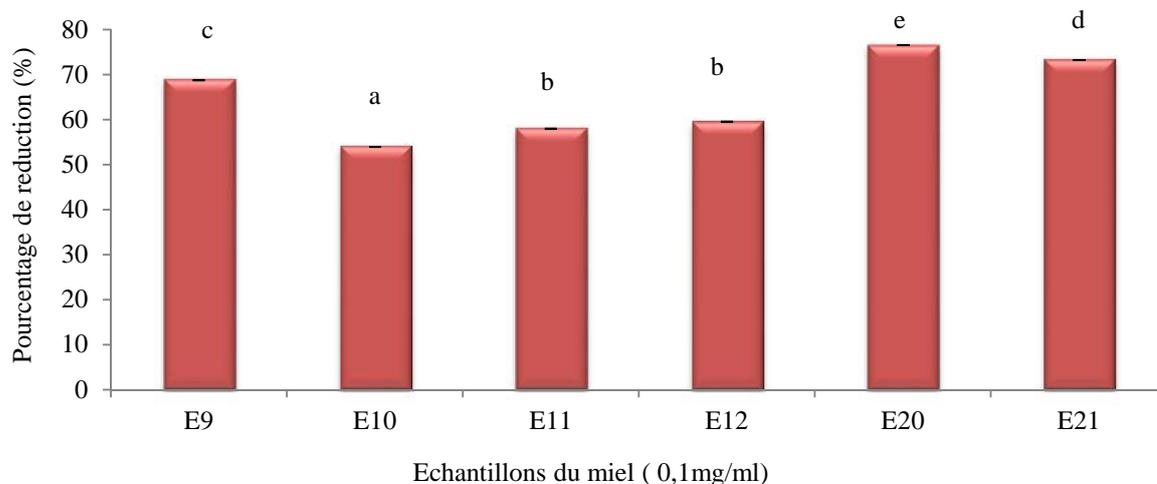
### **IV-2.1 Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur mesure la capacité qu'à un antioxydant présent dans un extrait à donner un électron qui peut servir comme indicateur du potentiel de l'activité antioxydante. Le Pouvoir réducteur peut être évalué par plusieurs tests à savoir la réduction de chlorure ferrique (Sousa *et al.*,2008; Sahreen *et al.*,2010).

#### **IV-2.1.1 Réduction du chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) dans un milieu acidifié par le TCA. La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Odabasoglu *et al.*,2004).

Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des échantillons des miels étudiés, sont représentés dans la figure n°8.



**Figure n°8:** Pouvoir réducteur en  $FeCl_3$  des échantillons étudiés

Les valeurs représentent la moyenne (n = 3)

Les barres verticales représentent les écart-types.

e > d > c > b > a : représentent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).

D'après les résultats de la présente étude, pour une concentration de 0,1mg/ml, le pouvoir réducteur des échantillons des miels étudiés varie de 53,95% à 76,48%. Le miel (E20) présente le meilleur pouvoir réducteur avec un taux de réduction d'environ 76,48% suivi respectivement par les échantillons du miel E21 (73,07%) et E9 (68,74%) et E12 (59,51%) et E11 (57,95%) et de E10 (53,95%), équivalant à ceux de BHA (0,08mg/ml), et de d'acide Ascorbique (0,06mg/ml) (**Annexe II**).

La majorité des échantillons enregistrent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Cependant aucune différence significative n'existe entre les échantillons E 11 et E12.

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage de réduction de  $FeCl_3$  avec les teneurs ; en composés phénoliques ( $r=0,596$ ), en flavonoïdes ( $r=0,874$ ) et avec les teneurs en anthocyanines ( $r=0,596$ ) (**Annexe III**).

La variation de l'activité antioxydante des échantillons est attribuée aux origines botaniques, à la présence de maints agents antioxydants tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les vitamines C et E, qui possèdent des effets antioxydants variés (**Al-Mamary et al., 2002 ;küçük et al., 2007**).

**Beretta et al. (2005)** et **Blasa et al.(2007)** ont montré que la variation de l'activité antioxydante est due à la qualité et à la quantité des composés phénoliques responsables de cette activité.

L'activité antioxydante peut être affectée par de nombreux facteurs. La structure des composés phénoliques en particulier les degrés et la position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule (**Balasantam et al.,2005 ; Scherer et gody,2009**)

Le type de solvant et sa polarité sont des aspects clé dans la mesure de la capacité antioxydante (**Çam et al.,2009**).

## **II-2.2 Pouvoir anti-radicalaire**

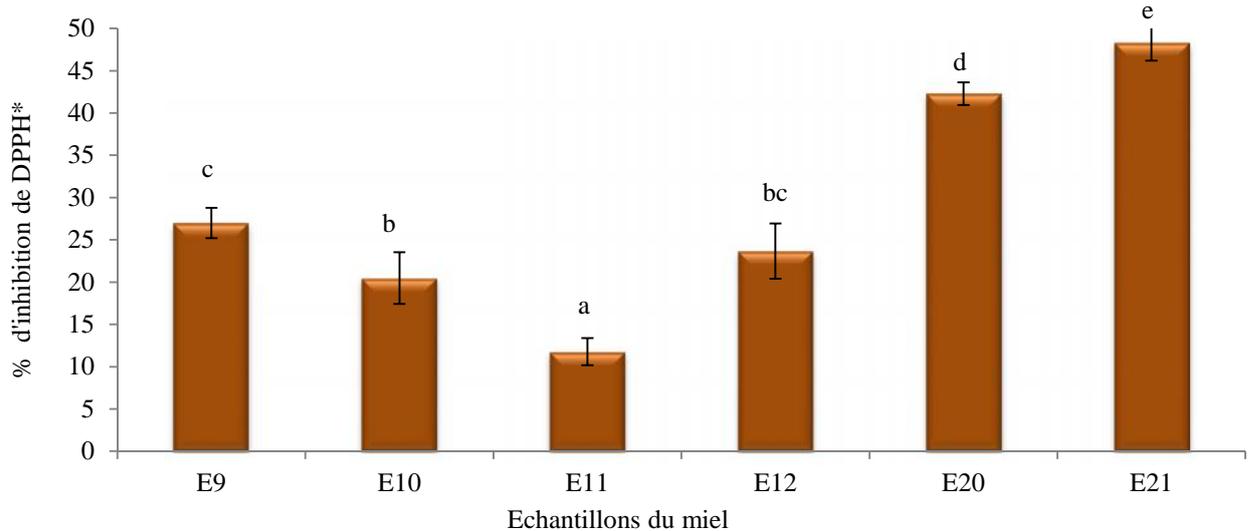
### **II-2.2.1 Pouvoir anti-radicalaire DPPH\***

Le DPPH\* (2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl) est caractérisé par une couleur violette .En Présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH\*est réduit en sa forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine) .Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction du DPPH\* (**Lee et al.,1986**).

Le radical DPPH\* est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al.,2008**).

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH\* à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans l'échantillon (**Maisuthisakul et al.,2007;DaSilva et al.,2008**).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH\*, par les échantillons des miels étudiés, est représenté dans la figure n°9.



**Figure n°9:** Pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis DPPH\* des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne (n 3)

Les barres verticales représentent les écart-types.

$e > d > c > bc > b > a$  : représentent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).

D'après les résultats obtenus, le pouvoir anti-radicalaire des échantillons de miel étudié vis-à-vis le radical DPPH\* varié de 11,77% (E11) à 48,25% (E21) pour une concentration 0,1mg/ml, dont le miel (E21) présent le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec un taux d'inhibition d'environ 48,25 %, équivalent à ceux de la quercétine (0,03mg/ml) (**AnnexeII**).

L'échantillon du miel (E11) est considéré comme le plus faible avec un taux d'inhibition de l'ordre de 11,77% équivalent à celui de la quercétine (0,007mg/ml) (**AnnexeII**).

Les études de **Socha et al.,(2009)**,ont rapportés un pourcentage d'inhibition de l'échantillon de miel l'ordre de 27, 2% .

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage d'inhibition de radical DPPH\*avec, les teneurs en composés phénoliques( $r=0,830$ ), en flavonoïdes( $r=0,826$ ) et avec les teneurs en caroténoïdes ( $r=0,589$ ) (**Annexe IV**).

Selon des auteurs, les conditions expérimentales y compris la température, le temps de réaction, et l'échantillon/concentrations radicales, peuvent affecter les résultats de manière significative (**Hogan et al., 2009 ; Lobo, 2009**).

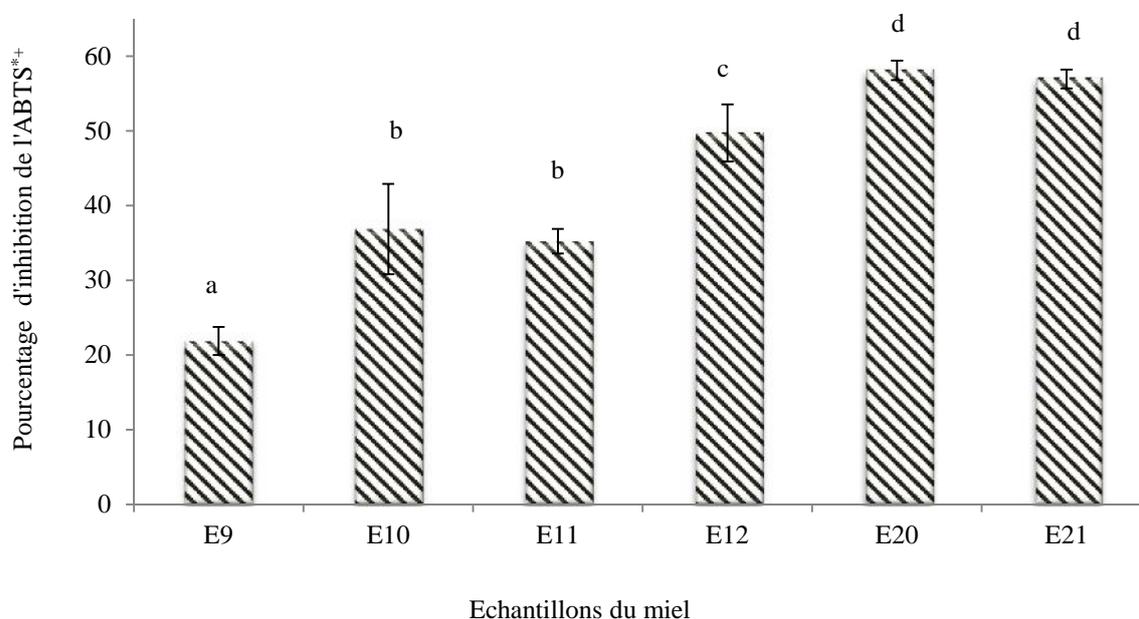
Selon **Guerrini et al.(2009)**,l'activité anti-radicalaire du miel pourrait être due aux teneurs en vitamine C, caroténoïdes, et aux composées phénoliques ; et également à l'effet synergique des flavonoïdes et du  $\beta$ -tocophérol.

L'activité anti-radicalaire dépend de la structure des antioxydants, du degré de polymérisation et des groupements hydroxyles des polyphénols et des flavonoïdes (**Heim et al., 2002 et Caillet et al., 2006**).

#### IV-2.2.2 Pouvoir anti-radicalaire ABTS\*<sup>+</sup>

En réagissant avec le persulfate de potassium ( $K_2 S_2O_8$ ), l'ABTS\*<sup>+</sup> [acide 2, 2'-azino-bis (3éthylbenz-thiazoline-6-sulphanique)] forme le radical ABTS\*<sup>+</sup>, de couleur bleue à verte, l'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à 734 nm, cette mesure est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Rolland,2004;Samaniago-Sánchez et al.,2007**).

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS\*<sup>+</sup>, par les extraits de miel étudiés, est représenté dans la figure n°10.



**Figure n°10:** Pouvoir anti-radicalaire *vis- à- vis* l'ABTS\*<sup>+</sup> des miels étudiés

Les valeurs représentent la moyenne (n = 3)  
 Les barres verticales représentent les écart-types.  
 d > c > b > a : représentent les différences significatives (p < 0,05).

D'après les résultats obtenus dans la présente étude, pour une concentration 0,1mg/ml, le pouvoir anti-radicalaire des échantillons de miel étudié *vis-à-vis* le radical ABTS<sup>\*+</sup> varié de 21,86% (E9) à 58,08% (E20), don l'échantillon E20 présent le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec un taux d'inhibition d'environ 58,08%, équivalent à celui de l'acide gallique (1,84 mg/ml) et de la quercétine (1,79 mg/ml)(**AnnexeII**).Le miel de (E9) est considéré comme le plus faible avec un taux d'inhibition de 21,86 %.

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS<sup>\*+</sup>avec les teneurs ; en composés phénoliques( $r=0,590$ ), en acide ascorbiques ( $r=0,535$ ) et en caroténoïdes( $r=0,620$ ) (**Annexe V**).

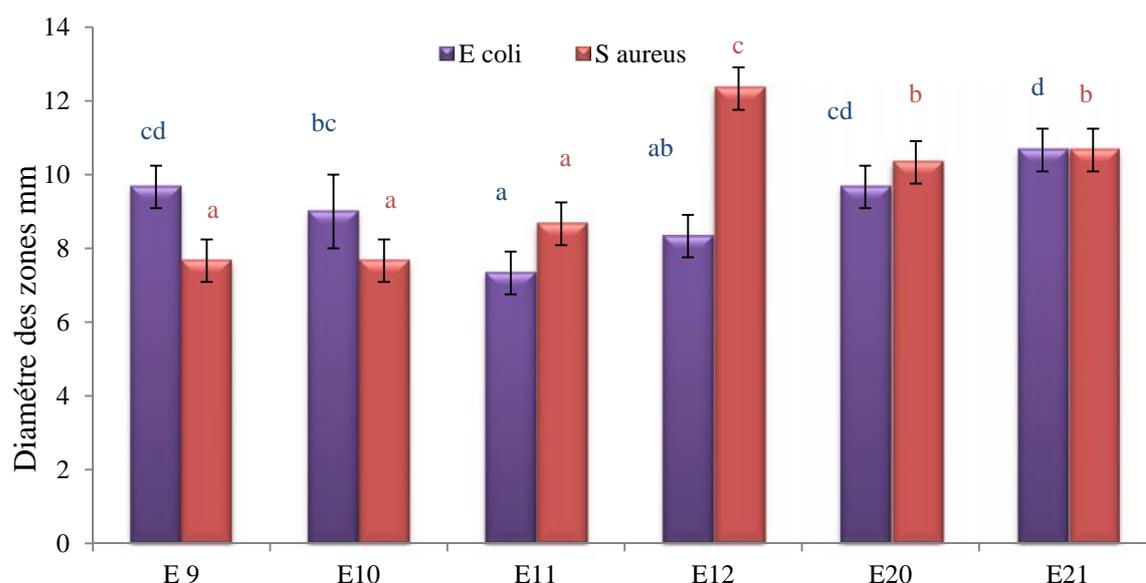
Plusieurs étude ont montré que l'activité anti-radicalaire est très influencée par le solvant d'extraction (**Floegel et al.,2011**).

### **II.3 Evaluation de l'activité antibactérienne**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons du miel testés est effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé à partir des disques (**Celiktas,2007**), sur les deux souches bactériennes étudiées.

Cette technique est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles. Elle est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner (**Gulçin et al., 2004**).

Les résultats de la présente étude, montrent que les deux souches ne sont pas affectées par les dilutions de différents miels étudiés à des concentrations de 2,5 g/ml et 5 g/ml et 7,5 g/ ml mais elles sont affectées par les miels purs. Les valeurs exprimant les diamètres des zones d'inhibition, exprimée en millimètre aux tours des disques, sont présentées dans les figures n°11.



**Figure n°11:** Activité antibactérienne des échantillons étudiés vis-à-vis de deux souches bactériennes.

Les valeurs représentent la moyenne (n = 3)

Les barres verticales représentent les écart-types.

*d* > *cd* > *bc* > *ab* > *a* : représentent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).

*c* > *b* > *a* : représentent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).

Les zones d'inhibition mesurées pour la souche *Staphylococcus aureus* varient de 7,66 à 12,33 mm. L'effet inhibiteur le plus prononcé est obtenu avec l'échantillon du miel (E12) avec un diamètre d'ordre de 12,33 mm, suivie respectivement par les échantillons du miel de E21(10,66), E20(10,33), E11 (8,66). Les échantillons (E10, E9) possèdent l'effet inhibiteur le plus faible vis-à-vis cette souche avec un diamètre d'environ de 7,66mm (**Annexe VIII**).

La majorité des échantillons enregistrent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Cependant aucune différence significative n'est enregistrée entre les échantillons de miel (E9, E10, E11), et entre le couple d'échantillon (E20, E21).

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre les diamètres des zones d'inhibition avec les teneurs ; en caroténoïdes ( $r=0.618$ ), en acide ascorbiques ( $r=0.887$ ) (**AnnexeVI**).

Pour la souche *Escherichia coli*, les zones d'inhibition mesurées varient de 7,33 à 10,66mm. L'effet inhibiteur le plus prononcé est obtenu avec l'échantillon du miel (E21) avec un diamètre de 10,66 mm, suivie respectivement par les échantillons du miel de (E20, E9), (E10) et (E11). L'échantillon du miel (E11) présente la zone d'inhibition la plus faible avec un diamètre de l'ordre de 7,33mm (**Annexe VIII**).

L'étude statistique montre l'existence d'une différence hautement significative (p 0,05) entre les zones d'inhibitions des six échantillons miels étudiés. Cependant il n'y a pas de différence significative entre les échantillons (E 20, E9).

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre le diamètre des zones d'inhibition avec les teneurs en composés phénoliques ( $r=0,813$ ), en flavonoïdes ( $r=0,790$ ) et en caroténoïdes ( $r=0,564$ ). (**Annexe X**).

les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité : résistant :  $D \leq 8$  mm, intermédiaire :  $8 < D \leq 15$  mm et sensible :  $D > 15$  mm, où  $D$  : diamètre des zones d'inhibition (**Bansemir et al., 2006**).

Le diamètre des zones d'inhibition obtenues sont semblable à ceux rapportées par **Bonté F et Desmolière A.(2013)** et qui sont comprises entre 7,77 à 11,66 mm pour *E coli* et 9,17 à 12,71mm pour *S aureus*.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenues sont inférieurs à celles rapportées par **Mostefa et al., (2010)**, et qui sont comprises entre 0 à 24 mm.

Le miel naturel a deux types d'effets sur les bactéries à Gram- (*E. coli*) : un effet bactéricide sur les zones les plus proches des disques imprégnés de miel et un effet bactériostatique sur les zones relativement loin des disques. Dans le premier cas, la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués. **Mostefa et al., (2010)**,

**Donadieu , (1978)** a montré que tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel mono floral, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui. **Donadieu**

, (2006 ; 1981). D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités tels que :

- l'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
- la nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation **Verdan (2002) ; et Biri. (1999)**
- le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production de miel ;
- le mode d'extraction de miel ;
- la durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité. **Caillas, (1974).**

D'après **Kerkvliet (1996)**, l'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu important en enzyme, le glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.. L'enzyme reste active tous le temps de la transformation du nectar en miel. Dans le miel mûr, l'enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée. Cette idée a été annoncée depuis plus de 14 siècles sur "boire du miel dilué".

Ces résultats montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram<sup>+</sup> et à Gram<sup>-</sup>, Cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

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

les substances antimicrobiennes agissent à différents niveaux de la cellule allant de la membrane cytoplasmique, aux fonction respiratoires et aux matériels génétique et enzymatique (**Cowan,1999**).

En effet, plusieurs études menées dans le cadre de la surveillance sanitaire des denrées alimentaires, ont montré que les bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sont parmi les principaux agents pathogènes responsables d'intoxications alimentaires (**Vaillant et al.,2003 ;El Marnissi et al.,2012**).

## Conclusion

La santé humaine est mise en danger par de nombreuses maladies causées par le stress oxydatif, et des microorganismes ce qui a mené à la recherche de produits naturels riches en antioxydants et antimicrobienne réduisant ainsi les risque liés à ces maladies.

Parmi les aliments bénéfiques à l'organisme, le miel qui est non seulement une source d'apport nutritif mais également présent un effet protecteur contre les maladies.

Le présent travail est consacré à étudier la composition anti oxydante et anti bactérienne de quelques échantillons de miel récolté dans la région de Tizi Ouzou , et ceci afin de mieux valoriser cet aliments nutritionnel et thérapeutique. L'analyse des résultats a permis de tirer les conclusions suivantes :

La composition en antioxydants des différents échantillons du miel étudiés varie d'un miel à un autre.

Le taux des composés phénoliques des échantillons du miel étudiés varie de 64,91mg à 93,59 mg d'EAG/100g, et la plus grande teneur en polyphénols est retrouvé dans le miel (E21).

La teneur en flavonoïdes des échantillons du miel étudiés varie de 27,86 mg à 40,2mg d'E.Q./100g, dont le miel (E20) est considérée le plus riche en flavonoïdes.

La teneur en anthocyanine des miels étudiés varie de 0,57 $\mu$ g à 3,73  $\mu$ g/100g d'équivalent deCyanidine-3-glucoside /100g, et l'échantillon (E12) est considéré le plus en anthocyanine.

La teneur en caroténoïdes des miels étudiés varie de 153,99  $\mu$ g à 207,22  $\mu$ g d'E. .C /100g de produit, dont les miels(E12, E20) sont considérés le plus riche en caroténoïdes.

Concernant l'acide ascorbique, la teneur la plus élevée est retrouvée dans le miel (E12) avec une teneur de 137,67 mg d'E.A.Asc/100g.

L'évaluation des activités anti oxydantes et anti radicalaire montre la présence de taux d'activité qui différents d'un échantillon a un autre.

L'analyse statistique montre, l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage de réduction de  $FeCl_3$  avec les teneurs en composés phénoliques( $r=0,596$ ), en flavonoïdes( $r=0,874$ ), en anthocyanines ( $r=0,596$ ).

L'analyse statistique montre également, l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage de pouvoir anti-radicalaire DPPH\* avec les teneurs en composés phénoliques ( $r=0,830$ ), en flavonoïdes ( $r=0,826$ ), en caroténoïdes ( $r=0,589$ ).

L'analyse statistique révèle de bonne corrélation entre le pourcentage de pouvoir anti-radicalaire ABTS\*<sup>+</sup> avec les teneurs en composés phénoliques ( $r=0,590$ ), en acide ascorbiques ( $r=0,535$ ), en caroténoïdes( $r=0,620$ ).

L'activité antibactérienne de l'échantillon de miel (E21) est la plus importante vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* utilisée. Par contre L'activité antibactérienne de l'échantillon de miel (E12) est la plus importante par rapport aux autres échantillons de miel sur la souche *Staphylococcus aureus*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la détermination des CMI montre que les souches testées sont résistantes à l'extrait du miel avec des concentrations (7,5 ; 5 ; 2,5mg/ml).

La valeur médicinale du miel comme antibiotique naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Et en termes de perspectives, et afin de compléter la présente étude, il serait intéressant :

- ✓ Identifier les antioxydants du miel par des techniques plus performantes tel que l'HPLC.
- ✓ D'approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur d'autres espèces bactériennes pathogène.
- ✓ Elargir l'échantillonnage sur l'ensemble de territoire Algérien.
- ✓ Effectuer des analyses polliniques pour savoir l'origine botanique du miel.
- ✓ Etude des activités biologiques et thérapeutiques des autres produits de la ruche (venin, gelé royale, cire, propolis et pollen).

-A-

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

**Al-Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M. et Shahidi F.** (2005).Comparison of Antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of threenativefresh and sundried date (*Phoenixdactylifera L.*) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53:7592-7599.

**Aljadi A.M. And Kamaruddin M.Y.** (2004).Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chimistry* , 85:513-518.

**Al-Mamary M., Al-Meerri A., Al-Habori M.**(2002).Atioxidant activites and total phenolics of honey.*Nutrition Research*. 22,1041-1047.

**Anklam E.A.**,1998. Review of analytical methods to Determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem*, 61:549-562.

**Alvarez-SuarezJ.M.,TulipaniS., Romandini S., Vidaland A .and Battino M.**,2009. Methodological a spects about de termination of Phenolic compounds and in vitro evaluation of Antioxidant capacity in the honey. *Curr Anal Chem*, 5:293–302.

**Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini S., Bertoli, E., Battino, M.,** (2010). Contribution of honey in nutrition and human health, a review . *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3:15–23.

**Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., Atmani D.**(2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112/ 303–309.

**Azeredo L.da C., Azeredo M.A.A.,de Souza S.R.,dutra V.M.L.**(2003).Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *apis mellifera* of different floral origins.*Food Chemistry* ,80: 249-254.

-B-

**Babar Ali M., Hahn E.J. et Paek K.Y.(2007).** Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolic in panax ginseng bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12: 607-621.

**Badawy O., Shasii S., Tharwat E. et Kamal M., (2004).**Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection.*Rcv.sci.tech.off.int.epiz.* 23 (3), 1011-1022 page 1018.

**Balasandram N., Ai T.Y., Sambanthomurthi R., Sundram K. et Sammam S.(2005).** Antioxidant properties of palm fruit extract. *Asia PAC J Clin Nut.*4(4):319-324.

**Ball G.F. (1997).**Vitamin C . In bioavailability and analyse of vitamins in foods. Ed. Jones Barleh. 515-563.

**Baltrusaityte V., Venskutonis P. et Ceksteryte V. (2007).**Antibacterial Activity of honey and beebread of different origin against *S. aureus* and *D. epidermidis*. *Food technology, Lithuania.* 45 (2) 201-208.

**Bansemir A, Blum M. Schroder S et Lindequist U.2006.**Screening of cultivated seaweed against fish pathogenic bacteria aquaculture 252,7984.

**Baroni M.V., Arrua C., Nores M.L., Fayé P., Del Pilar Diaz M., Chiabrando G.L.et Sanz M.L., Gonzalez M., De Lorezo C., Sanz J. et Martinez-Castro I. (2008).**A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry.*91 : 313-317.

**Baydar N .G., Ozkan G. et Sagdic O. (2004).**Total contents and antibacterial activities of Grape (*vitisvinifera*) extracts. *Food Control.*15:335-339.

**Benbrook P.D. et Charles M. (2005).** Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *Organic Center*, pp: 84.

**Bendahou H, Hasnat N (2002).**, Contribution à l'étude de l'influence de durée de conservation sur la qualité du miel dans la wilaya de Mascara ; Mémoire d'ingéniora en sciences alimentaires, centre universitaire de Mascara

**Berreta G., Granata P., Ferrero M., Orioloi M. and Facino R.M.** (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorometric assays and chemometrics. *Analytica Chimica*, 533:185-191

**Berthet J. et Amar-Costesec A.** (2006). Dictionnaire de biologie. 1<sup>er</sup> édition De Boeck Université (Bruxelles): De Boeck et Larcier s. a. (Paris- France).

**Bertonelj J., Dobersek U., Jamnik M. and Golob T.**, 2007. Evaluation of the phenolic content, Antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food chem*;105:822-828

**Berset C.** (1999). Antioxydants phénoliques- Structure, propriétés, sources végétales in les polyphénols en agroalimentaire. *Science et techniques Agroalimentaire*. pp.269-289.

**Biri M.** (1999). Le grand livre des abeilles, L'apiculture moderne, Paris Edition Devecchi., p 75.

**Biri M.** (2003). Le grand livre des abeilles. Edition : De Vecchi S A. Paris, pp. 75-190.

**Blasa M., Candiracci M., Accorsi A et Piacentini M.P.** (2006). Raw millefiori honey is Packed full of antioxidant. *Food chemistry*.97:217-222.

**Blasa M., Candiracci M., Accorsi A et Piacentini M.P. and Piatti E.** (2007). honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food Chemistry*,104:1635-1640.

**Bogdanov S.** (1995). documentation destinée aux contrôleurs de miel Formation de base. *FAM Publikation Sektion Bienen*. 1-26.

**Bogdanov S. ruoff k. and Persano Oddo L.** (2004). Physico-chemical methods for characterization of unifloral honeys. A review. *Apidologie*.35(1): 4.17.

**Bogdanov S., Kanzig A., Frey T and Iff D.**, (2004). Manuel des denrées alimentaires. Ed : MSDA: 1-39.

**Bonté F et Desmolière A.** (2013). «Le miel, quel intérêt en cicatrisation ?» Les propriétés antibactérienne et cicatrisantes du miel, 22-25.

**Bozin B., Mimica-Duric N., Samojlik I., Goran A. et Igetic R.**, 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae). *Food Chem*, 111: 925-929

**Brand-Williams W., Cuvelier M.E. et Berset C.** (1995). Use of a free radical method to Evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaften and Technologie*.28:25-30.

**Brudzynski K.** (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys, *Canadian Journal of Microbiology*, Volume 52, Number 12, 1 December, pp. 1228-1237 (10).

**Bruneton J.** (1999). *Pharmacognosy: Photochemistry, Medicinal plants*. 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier. Paris. pp : 240-387.

-C-

**Caillas A.** (1974). *Le rucher de rapport, Les produits de la ruche, Traité pratique d'apiculture moderne*, Edition .syndicat national d'apiculture, Paris, p.497

**Caillet S., Salmiéri, S. & Lacroix, M.** (2006). Evaluation of free radical-scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chemistry*, 95:1-8.

**am M., Hisil Y. et Durmaz G.** (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*. 112, 721-726.

**Caquet R.** (2004). *250 examens de laboratoire: Prescription et interprétation*. Edition : Masson. Paris. 453p.

**Castro-Vázquez L., Diaz-Maroto M.C., Gonzàles-Vinas M.A. et Pérez-coello M.S.** (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*. 112, 1022-1030.

**Celiktas O.Y., Hameskocabas E.E., bedir E., VARDAR Sukan F., Ozek Tet Baser K.H.C** (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils *Rosmarinus*.

**Chauvin R.** ; *L'abeille et la fleur in traite de biologie de l'abeille (T3)*, Edition Masson et Cie, Paris, p.95, 286-7, 293-4-9, 304-6-7 (1986).

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

**Couplan F.** (1998). *Guide nutritionnel des plantes sauvage et cultivées*. Edition : Delacheaux et Nestlé. Paris, France. pp, 14-104

**Cowan M.M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents .*Clinical Microbiology Reviews*.12,564-582.

-*d*-

**Da Silva R., Saraiva J., de Albuquerque S., Curti C., Donate P.M., Bianco T.N.C., Bastos J. K. and Silva M.L.A.**, 2008. Trypanocidal structure activity Relation ship for cis and trans-methylpluviatolide. *Phytochemistry*, 69:1890–1894.

**Del Caro A., Piga A., Vacca V. et Aggabio M.**(2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84: 99- 105.

**De Quiros AR-B, Costa HS.** (2006). Analysis of carotenoid sinvegetable and plasma Samples : A review. *Journal of Food Composition and Analysis*.19:97–111.

**Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, et al.** (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 65 (4): 337-53.).

**Donadieu Y.** ; Le miel, thérapeutique naturelle, Paris, 2<sup>ème</sup> édition maloine, p.17-8, 20-5 (1978).

**Donadieu Y.** ; Les thérapeutiques naturelles, la gelée royale. Paris. 5<sup>ème</sup> édition, p75 (1981).

**Donadieu Y.** ; Les thérapeutiques naturelles, produits de la ruche, miel, p.6 (2006).

**.Ducros V. et Favier A.** (2004). Métabolisme de selenium. *EMC-endocrinologie*, 1 :19-28

**Dutta A. et Dutta S.K.**(2003). Vitamin E and its Role in the Prevention of Atherosclerosis and Carcinogenesis :A Review. *Journal of the American College of Nutrition*.22,4,258-268

-*E*-

**El Marnissi B., Bouanani L., El Ouali Lalami., Aabouch M., Belkhou R.**(2012). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de denrées alimentaires commercialisées à Fes-Boulomane .*Rev.microbial.IND.Santé et Environments*.6(1),98-117p

**Esti M , Panfili G. ,Marconi E. et trivisonno M.C.**(1996). Valorisation of the honeys from the Molise region through physico-chimique, organoleptic and nutritional assessment. *Food Chemistry*.58,125-128.

-F-

**F.A.O.** (2010). Food and Agriculture Organization. Data base results, FAO-STAT: <http://faostat.fao.prg>.

**Falico B., Zappala M., Arena E. et Verzera A.** (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honey. *Food Chemistry*.85:305- 313.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C.** (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372–379.

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

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

-G-

**Gervaise Y.** (2004). Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. Euroforum.SGS Multilab.Rouen (Paris, France).

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

**Giusti M., Wrolstad R. E.,** 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Units F1.2.1-F1.2.13.

**Gonnet M.** (1982). Le miel : composition, propriétés et conservation. Edition OPIDA : 1-30.

**Guerrini, A., bruni, R., Maitti, S., Poli, F., Rossi, D. Pagametto, G., Muzzoli, M. & Sacchetti, L.S.G.** (2009). Ecuadorian stingless bee (meliponinae) honey : A Chemical and functional profile of an ancient health product. *Food chemistry*, 114: 1413-1420.

**Gulcin I., Oktay M., Kirecci E. et Kuvacioglu OI.** (2004). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L) seed extracts. *Food Chemistry*.83:371-382.

-H-

**Hagerman A.E.**(1987). Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 453-461.

**Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. & Bobilya, D.J.**(2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572-584.

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

**Hogan S., Zhang L., Li J., Zoecklein B. et Zhou K.**(2009). Antioxidant properties and bioactive components of Norton (Vitis aestivalis) and Cabernet Franc (Vitis vinifera) wine grapes. *Food Science and Technology*.42,1269-1274

**Hyungjae L., Churey J.J et Worobo R.W.**(2008). Antimicrobial activity of bacterial isolates from sources of honey. *International of Food Microbiology*.126,240-244.

-I-

**Iurlina M.O. et Fritz R.**(2005). Characterisation of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*.105,297-304.

**Isengard H.D. et Schultheis D.**(2003). Water determination in honey-Karl Fischer Titration, an alternative to refractive index measurements?. *Food Chemistry*.82,151-154.

-J-

**Jean Prost P.** (2005). Apiculture. Connaître l'abeille-conduire le rucher. Edition : Tec et Doc. Paris, pp.161-424.

**Jimoh F., Adedapo A., Aliero A. et Afolayan A.**(2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Revista de Biologia Tropical*. 58:1517-15331.

-K-

**Kitts D.D.** (1997). An evaluation of the antioxidant vitamins. *Trends in food science/ Technology jun*, 8: 198-202.

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

**Knert P., Kumpulainen J., Jarvinen R., Rissanen H., Heliovaara M., Reunanen A., Hakulinen T. et Aromaa A.** (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76: 560-568.

**Kuçuk M, Kolaylı S, Karaoglu S, Ulusoy E, Baltacı C, Candan F.** (2005). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*. 91, 3, 2005, p.571-577; 22.

-L-

**Lachman J. D. Kilihova D. Miholova J. Kosata D. Titera and K. Kunt** (2007). Analysis of minority honey components. possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*. 101:973-979

**Ladaniya S.M.** (2008). Citrus fruit biology, technology, and evaluation. Ed: Elsevier, pp: 13-26.

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

**Laleh G.H., Frydoonfar H., Heidary R., Jamei R. et Zare S.** (2006). The Effect of light, temperature, pH and species on stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5: 90-92.

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

**Lee J.H., Koo N.S. et Min D.J.**(1986).Antioxidant protection of phospholipids bilayers by atocopherol. *Journal of Biological Chemistry* .2(5):12-14.

**Lee J., Koo N. et Min D.B.** (2004).Reactive Oxygen Species, aging, and Antioxydative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.3: 21-33.

**Lianda R . L .P ., Sant 'A na L.D., Echevarria A . et Castro R.N.,** (2012) .Antioxydant Activity and phenolic composition of Brazillian Honeys and their Extracts. *J.Braz.Chem.Soc*.1:1-10.

**Lim Y .Y ., Lim T.T. et Tee J.J.** (2006).Antioxidant properties of several tropical fruits: Com Parative study. *Food Chemistry*.103:1003-1008.

**Liyana-Pathirana C.et Shahidi A.**(2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93:47-56p.

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

**Lobreau-Callen D.,Marmion V.and Clément M-C.**(1999).les miels. In «Techniques de l'ingénieur» :1-20

**Lojkoxska E et Holubovska M.** (1992).The role of polyphenol oxidase and peroxydase.*In:* Potato tuber resistance to softrot caused by *Erwiniacarotovora*. *Journal of phytopathology*.136:319-328.

**Louveaux J.** (1959) La technologie du miel. *Ann. Abeille*, 2, (4), 343-354.

-M-

**Mada S. B., Garba A., Mohammed H. A., Muhammad A., Olagunju A. and Muhammad A. B.,** 2013 Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. *J. Med. Plants Res*. 7(10), 579-586.

**Maisuthisakul P.,Suttajit M .and PongsawatmnitR.,**2007. Assessment of phenolic content and free Radicals scavenging capacity of some that indigenous plants, *Food Chem*, 100:1409-1418.

**Makkar, H.P.S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannin, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49: 241-246

**Marcadante A.Z et Assunc D.B.(2003).** Carotenoides et acide ascorbique de pomme d'anarcadier (occidentale L. d'Anacardium): variété et effets géographiques. *Food Chemistry*.81,495-502

**Martinez M.A.J.,Vicario I.M. et Heredia F.J.(2007).** Provitamin a carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. *Food Chemistry*.101,177-184

**Meda A. (2005).**Utilisation thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activité biologiques des miels du Burkina faso. Thèse de doctorat en science biologiques appliquées : 10-12.

**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.

**Medic S anic M.,JaspricaI., SmolcicBubalo A. And Mornar A .,2004.** Optimization of Chromatographic condition in thin layer Chromatography of flavonoides and phenolics acids. *Croatica Chemica Acta* ,3:361-366.

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

**Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52: 673–751.

**Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres. *Etudes et applications thérapeutiques*. Thèse présentée en vu d'obtention du grade de docteur en science de l'université Louis Pasteur .*Domaine de pharmacochimie*.

**Molan PC.(1992)** The antibacterial activity of honey .Departement of Biological Sciences .Bee World. University of Waikato,New Zealand 1-40.

**Morse R. et Lisk DJ.** 1980. Elemental analysis of honeys from several nations, Am. Bee J.Nr. 7 : 522-523.

**Mouhoubi Z.**(2007).Influence de la température de conservation sur la qualité du miel : effet sur le pouvoir antioxydant. Mémoire de magister.Université Abderrahmane Mira :73p

**Mwambete K. D.,** The in vitro antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of Momordica charantia: a tanzania medicinal plant, Afr. Health Sci. 9 (1), 34-39, 2009

-N-

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

**Nagai T.,Inoue R.,Inoue H. and Suzuki N.,**2002. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, Hydroxyl radicals and DPPH radicals. *NutRes*; 22:519-526.

**Niizu PY, Rodriguez-Amaya DB.** (2005).New data on the carotenoid composition of raw Salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis.*18:739–749

-O-

**Odabasoglu F., Aslan A., Cakir A.,Suleyman H., Karagaz Y ., Malici M. et Bayir Y.**(2004). Comparaison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species .*Phototherapy Research.* 18 :938-941

**Ohad A., Dag A.et Sharoni S.**(2008).Honeybee, *Apis mellifera* ,round dance is influenced by trace components of floral nectar.*Animal Behaviour.*75,371-377.

**Ordo ez A. A. L., Gomez J.D., Vattuone M.A. et Isla M.I.** (2006).Antioxidant activities Of *Sechium edule*(Jacq.)Swartz e x tracts. *Food Chemistry.* 97 :452-458.

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

-P-

**Paradkar M.M. et Irudayaraj J.**(2001).Discrimination and classification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*.76,231-239.

**Persano Oddo,L.,Piazza,M.G.& pulcini,P.**(1999).Invertase activity in honey. *Apidologie* 30: 57-65

**Pincemail, J.,Defraigne, J.O., Meurisse, M. &Limet, R.**(1998).Anti-oxydants et prévention des maladies cardiovasculaires - 3<sup>ème</sup> partie: caroténoïdes et vitamine A. *Medisphere bilan*.

**Pyrrznska K.et Biesaga M.** (2009).Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey.*Trends in Analtical Chemistry*.1-20.

-R-

**Re R., Pellegrini N., Proteggente A.,Pannala A.,Yang M. et Rice-EvansC.**(1998). Antioxydant activity applying animpoved ABTS radical cation de colorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*.26:1231-1237.

**Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P . et Ribereau-Gayon P.**(1982).Composés Phénoliques.«Traité d'œnologie, science et technique du vin», Ed. *Dunod* :477-519.

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

**Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.** (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology / Medicin*, 20(7): 933-956.

**Rodriguez-AmayaB.D.** (2001). Aguide to carotenoid analysis in foods. International Life Sciences Institute Press.1-71.

**Rolland Y.**(2004).Antioxydants naturels végétaux.*OCL*.11:419-424.

-S-

**Sahreen S., Khan M.R. et Khan R.A.** (2010).Evaluation of antioxidant activities of Various solvent extracts of Carissa op aca fruits. *Food Chemistry*.

**Samaniago-Sánchez C., Troncoso-González A.M., Garcia-Parrilla M.C., Quesada-Grandos J.J., LópezGarcia de la Serrana H.et López Martinez M.C.**(2007).Different radical Scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Anal Chim Acta*.593:103-107.

**Sanz M.L.,Gonzalez m., De Lorenzo C.,Sanz J. ET Martinez-Castro I.**(2005).A contribution to the differentiation between nectar honey and honey dew honey.*Food chemistry*.91,313-.

**Scherer R et Gody H.T.** (2009) Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*,103:624-630p.

**Shin H.S. et Ustunol Z.**(2005).Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: AN in vitro comparaisn. *Food Research international*.38,721-728.

**Siess MH., LE BON AM., Canivenc- Lavier MC., Amiot MJ., Sabatier S., Aubert SY. and Suschetet M.** ; Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes and Benzo [a] pyrene-DNA Binding in Rats J. Agric. *Food Chem.* 44 (8), 2297-2301 (1996).

**Singleton V-L. and RossiJ-A.**1965. Colorometry of total phenolics with pohsphomolybdic-Phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*,16:44-158.

**Sladana M ., Dimitrijevic D .J. Djilas, S .M,Canadanovic-Brunet J.M.,Cetkovic G.S.,Tumbas V.T. et Stajner D.I.**(2011).Antioxydant activity of three different Serbian floralhoneyes. *APTEFF*.42:1-288

**Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S .& Fortuna, T.** (2009).Antioxidant activity and Phenolic composition of herb honeyes. *Food Chemistr*.113:568–574.

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

**Suarez-Luque S., Mato I., Huidobro J.F., Simal-Lozano J. et Garci-Monteagudo J.C** .(2003).Different forms of maleic and fumaric acids (cis and trans of 2-butenedioic acid in honey. *Food Chemistry*.80,215-219.

**Swain T. (1979)**. Tannins and lignins.Herbivores. *Academic Press, New York*. pp: 657-682

-T-

**Terrab A., Diez M.J. and Heredia F.J.**, 2003. Palynological,Physicochemical and color characterization of Moroccan honeys:Orange(Citrussp.)honey. *International Journal of Food Science And Technology*,38:387-394

-V-

**Vaillant V., Weill F.X., Thiolet J.M.,Collignon A., Salamanca D., Bouvet E., Collinet C., Cosson C., Gloagen C., De Valk H.**(2003). Cas groupés de fièvre typhoïde liés à un établissement de restauration à Paris.bull.Epidemiol. Hebd :2004,21,85-86

**Verdan J.** ; Projet de charte qualité miel du parc naturel régional de verdan, p.4 (2002)

-W-

**WeiC. And Zhirong S.**, 2003. Determination of Total phenolics acidin honey by Folin-Ciocalteu colorimetry.*Food Chem*,29(12):302-313.

**Wilfred V., Ralph N.**(2006).Phenolic Compound Biochemistry, Purdue University, West Lafayette,In.-University of Florida, Gainesville, FL, U.S.A.

-Z-

**Zalibera M., Stasko A., Slebođova A., Jancovicova V., Cermakova T. et brezova V.**(2008).Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys-An electron paramagnetic resonance study .*Food Chemistry*.110,512-521.

*Liste des références bibliographique*

---

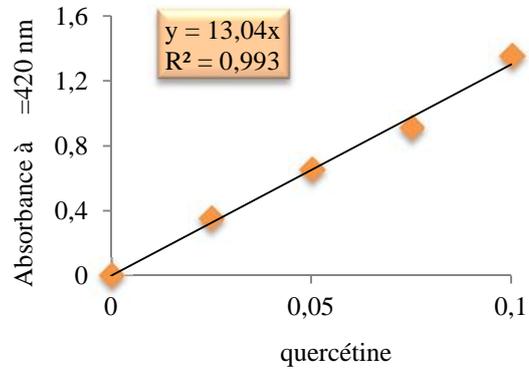
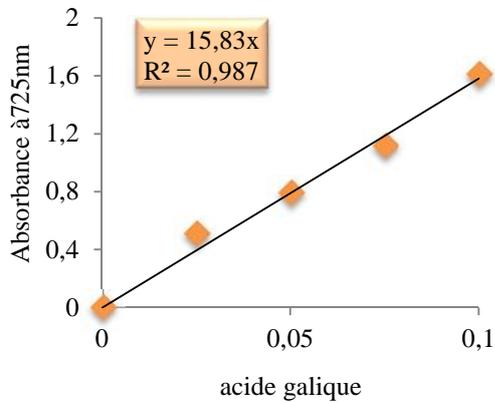
**Zamora G. S., Yahia E. M., Brecht J. K., Gardea A.** (2005). Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Food science and technology*,38: 657-663.

**Zappala M.,Fallico B.,Arena E. et Verzera A.**(2005).Methods For the determination of HMF in honey :a comparison .*Food Control*.16,273-277.

*Liste des références bibliographique*

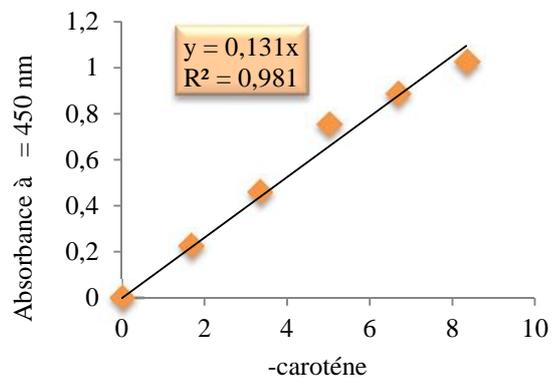
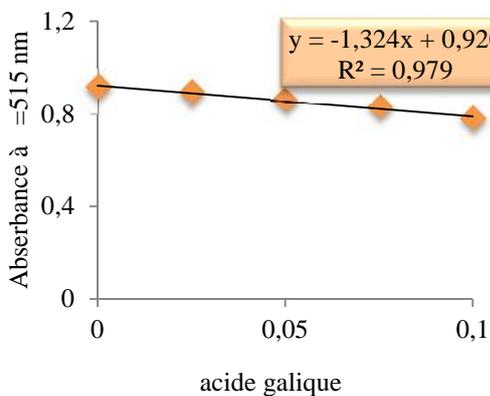
---

**Annexe I : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants**



1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en fonction l'acide galique

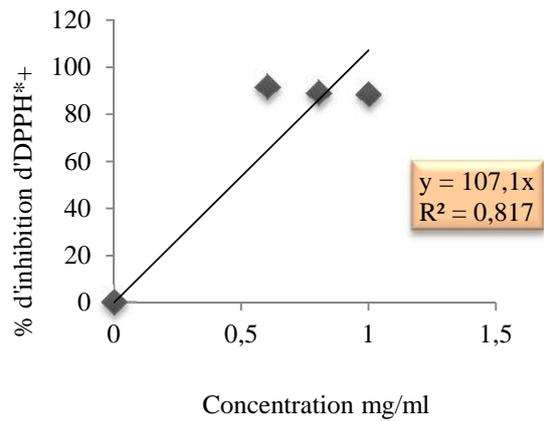
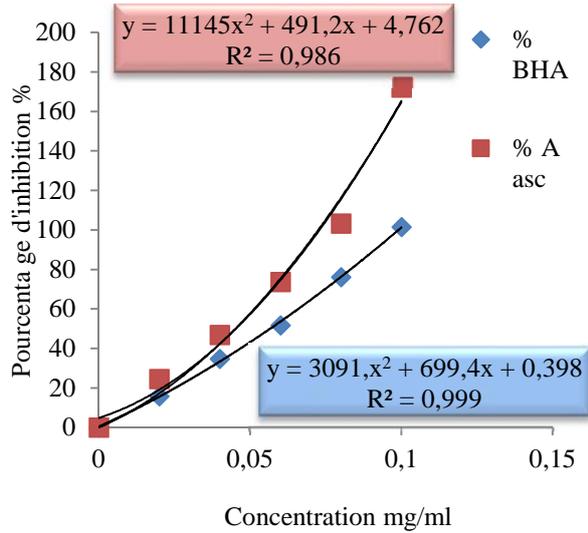
2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en fonction la Quercétine



4. Courbe d'étalonnage pour le dosage de la vitamine C en fonction l'acide ascorbique

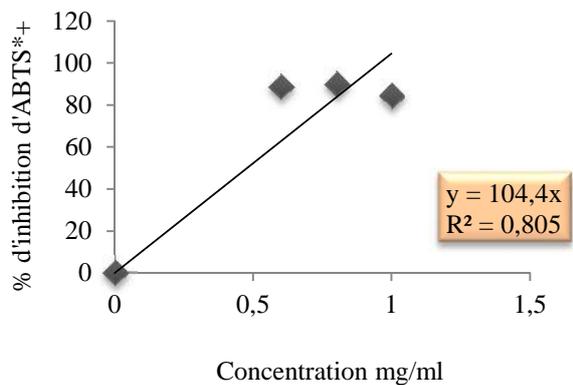
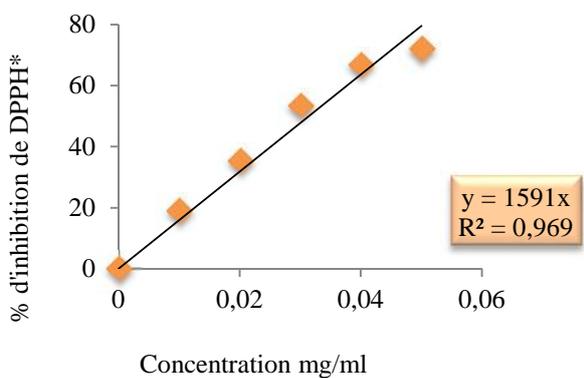
3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des caroténoïdes en fonction la -carotène

**Annexe II : Courbes d'étalonnages utilisées pour la détermination de l'activité antioxydants**



1-Pourcentage de réduction de FeCl<sub>3</sub> en fonction de la concentration en acide ascorbique et BHA

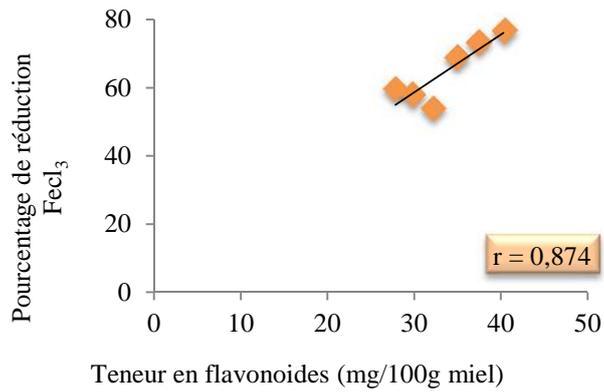
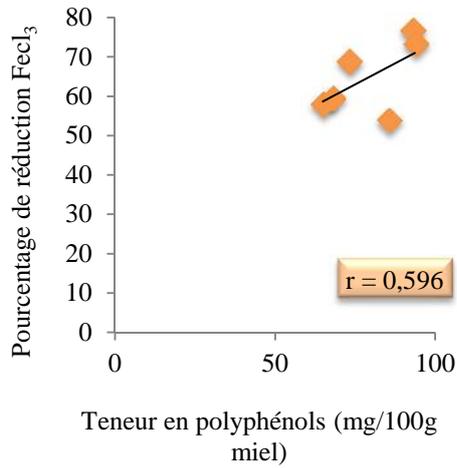
2-Pourcentage d'inhibition de DPPH\* en fonction de la concentration en quercétine



3- % d'inhibition de ABTS\*+ en fonction de la concentration en A.gallique

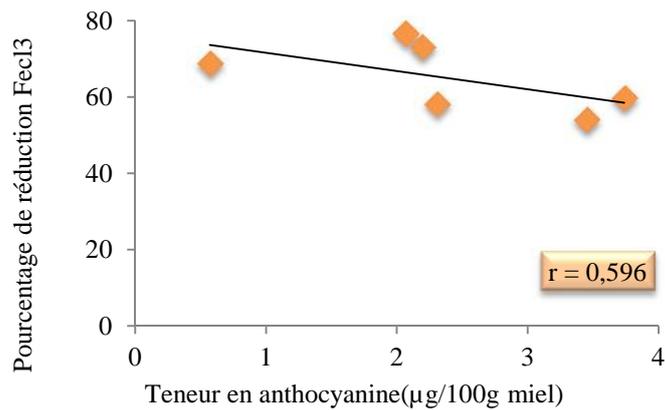
4- % d'inhibition de ABTS\*+ en fonction de la concentration en quercétine

**Annexe III: Corrélation entre le pourcentage de réduction du  $FeCl_3$  avec, les teneurs en antioxydants.**



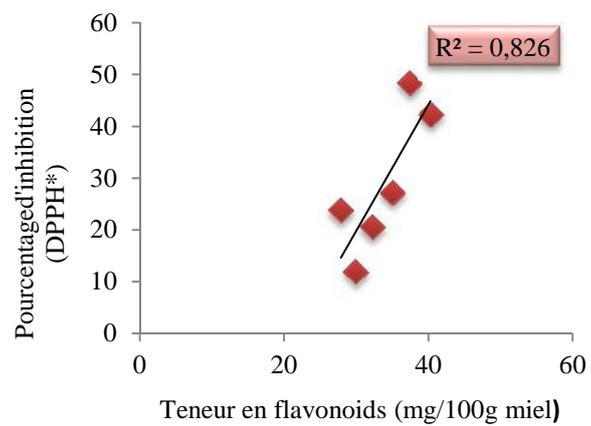
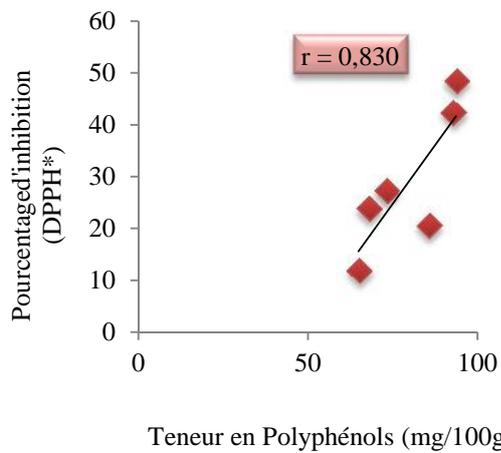
1- les Polyphénols du miel étudié.

2- les Flavonoïdes du miel étudié.



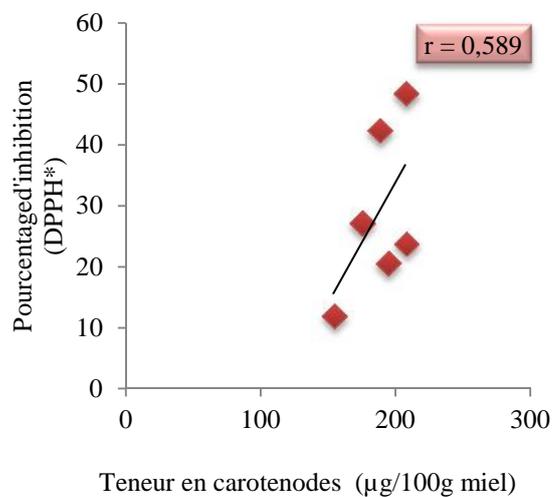
5- les Anthocyanines du miel étudié.

**Annexe IV : Corrélation entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH\* avec les teneurs en antioxydants.**



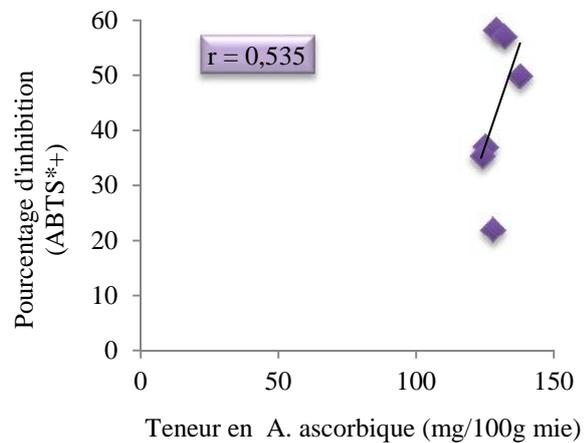
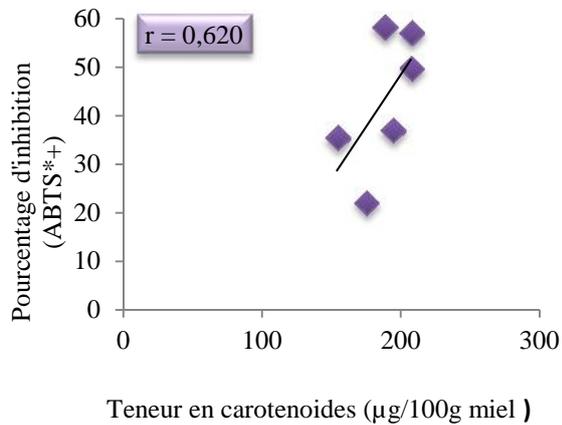
1- les Polyphénols du miel étudié.

2- les Flavonoïdes du miel étudié



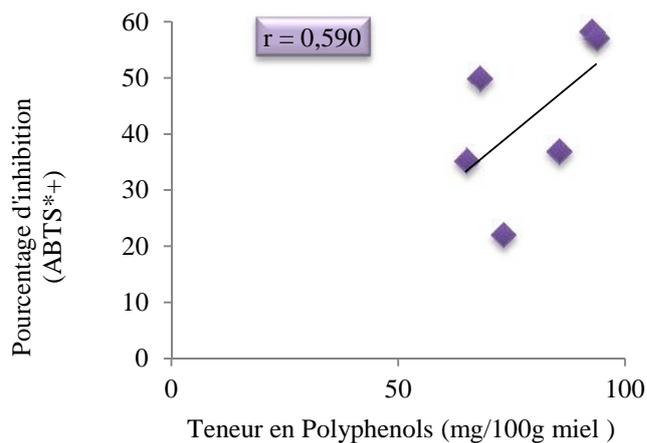
3- les Caroténoïdes du miel étudié.

**Annexe V : Corrélation entre le pourcentage d'inhibition du radical ABTS\*+ avec les teneurs en antioxydants**



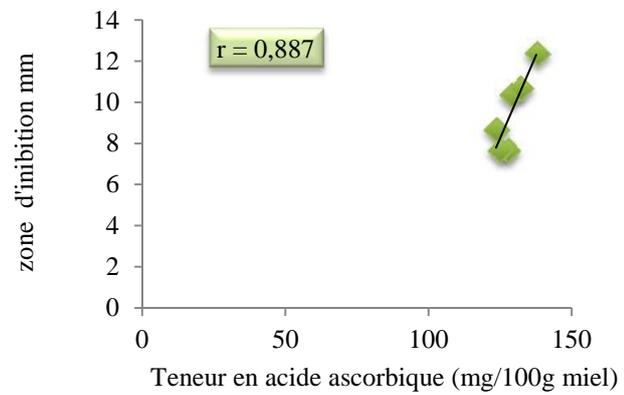
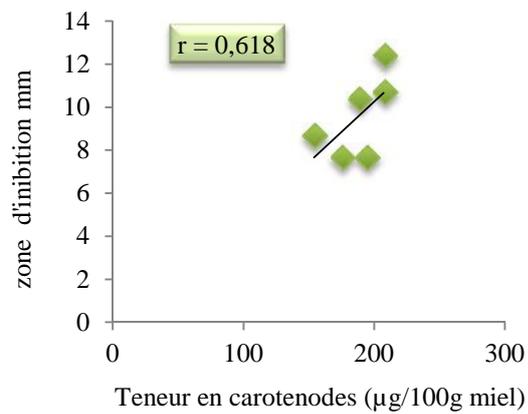
1- les Caroténoïdes du miel étudié.

2- l'acide ascorbique du miel étudié.



3- les Polyphénols du miel étudié

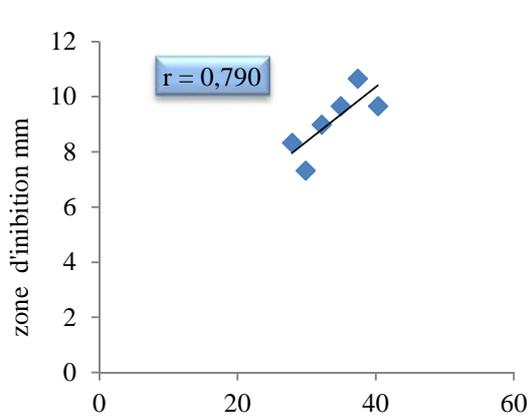
**Annexe VI : Corrélation entre le diamètre de la zone d'inhibition des extraits de miels *vis-à-vis* *Staphylococcus aureus***



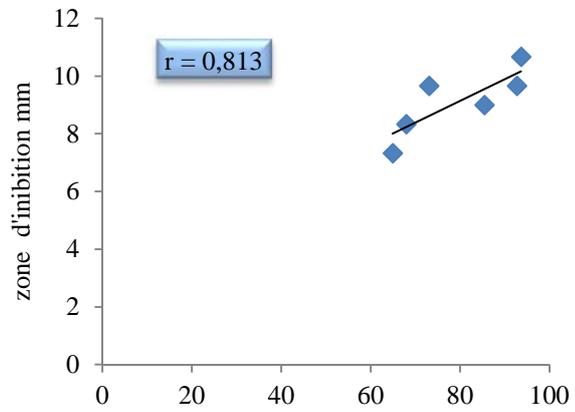
1- les Caroténoïdes du miel étudié.

2- l'acide ascorbique du miel étudié.

**Annexe VII : Corrélation entre le diamètre de la zone d'inhibition des extraits de miels *vis-à-vis* *Escherichia coli***



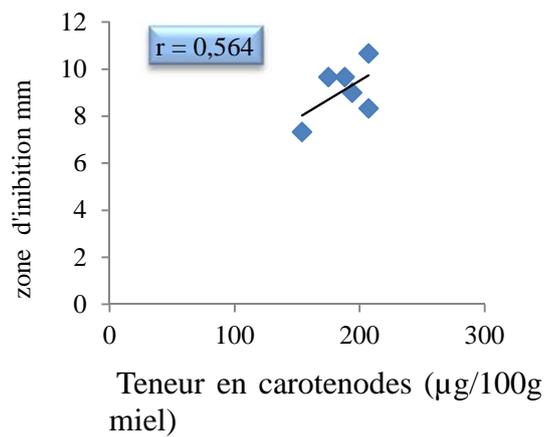
Teneur en flavonoïdes (mg/100g miel)



Teneur en polyphénols (mg/100g miel)

1- Flavonoïdes du miel étudié

2- Polyphénols du miel étudié.



Caroténoïdes du miel étudié

## Annexe VIII: La mesure des zones d'inhibitions (mm)

échantillon	Gram-	Gram+
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
E9	9,66mm±0,57	7,66mm±0,57
E10	9mm±1	7,66mm±0,57
E11	7,33mm±0,57	8,66mm±0,57
E12	8,33mm±0,57	12,33mm ±0,57
E20	9,33mm ±0,57	10,33mm ±0,57
E21	10,66mm±0,57	10,66mm ±0,57

## Annexe IX : Préparation de différentes solutions utilisées.

Solution	Réactifs
Solution de carbonate de sodium NaCO <sub>3</sub> (60g/l)	6g de NaCO <sub>3</sub> 100 ml d'eau distillée
Folin ciocalteu (dilue dix fois)	10 ml dans 100 ml d'eau distillée
Chlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub> (2%)	3,61 g de (AlCl <sub>3</sub> ,6H <sub>2</sub> O) dans 100 ml d'eau distillée
Tompon chlorure (p =1 ; 0,25M)	1,863 g de KCl dans 100 ml d'eau distillée 2,19 mld'HCl dans 100 ml d'eau distillée
Tompon acétate (p =4,5 ; 0,4M)	2,28 ml acide acetique dans 100 ml d'eau distillée 3,28 g Acetate de sodium dans 100 ml d'eau distillée
Acide chlorhydrique (0.1N)	0,891ml dans 100 ml d'eau distillée
Sel de potassium KOH(1M)	5,6 g dans 100 ml d'eau distillée
Sulfate de sodium(1%)	1 g dans 100 ml d'eau distillée
Acide oxalique(0,4%)	1 g dans 100 ml d'eau distillée
DCPIP	49 mg de DCPIP dans 100ml d'eau distillée
Chlorure ferrique(FeCl <sub>3</sub> ,6H <sub>2</sub> O)	0,16g dans 100 ml d'eau distillée
Tompon phosphate (0,2 M ; p =6,6)	2,83 g de Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> dans 100 ml d'eau distillée 2,38 g de NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> dans 100 ml d'eau distillée
Ferrocyanore de potassium(1%)	1g dans 100 ml d'eau distillée
Acide trichloracetiqueTCA(10%)	10g dans 100 ml d'eau distillée
DPPH*(0,06mg/ml)	0,325mg dans100ml de méthanol
ABTS*+	Persulfate de K+45Mm ABTS dans l'eau(0,6mM)

**Annexe X** : Composition (pour un litre) des milieux de culture utilisés

**Bouillon nutritive**

Peptone 10 g

Extrait de viande 5 g

Chlorure de sodium 5 g

pH 7,2

**Gélose mueller Hinton**

Extrait de viande 2 g

Hydrolysate acide de caséine 17,5 g

Amidone 1,5 g

Agar 10 g

pH 7,4

**Gélose nutritive**

Peptone 10 g

Extrait de viande 5 g

Chlorure de sodium 5 g

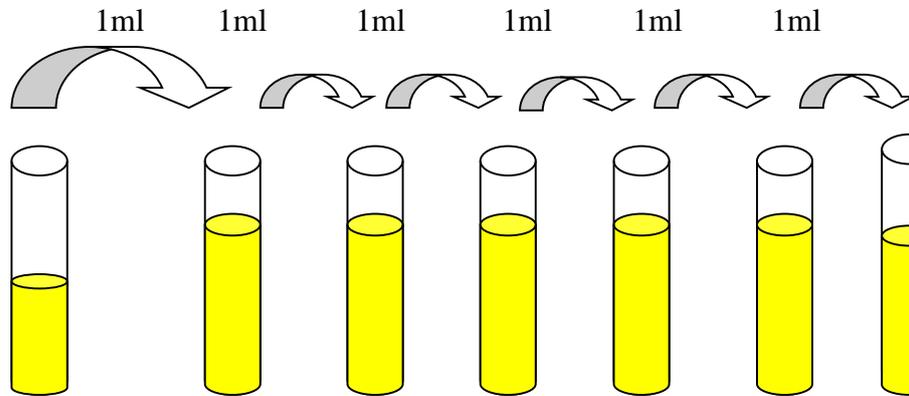
Agar 20g/l

pH 7

**Annexe XI: Schéma de la standardisation des souches bactériennes.**

Repiquage

série de dilutions



Souche mère  
(BN)

$10^{-1}$

$10^{-2}$

$10^{-3}$

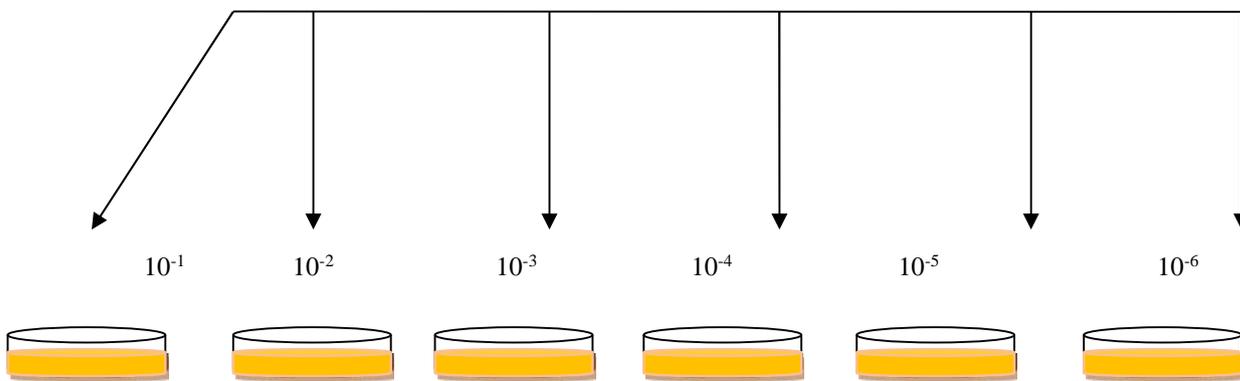
$10^{-4}$

$10^{-5}$

$10^{-6}$

9ml l'eau physiologie

Dénombrement sur milieu solide (gélose nutritive)



Incubation à 37°C pendant 18-24h

La concentration recherchée pour le teste d'antibiogramme est de  $10^5$ UFC/ml

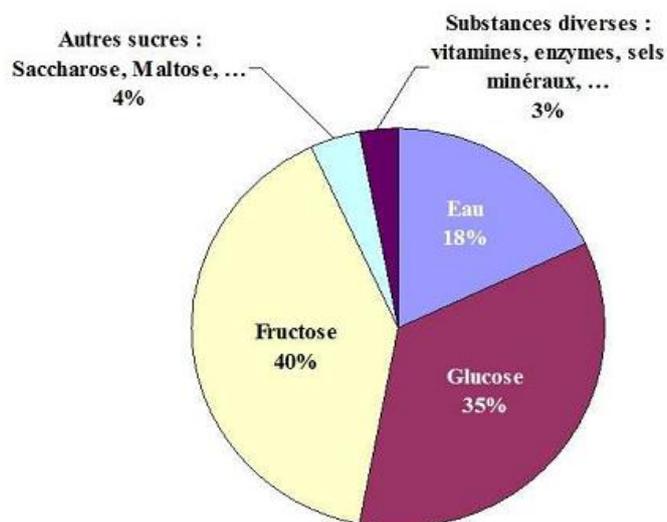
Annexe XII : Résultats de l'activité antibactérienne



**Photo 1** : Effet de miel sur *S.aureus*



**Photo 2** : Effet de miel sur *E. Coli*

**Annexe XIII : Les différents constituants du miel (Louveau, 1959)**

**Annexe XIV : Sels minéraux et oligoéléments du miel (Morse et al., 1980).**

Les constituants	Quantité en mg/kg	Les constituants minéraux	Quantité en mg/kg
<b>Minéraux</b>			
potassium	200-1500	Manganèse	0,2-10
Sodium	16-170	Chrome	0,1-0,3
Calcium	40-300	Cobalt	0,01-0,5
magnésium	7-130	Nickel	0,3-1,3
Fer	0,3-40	Aluminium	3-60
Zinc	0,5-20	Cuivre	0,2-6,0
plomb	< 0,02 – 0,8	Cadmium	< 0,005 – 0,15

## Résumé

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. L'objectif de notre travail vise à étudier les activités antioxydantes et antimicrobienne de quelques miel récoltés dans différentes régions de Tizi Ouzou. Les résultats des dosages montrent l'existence des différences d'un échantillon de miel à l'autre, et ceci soit pour la teneur en polyphénol totaux soit par les autres antioxydants tel que : les flavonoïdes, anthocyanines, Caroténoïdes et vitamine C.

L'étude montre l'existence de corrélation entre les teneurs en anti oxydants et les activités estimées par la neutralisation des radicaux DPPH\* et ABTS<sup>+</sup>\*, et par la réduction de FeCl<sub>3</sub>.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité microbienne. Cet effet inhibiteur a été constaté pour les six échantillons testés, sur les deux souches à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Mots clés :** miel, composés phénolique, activité antioxydantes, activité antibactérienne, Tizi Ouzou

## Summary

Honey is a complex biological compound of great diversity, giving it numerous properties, both nutritionally as therapeutically. many of the current researchs interest focuses on the study of antioxidant molecules of natural origin. The aim of our work is to study the antioxidant and antimicrobial activities of some honey harvested in different regions of Tizi Ouzou. Photochemical results show the existence of differences bet ween honey samples to another, and this is for the content of total polyphenol or by other antioxidants such as flavonoids, anthocyanins, carotenoids and vitamin C.

The study shows the existence of correlation between the antioxidants concentrations and activities estimated by the neutralization of radical DPPH\* and ABTS<sup>+</sup>\*, and by reduction of FeCl<sub>3</sub>.

The results show clearly the impact of natural honey on microbial sensitivity. This inhibitory effect was found for the six samples tested on two strains namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** Honey, phenolic compounds, antioxydant activity, antibacterienne activity.