

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



## *Mémoire de Master*

**Domaine** : Sciences de la matière  
**Filière** : Chimie  
**Option** : Chimie organique appliquée

**Par :**

DAOUDI Saad

### THEME

---

Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant du miel par différents systèmes d'extraction.

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

GHRIB Abdelaziz	Pr	<b>Président</b>
BOUZIANE Amel	MAA	<b>Examinatrice</b>
BATANA Fatima Zohra	MAA	<b>Examinatrice</b>
BAKCHICHE Boulanouar	MCA	<b>Rapporteur</b>

**Année Universitaire 2017- 2018**

<b>Introduction générale</b>	1
<b>PARTIE A BOBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Généralités sur le miel	4
I.1. Définition	4
I.2. Classification	4
I.2.1. Miel de nectar de fleurs	4
A. Miels mono floraux	4
B. Miels multi floraux	4
I.2.4. Miel de miellat	5
I.3. Composition chimique	5
I.4. Le jujubier ( <i>Ziziphus jujuba</i> )	8
I.5. Propriétés thérapeutiques de <i>Ziziphus jujuba</i>	9
II polyphénol, flavonoïde et radicaux libres	10
II.1. Les polyphénols	10
II.2. Les flavonoïdes	11
II.3. Les radicaux libres	12
II.3.1. Activité antioxydants	12
II.3.2. Piégeage de DPPH (1,1 Diphényl 2 PycrilHydrazil)	13
II.3.3. Piégeage de ABTS (2,2'-azynobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))	13
II.3.4. Test de phosphomolybdate (PPM)	14

## **Partie B Partie Expérimentale**

I.1. Echantillonnage	16
I.2.préparation des extraits phénoliques	16
I.3.Dosage des polyphénols totaux	17
I.3.1.Principe	17
I.3.2.Protocol expérimental	17
I.4.Dosage des flavonoïdes totaux	18
I.4.1.Principe	18
I.4.1. Protocole expérimental	18
I.5.Test de DPPH	18
I.5.1. Principe	19
I.5.2. Protocole expérimental	19
I.6-Test d'ABTS	20
I.6.1- Principe	20
I.6.2. Protocole expérimental	20
I.7.test de phosphomolybdate	21
I.7.1. Principe	21
I.7.2. Protocole expérimental	21

## **Résultats et discussion**

II.1.Choix du solvant	23
II.2.Teneur des polyphénols et flavonoïdes totaux	23
II.3.activités antioxydantes	25
II.4.Discussion	27
<b>Conclusion général</b>	30
<b>Références bibliographiques</b>	32

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



## *Mémoire de Master*

**Domaine** : Sciences de la matière  
**Filière** : Chimie  
**Option** : Chimie organique appliquée

**Par :**

DAOUDI Saad

### THEME

---

Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant du miel par différents systèmes d'extraction.

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

GHRIB Abdelaziz	Pr	<b>Président</b>
BOUZIANE Amel	MAA	<b>Examinatrice</b>
BATANA Fatima Zohra	MAA	<b>Examinatrice</b>
BAKCHICHE Boulanouar	MCA	<b>Rapporteur</b>

## *Remerciement*

*Nous remercions et louons Dieu, le tout puissant, actuellement et éternellement.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promoteur **Dr BAKCHICHE Boulanouar** non seulement pour avoir accepté d'encadrer ce travail, mais aussi pour la confiance qu'il nous a témoigné depuis le début, pour son soutien tous au long de la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et ses grands efforts.*

*Nous vous remercions encore et vous prions d'agréer monsieur l'expression de notre sincère reconnaissance*

*Nous remercions aussi, GHRIB Abdelaziz, BOUZIANE Amel, BATANA Fatima Zohra qui nous font l'honneur de participer à notre jury de soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous les personnes qui ont contribué à l'obtention de ce diplôme. Nous pensons en particulier à tous les enseignants qui nous accompagnent durant les années d'étude.*

*Enfin, notre grand attachement à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, surtout ceux que nous avons involontairement omis de citer.*

## Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes parents :*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien,  
tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son  
assistance et sa présence dans ma vie*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de  
sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A mes chères sœurs lala, emayman, fafa, aicha, chacha, Fatima ,khaoula  
et ma chères frères Mohammad pour leurs encouragements permanents,  
et leur soutien moral,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours  
universitaire,*

*Et à mon docteur BAKCHICHE Boulanouar qui doivent voir dans ce  
travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*Daoudi. Saad*

# Introduction général

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle. Selon **(Mokkadem, 1999)**, l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. Ces espèces, à vertus médicinales, peuvent être utilisées comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols et vitamines). Ainsi la valorisation de ces plantes à des fins thérapeutiques, pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques a fait l'objet de plusieurs recherches.

*Ziziphus jujuba* est l'une des plantes médicinales fruitières épineuses de la famille des Rhamnacées largement utilisée en médecine traditionnelle, cultivée dans des régions subtropicales de l'Asie, particulièrement en Chine, en Amérique et en Europe. La Chine est le plus grand producteur contribuant à plus de 90% de la production de jujube du monde et le seul pays exportant le fruit de jujube. C'est une espèce polyvalente : ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal **(Wang et al., 2016)**.

Le miel est une substance sucrée totalement nature, il est l'un des produits issus de la ruche, le miel de *Ziziphus jujuba* est considéré comme étant l'un des miels les plus chers au monde, il est très recherché pour ses qualités thérapeutiques notamment contre les maladies du foie, de l'estomac du diabète et autres **(Gonnet et al., 1982)**.

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale, est une étape très importante dans leurs identifications. En conséquence, les différentes méthodes d'extraction ont une influence sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale.

De méthode dites traditionnelles, comme le macération qui est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction **(Handa et al., 2008)**, étaient jusqu'ici considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels. Cependant, ces procédés sont généralement longs, et nécessitent de grandes quantités de solvant organique. Ces dernières années ont été marquées par le développement de méthodes d'extraction alternatives qui font intervenir l'extraction par fluides supercritiques, l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction assistée par microondes **(Wang et al., 2006)**. Ces techniques offrent de nombreux avantages d'un point de vue du temps d'extraction, de la consommation de

Solvant, du rendement d'extraction et de la reproductibilité, et cela sans altérer la qualité de l'extrait. (Letellier et al., 1999).

La présente étude inclus deux parties principales :

- ❖ La première partie est présente la description de *Ziziphus jujuba* et les méthodes d'extraction des polyphénols.
- ❖ La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale qui a pour but de : déterminer les teneurs en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et l'activité antioxydants (activité anti-radicalaire DPPH et ABTS et activité antioxydants totale phosphomolybdate) de miel de *Ziziphus jujuba*.

# Partie A

## Etude bibliographique

# **I. Généralité sur le miel**

## **I.1.Définition**

Selon (**Donadieu, 2003**), le miel répond à une définition bien précise qui est la suivante: "Le miel est la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée."

## **I.2.Classification**

Selon (**Sanz et al., 2005**), le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou du miellat recueilli sur les plantes. Donc d'après leur origine botanique les miels peuvent être divisés en :

### **I.2.1.Miel de nectar de fleurs**

Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales nommées nectarifère. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'aire, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant (**Sanz et al., 2005**). Il est composé de trois sucres principaux (le saccharose, glucose et le fructose), d'acides organiques, de protéines dont des enzymes, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques. Tous ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (**Hoyet , 2005**).Selon (**Nair ,2006**), les miels de nectar de fleurs peuvent être divisés en deux groupes :

#### **A. Miels mono floraux**

Un miel mono florale est un miel récolté par les abeilles sur une espèce végétale unique.de tels miels sont exceptionnels, car il est rare que l'abeille ne butine qu'une seule espèce mellifère. On peut donc considérer que ces miels unis floraux naturels, sont des miels provenant d'une plante déterminé mais pas à 100%.

## **B. Miels multi floraux**

Miels donnés par plusieurs espèces végétales ou sans origine florale précise, il peut y avoir la dominance d'un pollen accompagné par d'autres, en petites quantités ou bien il peut présenter une mosaïque de pollens.

### **I.2.4.Miel de miellat**

Le miellat est un produit sucré élaboré par diverses insectes piqueurs et suceurs généralement le puceron à partir de la sève des végétaux et dont se nourrissent certaines abeilles et fourmis (**Hoyet, 2005**). Il est constitué d'azote, de minéraux, d'acide organiques, de glucose et de fructose ainsi que d'autres sucres tels que la mélézitose, le raffinose et l'isomaltose (**Bogdanov, 2004**).

## **I.3.Composition chimique**

Comme nous l'avons vu précédemment, le nectar à l'origine du miel possède une composition différente pour chaque plante. Cette différence, aussi infime soit-elle, se retrouve dans les miels, ce qui leur donne une saveur, une couleur ainsi qu'une évolution propre. Comme pour les vins, les récoltes de miels sont différentes selon les régions, mais aussi selon les conditions climatiques de l'année. (**Wykesg, 1952**).

Le miel est principalement composé de sucre (monosaccharides), plus précisément d'un mélange de glucose (31%) et de fructose (38%). Il contient également de l'eau (17%) et environ 6% de disaccharides (sucrose, etc.) (**Jeremy, 2012**). Il est évident qu'en réalité, cette composition est beaucoup plus complexe et aujourd'hui, tous les constituants sont loin d'être connus (figure 1).

### **➤ Eau**

La teneur en eau est l'une des caractéristiques la plus importante des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique, et dans certaine mesure sa cristallisation (**Terrab et al., 2002**). Le miel est operculé par les abeilles lorsque sa teneur en eau atteint en moyenne 17 à 18% (**Bogdanov et al., 2005**).

En générale, la teneur en eau se situe dans la plupart des cas entre 15-20 g/100 g de miel, sauf quelque cas exceptionnelles (miel de callune dont la teneur en eau est normalement supérieur à 23%) un excès d'eau augmente le risque de fermentation. Il existe un lien entre le teneur en eau ou l'activité de l'eau et la teneur en levures, la teneur en levures augmente de 5 fois dans le cas d'un accroissement de la teneur en eau de 1g /100g. En qu'il existe qu'un très faible danger de fermentation. Les teneurs en eau élevées sont à mettre au compte d'une récolte trop précoce et d'un climat humide (**Bogdanov et al., 2004**).

#### ➤ **Les sucres**

Les sucres représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. Chaque miel susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont des mono, di, tri , ou polysaccharides représentaient les 80% du poids total de miel. Deux d'entre eux ; le glucose et le fructose, dominant nettement et représentent près de 80 % (**Gleiter et al., 2006**). Les proportions en glucose et fructose ne sont jamais équilibrées, ceci et dû à la composition des nectars en sucre réducteurs avec des quantités variables (**Miriam et al., 2005**). D'autres sucres tels que le maltose 7,2%, le saccharose 1,5% et quelque oligosaccharide 4,2% sont présents dans le miel (**Shin et Ustinol., 2005**).

#### ➤ **Rapport fructose/glucose**

Shin et (**Ustinol, 2005**) ont montré que les hexoses (fructose et glucose) dominant toujours ; le rapport des hexoses entre eux est la caractéristique de certains miels. Les miels contiennent des quantités à peu près égales de ces hexoses, le fructose domine légèrement. En revanche, le miel élaboré par les abeilles butinant presque exclusivement la même espèce végétale, contient souvent plus de fructose que de glucose ou rarement d'avantage de glucose que de fructose (**Dailly, 2008**). Parmi les miels riches en fructose (F/G=1 ,5 à 1,7), il faut citer par exemple :

Le miel de Robinia pseudoacacia

Le miel de sauge.

Le miel de Castanea sativa Mill

De même que certains miels de miellat.

Les miels riches en fructose restant longtemps liquides et ne cristallisent souvent qu'au bout de plusieurs années. Les miels riches en glucose (F/G inférieur à 1 %) sont plus rares ; ils cristallisent en général aussitôt après la récolte et parfois déjà dans rayons, on cite à titre d'exemples ; le miel de pissenlit et le miel de colza (**Polus, 2008**).

### ➤ **Saccharose**

Des récentes analyses ont montré que la teneur en saccharose des miels naturels est généralement plus basse (la limite maximale est de 10%), souvent elle n'atteint même des quantités mesurables.

Il existe certaines différences végétales qui ont fournis le nectar ; les miels châtaignier Castanea sativa, de tilleul de bruyère, de fleur d'oranger et de certains espèces de labiacées sont riches en saccharose, par ailleurs les miels de colza, de trèfle, de sarrasin sont pauvres en saccharose (**Guler et al., 2007**).

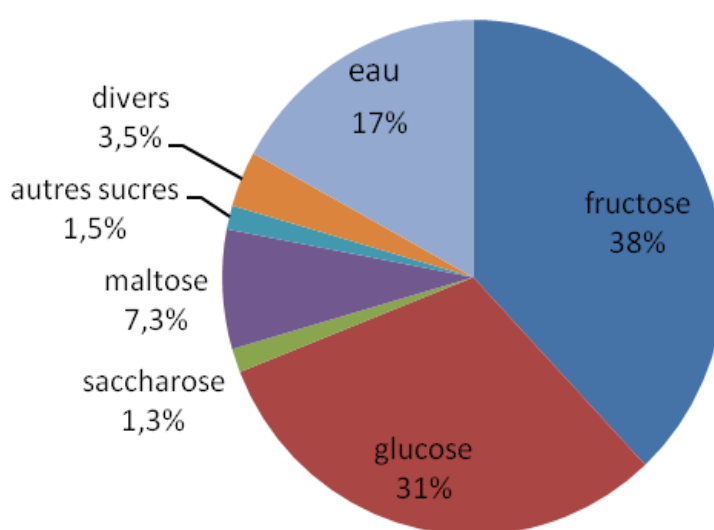
Malgré les teneurs très élevées de saccharose dans le nectar de lavande, il est rare que l'on retrouve plus de 10% dans le miel. l'abeille est en effet capable de transformer en glucose et en fructose grâce à une action d'enzyme « l'inverse » .,une relation étroite existe entre l'activité de l'invertase et le pourcentage de saccharose résiduel dans le miel , les plus forte teneur en saccharose son observée lorsque les colonie sont faible (**Allipi , 2000** ).

### ➤ **Maltose**

La teneur en maltose est sensiblement plus élevée que la teneur en saccharose, aussi bien dans les miels de fleurs que dans les miels de miellat. Ces derniers lorsqu'ils sont purs, contiennent souvent 2à3 fois et parfois jusqu'à 10 fois plus de maltose que da saccharose. Compte tenu de l'ensemble du groupe de Maltose, il est possible de rencontrer des miels contenant 10% de maltose et d'iso maltose (**Cavia et al., 2006**).

### ➤ Mélézitose (tri saccharides)

Une teneur élevée en mélézitose est caractéristique de certain miel de miellat, tandis que ce sucre fait défaut dans les miels de fleurs, il peut constituer 4% à 11% de sucres totaux, allant jusqu'à 16% de la matière sèche. Les miels riches en mélézitose se cristallisent souvent alors qu'il est sont encore dans les rayons de sortes qu'ils sont difficiles à récolter. Parmi ces miels riches en mélézitose et difficiles à centrifuger, on trouve les miels élaborés à partir du miellat de méléze, de tilleul ou certains variétés d'épicéa, certains miellat arrivent à renfermer des taux de mélézitose atteignant 15% à 18% (**Kayacier et Karaman., 2008**).



**Figure 1** : Composition moyenne du miel (**Bruneau, 2002**).

#### **I.4.Le jujubier (*Ziziphus jujuba*)**

*Ziziphus jujuba* est une plante médicinale importante appartenant à la famille Rhamnacée, arbuste épineuse connue par ses fruits ayant la grosseur d'une belle olive, utilisée pour traiter de nombreux troubles depuis l'Antiquité et considérée comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols, vitamines). Distribuée dans les régions tropicales et subtropicales dans le monde, particulièrement en chine,

ou elle est cultivée depuis plus de 4000 ans. Elle est rencontrée couramment dans le nord de l'Algérie, dans le Midi de la France, en Tunisie et au Maroc (Walali et al., 2003). C'est une espèce polyvalente : ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal (Wang et al., 2016).



**Figure 02 :** Fruit de *Ziziphus jujuba* (Mengjun et al., 2003)

### **I.5. Propriétés thérapeutiques de *Ziziphus jujuba***

*Zizyphus jujuba* est largement utilisée dans le traitement de certaines maladies. Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Ziziphus jujuba* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne.

Les graines de *Z. jujuba*, sous forme de poudres, assurent la purification du sang et facilite la digestion. Plusieurs études leur accordent d'autres activités (hypnotique, sédative, hypotensive et hypothermique) (Tripathi et al., 2001; Su et al., 2002). Le fruit de *Ziziphus jujuba* pour le traitement des infections inflammatoires de la gorge, des voies respiratoires, des inflammations intestinales, urinaires ainsi pour traiter la constipation (Zhao et al., 2006). Les feuilles de *Z. jujuba* peuvent être utilisées dans la préparation du thé sous forme d'infusion (Zhao et al., 2008). Elles sont utilisées comme agent hypoglycémiant pour les diabétiques. Des études ont prouvé les effets hypnotiques et sédatifs des feuilles, connues comme régulatrices de l'activité du système nerveux central en réduisant l'anxiété en favorisant le sommeil et en réduisant l'obésité (Azam et Ali., 2006).

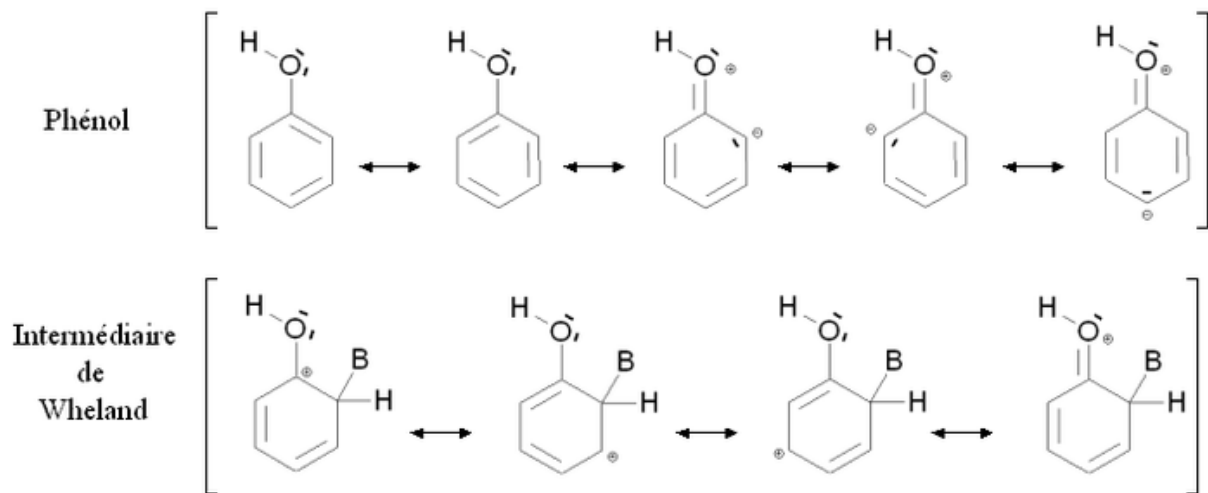
## **II. Polyphénols, flavonoïdes et radicaux libres**

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimique de la croissance et de la reproduction des plantes (**Amlan et Jyotisna., 2010**). Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme dessiccation et radiation UV (**Greathead, 2003**). Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées (**Hartmann, 2007**). Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes chimiques très variés :

### **II.1. Les polyphénols**

Constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétale plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (**Marin et Andriantsitohaina., 2002**). L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 2009**). Ce sont des pigments généralement responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruit (jaune, orange, rouge). Ils sont présent partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Par ailleurs, les polyphénols font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Les principales sources alimentaires sont les fruits, légumes et les céréales...etc (**Edeas, 2007**).

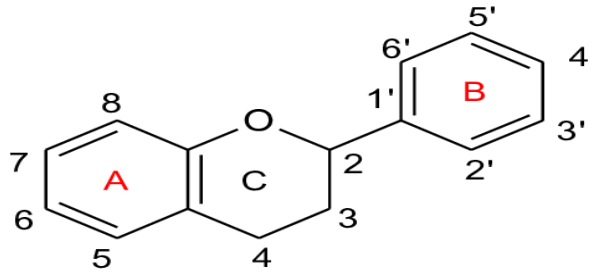


**Figure 2** : Structure chimique de base des acides phénoliques (Chira et al., 2008).

## II.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme des composés phénoliques généralement présents dans la règne végétal (Seleem et al., 2017). Ils forment les pigments responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles. A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme hétérosides (Cirmi et al., 2016). Leur squelette de base est constitué de 15 atomes de carbone formant deux noyaux aromatiques et un hétérocycle central de type pyrane, soit la structure C6-C3-C6 (Hatahet et al., 2017).

Les flavonoïdes jouant de nombreux rôles dans les processus vitaux des plantes : défense contre les prédateurs, attraction des pollinisateurs, pigmentation des organes, croissance, protection contre les ultra-violets (Jiang et al., 2016). Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes (Malgorzata et al., 2017).



**Figure 3** : Structure de base des flavonoïdes.

### II.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (**Hininger et Favier., 2010**). Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les sources des radicaux libres sont nombreuses (**Fatima Zohra Bouras et coll., 2013**). En chimie, un radical libre est un atome ou une molécule dont la structure se caractérise par la présence d'un électron libre rendant cette espèce chimique beaucoup plus réactive que l'atome ou la molécule dont il est issu. Ces composés issus de l'oxygène sont très toxiques pour la cellule et peuvent la détruire. L'organisme a développé le système de défense pour s'en protéger : on parle alors d'antioxydants ou d'anti radicaux libres. Cette production de radicaux libres est impliquée dans la survenue des principales maladies chroniques que sont les maladies cardiovasculaire, les cancers, le diabète ou les maladies inflammatoires.

#### II.3.1. Activité antioxydants

L'activité antioxydants est considérée comme la capacité à piéger les radicaux libres, par l'apport d'un atome hydrogène ou d'un électron et la stabilisation des espèces formées. Une molécule antioxydants est une espèce chimique réductrice à bas potentiel d'oxydation, comportant des éléments tels que des hydrogènes phénoliques, des cycles aromatiques et des liaisons multiples.

### II.3.2- Piégeage du DPPH (1,1 Diphényl 2 PycrilHydrazil)

Cette méthode spectrophotométrique (UV\_ visible) est largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydant des composés naturels ou extraits de plantes. Le 2,2- diphényle- 1-picrylhydra zyl (DPPH) est un radical stable qui se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. C'est une méthode qui présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide [Lee et al., 1998 ; Bozin et al., 2008].

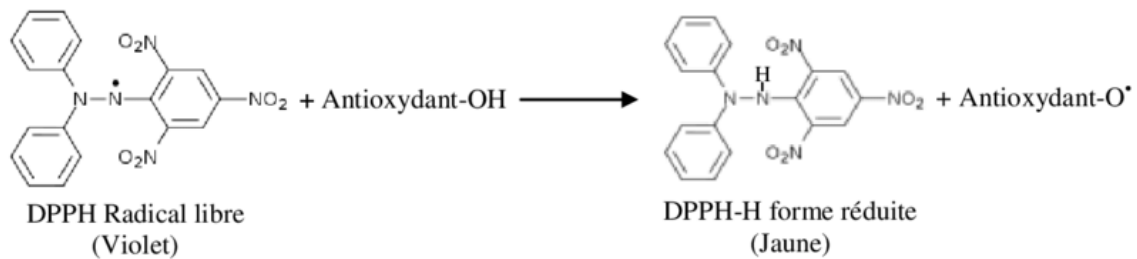
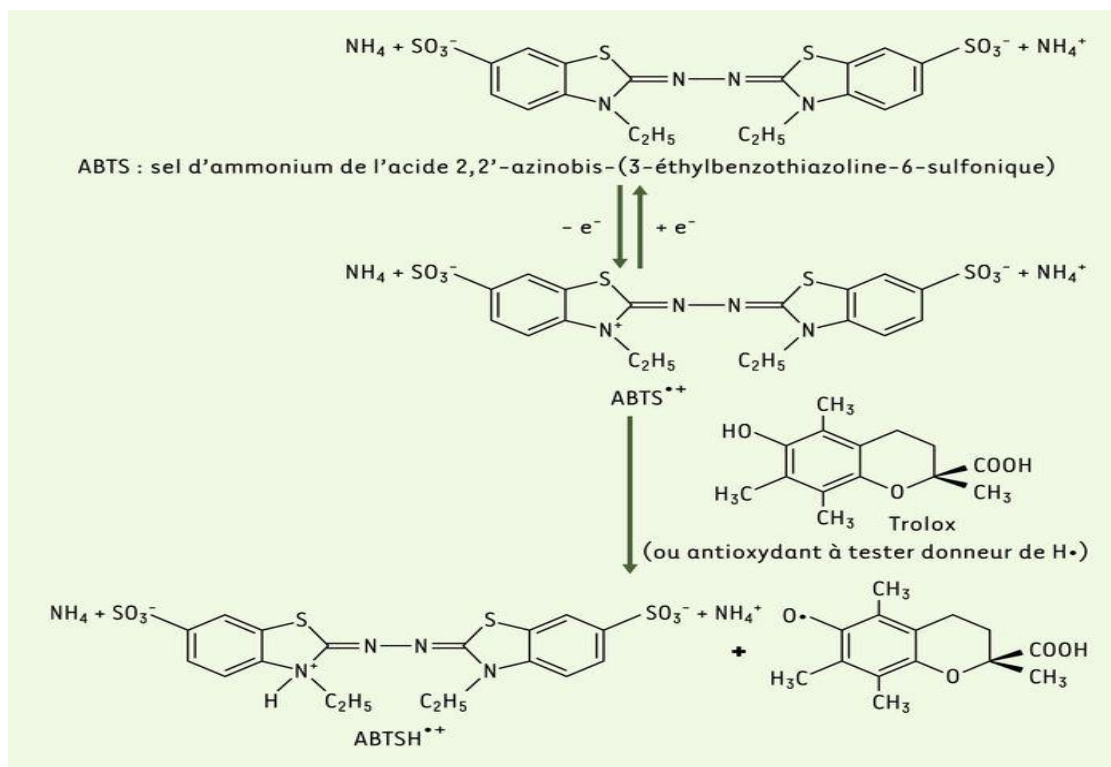


Figure 4 : Réduction du radical DPPH (Molyneux, 2004).

### II.3.3. Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])

L'activité antioxydant de piégeage du radical ABTS de extraits de miel a été mesurée par la décoloration du cation ABTS de telle que décrite par (Re et al., 1999) et (Pellegrini et al., 1999), avec quelques modifications. Le cation radical ABTS a été par réaction de 7 mM d'ABTS<sup>+</sup> avec une solution de 2.45mM de persulfate de potassium. On laisse ce mélange réagir dans l'obscurité à température ambiante pendant 17 heures avant son utilisation. La solution ABTS<sup>+</sup> a été avec de l'eau distillée pour donner une absorbance 0.7± 0.01 à 734 nm.



**Figure 5 :** Formation et piégeage des radicaux ABTS<sup>•+</sup> par antioxydant donneur de H•

### II.3.4. Test de phosphomolybdate (PPM)

Le test est basé sur la réduction du molybdate. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate /Mo) à un pH acide. On mesure la diminution de coloration du complexe molybdène en présence d'antioxydant. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant (**Muanda et al., 2009**). La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique se fait à partir d'une solution mère aqueuse d'acide ascorbique, de concentration massique de 1 mg.mL<sup>-1</sup> une gamme d'étalons de solutions filles en milieu aqueux a été préparée.

# Partie B

## Etudie expérimentale

## I.1.Echantillonnage

Les échantillons de miel, au nombre de deux offerts par les apiculteurs, ont été récoltés durant le mois de novembre de l'année 2017, d'une manière aléatoire, dans la wilaya Ghardaïa. L'extraction du miel partit des cadres de cire, provenant de ruches traditionnelle et réaliser manuellement.

## I.2.Préparation des extraits phénoliques

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elles consistent la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**Handa, 2008**).

**Tableau 1** : Système d'extraction utilisé

Extrait	Système	%
C1	Ethanol /eau	80%
C2	Méthanol/eau	80%
C3	Acétate d'éthyle /eau	80%

### **I.3.Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par **(Singleton et Rossi)**. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

#### **I.3.1.Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de -molybdène **(Ribéreau, 1968)**. La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Boizot et Charpentier., 2006)**.

#### **I.3.2.Protocal expérimental**

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie (uv,visbal), suivant le protocole appliqué en 2006 par Wong et ses collaborateurs.

200  $\mu$ l d'extrait miel est mélangé avec et 1000  $\mu$ L de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Après 5 minutes, 800  $\mu$ l de 2% de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ). Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-500  $\mu$ g/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par g poids sec de l'extrait (mg EAG/g extrait).

## **I.4.Dosage des flavonoïdes totaux**

La quantification de contenu flavonoïque est estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe avec les flavonoïdes.

### **I.4.1.Principe**

L'addition de chlorure d'ammonium entraîne la formation d'un complexe organométallique (Flavonoïde- $\text{Al}_3^+$ ). Dans ce complexe les ions  $\text{Al}_3^+$  vont réagir avec les fonctions alcools des 2cycles aromatique et hétérocycle de la structure flavonoïdique. Cette réaction elle va générer un changement de la charge et de la couleur de milieu réactionnel. (Couleur jaune).

### **I.4.2.Protocole expérimental**

Cette méthode consiste à mélanger 1000 $\mu\text{l}$  de l'extrait et 1000 $\mu\text{l}$  du réactif trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), après incubation à 30 min dans l'obscurité à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à partir d'un spectrophotomètre UV-visible à 420 nm.

La quantification de flavonoïdes est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ,  $b=0$ ) réalisée par une solution étalon (Rutine) à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de Rutine (ER)/ g de miel de *Ziziphus jujuba*.

## I.5. Test de DPPH

Le DPPH (1,1 Diphényl 2 PicrylHydrazil) est un radical libre stable de couleur violette intense, soluble dans du méthanol, fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (**Brand Williams et al., 1995**).

### I.5.1. Principe

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 Diphényl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Moyeux, 2004**).

### I.5.2. Protocole expérimental

1ml de solution de DPPH et 50µl de l'extrait sont mélangés. Puis le mélange obtenu est incubé à température ambiante et a l'obscurité pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à 517nm. Une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) est préparée en utilisant l'acide ascorbique comme standard pour déterminer le taux de l'activité anti-radicalaire. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAC)/g de miel de *Ziziphus jujuba*.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon l'équation :

$$\%Inb = \frac{A - A_0}{A_0} * 100$$

% Inb : pourcentage d'inhibition

$A_0$  : absorbance du témoin

A : absorbance de l'extrait

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50), la valeur de (IC50) la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

## I.6. Test d'ABTS

### I.6.1. Principe

La méthode de radicale ABTS (l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique. (Jiri et al., 2010). Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à volume égal une solution de 7 mM de persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$  et une solution d'ABTS à 2.45 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à température ambiante durant 16 h avant utilisation. La solution obtenue est diluée avec du méthanol pour obtenir une absorbance de 0.70 à 734 nm.

### I.6.2. Protocole expérimental

1 ml de cette solution fraîchement préparée sont ajoutés à 1000  $\mu$ l d'extrait et la lecture est faite à 734 nm après 6 minutes d'incubation dans le bain marie à 30°C.

Une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) est préparée en utilisant l'acide ascorbique comme standard pour déterminer le taux de l'activité anti-radicalaire. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAC)/g de miel de *Ziziphus jujuba*, Les pourcentages d'inhibitions (%Inb) en appliquant la formule suivante :

$$\%Inb = \frac{A - A_0}{A_0} * 100$$

% Inb : pourcentage d'inhibition

$A_0$  : absorbance du témoin

A : absorbance de l'extrait

## **I.7. Test de phosphomolybdate**

Le test du PPM (PhosphoMolybdate) est une variante du test au DPPH. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

### **I.7.1. Principe**

Le test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo (V) à un pH acide (**Prieto et al., 1999**). On mesure l'augmentation de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydants des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...).

### **I.7.2. Protocole expérimental**

La méthode consiste à introduire dans un tube 200  $\mu\text{l}$  de chaque extrait à différentes concentrations mélangés à 2000  $\mu\text{l}$  d'un réactif composé de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,6 M), de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à  $95^\circ\text{C}$  pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 200  $\mu\text{l}$  de méthanol mélangé avec 2000  $\mu\text{l}$  du réactif mentionné ci-dessus. Les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide ascorbique par gramme de miel de l'extrait (mg EAC/g extrait).



# Partie

# Résultats et

# discussion

## II.1.Choix du solvant

Le choix de solvant est l'une des plus importantes étapes au cours d'une extraction. Le méthanol, l'éthanol et l'acétate d'éthyle dans l'eau, aussi bien que l'acétone et éthyle d'acétate sont jusqu'ici les solvants les plus généralement utilisés dans l'extraction des composés phénoliques des matières végétales (Hayouni et al.,2007 ). L'addition de l'eau au solvant organique crée habituellement un milieu plus polaire qui facilite l'extraction des polyphénols comme suggéré par (Spigno et al., 2007). En augmentant la proportion de l'eau, la polarité du solvant augmente également, ce qui permettent d'avoir des rendements élevés mais non sélectifs (Leandro et al., 2012).D'après les résultats de la présente étude, la teneur en polyphénol extraite varie de 8à 45mg/kg de miel. Cette variation de la teneur extraite est due probablement à la différence de polarité existant entre les solvants utilisés (Naczk et Shahidi., 2006).

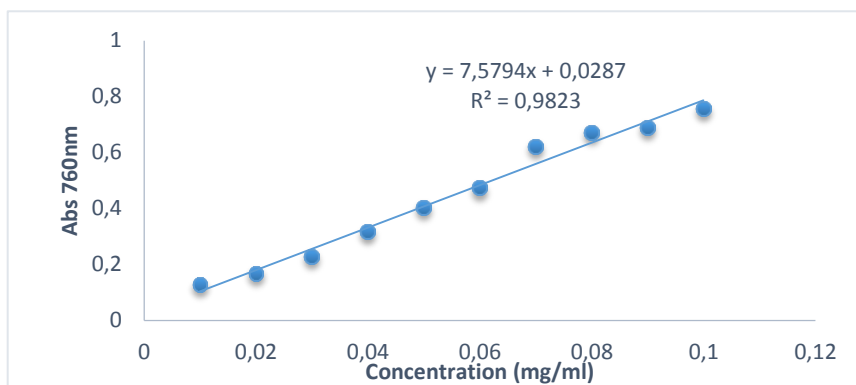
## II.2.Teneur des polyphénols et flavonoïdes totaux

La quantification des composés phénolique est utilisée par le réactif de Folin- Ciocalteu, alors que le dosage des flavonoïdes totaux est réalisé par la méthode colorimétrique au Chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les figures (6 et 7) représentent les courbes d'étalonnages de l'acide gallique et la rétine.

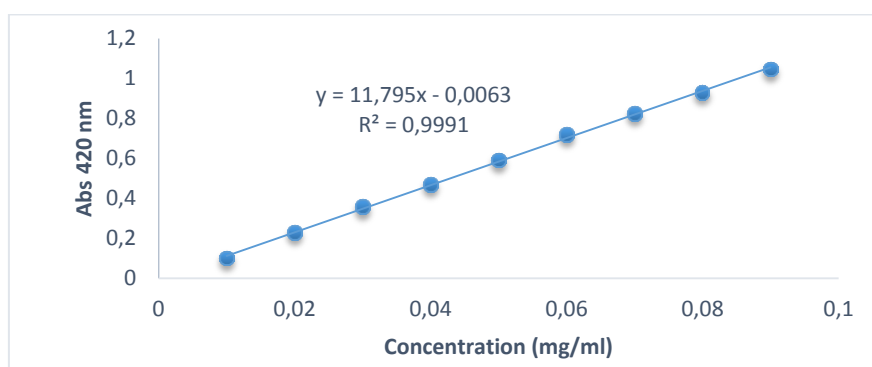
Les résultats obtenus au cours du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans le trois extraits : eau- éthanol (C1), eau - méthanol (C2), eau - acétate d'éthyle (C3) sont représentés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits étudiés

Extrait	Polyphénol (mg/kg) EAG/g d'extrait	Flavonoïde (mg/kg) ER/g d'extrait
C1	45±0.012	36±0.006
C2	45±0.017	19±0.002
C3	8±0.001	2±0.000



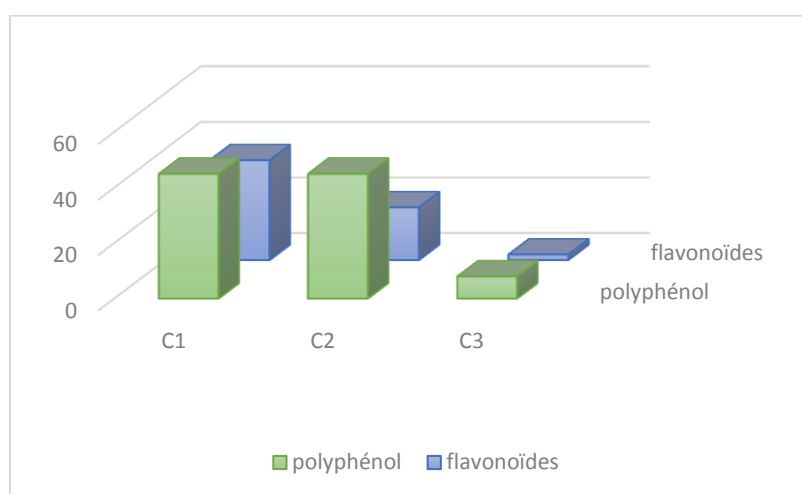
**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols



**Figure 7 :** Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes

Le Tableau 2 montre que la teneur en polyphénols des extraits de miel varient significativement de 8mg/kg (extrait acétate d'éthyle de C3) à 45 mg/kg (extrait éthanolique de C1 et méthanolique C2). Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par (Al-Mamary et al., 2002), (75,13– 246,21mg/100g). Ces variations peuvent être attribuées à l'origine botanique, à l'année de récolte et à l'environnement des ruches (Blasa et al., 2006). L'analyse statistique a révélé que le méthanol et l'éthanol sont les meilleurs solvants d'extraction des polyphénols pour le miel. L'extraction des composés phénoliques est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction et les dimensions des particules de l'échantillon. La solubilité des composés phénoliques est dépendante de la polarité du solvant utilisé et de leur degré de polymérisation (Nacz et Shahidi., 2004).

Les résultats enregistrés pour la teneur en flavonoïdes des échantillons de miel, présentés dans le tableau 2, montrent que la teneur la plus élevée est observée avec les extraits éthanolique C1 et méthanoliques C2 de miel (36 mg/Kg) et (19mg/kg) respectivement, par contre la valeur la plus faible est obtenue avec l'extrait l'acétate d'éthyle du miel (2mg/kg). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par (Blasa et al., (2006) (2-181 mg/100g). La variation de la teneur en flavonoïdes du miel dépend de la source florale, de la région, de la saison et du site de collecte (Česksterytè et al., 2006). Les extraits éthanoliques de miel ont les teneurs les plus élevés en flavonoïdes par rapport aux autres extraits, pour cela on peut le considéré comme le meilleur solvant d'extraction.



**Figure 8** : Histogramme représente les teneurs en polyphénols totaux et teneurs flavonoïde totaux des extraits de miel

### II.3. Activités antioxydants

L'activité antioxydant déterminée par la méthode de DPPH dans Différents extraits vari en de miel selon la nature de solvants, les résultats sont exprimés dans la Tableau 3. Le cation radical  $ABTS^{+}$  est réactif vis-à-vis la plupart des antioxydants, y compris les phénoliques, les thiols et de la vitamine C. (Richard et al., 2009). Au cours de cette réaction, le radical cation  $ABTS^{+}$  de couleur bleu est reconverti à sa forme neutre incolore. Les résultats de DPPH et ABTS et phosphomolybdate, exprimé en pourcentage de réduction du phosphomolybdate, sont représentés dans la Tableau 3.

Pour les extraits de miel, les valeurs de IC50 de l'activité antiradicalaire obtenus par les trois solvants révèlent une différence, l'éthanol est le meilleur solvant de 2.08 mg/ml suivis par méthanol et l'acétate d'éthyle de 4.16 et 30.05 mg /ml, respectivement.

L'activité antioxydant déterminée par la méthode d'ABTS dans les différents extraits selon la nature de solvants. Les résultats des extraits analysés par les différents solvants (l'éthanol 50% et le méthanol 50% et l'acétate d'éthyle 50%) les résultats sont exprimés dans le tableau 3.

Pour les extraits de miel, les taux de l'activité antiradicalaire obtenus par les trois solvants révèlent une différence, cependant ; le méthanol est le meilleur solvant de 0.38 mg /ml suivis de 1.50 mg/ml pour l'éthanol et 1.50 mg/ml pour l'acétate d'éthyle

La valeur la plus élevée en concentration d'inhibition IC50 était de (0.071mg/ml) dans l'échantillon (C1) et. Par contre la valeur la plus faible était de (0.032mg/ml) dans l'échantillon (C3), cela confirme la possibilité qu'il contient la plus grande quantité de composés accepteurs de radicaux libres et le plus grand potentiel antioxydant par pour le molybdate

**Tableau 3 :**IC50 (mg/ml) des tests DPPH, ABTS et phosphomolybdate

<b>Extrait</b>	<b>DPPH (mg/ml)</b>	<b>ABTS (mg/ml)</b>	<b>Phosphomolybdate (mg/ml)</b>
C1	2.08±0.1	1.52±0.05	0,071±0.001
C2	4.16±0.5	0.38±0.01	0,040±0.001
C3	30.05±2	1.50±0.04	0,032±0.001

## II.4.Discussion

L'objectif de l'étape d'extraction des composés phénoliques à partir de la matrice végétale est de libérer ces composés à partir des structures vacuolaires où ils se trouvent, par la rupture du tissu végétal ou par le phénomène de diffusion. Les polyphénols sont des composés polaires (présence de plusieurs groupements hydroxyles), l'extraction doit être effectuée avec un solvant organique mélangé avec l'eau. Après optimisation ; le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques de miel de *Ziziphus jujuba* sont l'éthanol 50%.

Les résultats obtenus pour les composés phénoliques est révèlent une influence significative du pouvoir d'extraction du solvant, l'éthanol et le méthanol (50%) les solvants le plus efficaces à extraire les polyphénols totaux. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **(Jelassi et al., 2012) et (Bourgou et al., 2016)**.

Nous avons également calculé le pourcentage des flavonoïdes dans les phénols totaux. D'après les résultats, on remarque que ces pourcentages sont inférieurs à 100% et que les valeurs des quantités en flavonoïdes sont toujours inférieures de celles des composés phénoliques totaux et que les systèmes solvants méthanol – eau sont les plus capables d'extraire des flavonoïdes.

D'après les résultats obtenus pour les flavonoïdes totaux dans les composés phénoliques et la mesure de l'activité antiradicalaire par DPPH et l'ABTS, on remarque une amélioration dans les teneurs en flavonoïdes et dans le solvant méthanolique 50% de miel de *Ziziphus jujuba*

Le tableau 3 montrent les résultats obtenus pour l'activité antioxydants, mesurée par le DPPH et ABTS et Phosphomolybdate, des échantillons de miel. Les quantités d'antioxydants équivalents en acide gallique (QAEAG) obtenues pour les échantillons de miel sont inférieures. Les valeurs de l'activité antioxydants de l'acide gallique sont supérieures à ceux de l'acide ascorbique.

Les résultats indiquent l'existence de bonnes IC50 entre le pouvoir antiradicalaire DPPH• des extraits et les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et en acide ascorbique de miel *Ziziphus jujuba* avec de solvant éthanolique respectivement.

L'étude statistique montre l'existence d'une bonne IC50 entre le pouvoir Anti-radicalaire ABTS<sup>+</sup> des extraits et les teneurs en, composés phénoliques, flavonoïdes et en acide ascorbique de miel *Ziziphus jujuba*, avec de solvant méthanoïque, respectivement.

Les résultats du pouvoir réducteur du phosphomolybdate des extraits étudiés augmentent avec l'augmentation EC50 du miel (0.038mg/ml, 0.040mg/ml et 0.071 mg/ml), ont révélée des pourcentages de réductions dont le miel *Ziziphus jujuba* présent la meilleure réduction en phosphomolybdate

D'autre part, le solvant qui a donné le meilleur résultat avec le teste de DPPH pour les échantillons de miel est l'éthanol, tandis que pour ABTS, c'est les extraits méthanoliques qui ont montré une forte activité et pour le teste Phosphomolybdate le meilleur solvant méthanoliques. La divergence de l'activité antioxydants des échantillons est attribuée à l'origine botanique et à la présence d'agents antioxydants différents tel que les flavonoïdes et les acides phénoliques (Al-Mamary et al., 2002).

# Conclusion général

L'étude a comme objectif la réalisation de quelques analyses phytochimique de et déterminer l'effet des méthodes d'extraction par microondes est trois solvant, l'extraction sous agitation sur les teneurs en composés phénoliques et l'évaluation l'activité antioxydants.

Le dosage des composés phénoliques révèle que l'extraction des polyphénols totaux et présentant par macération présentent les teneurs les plus élevées en solvant éthanol et méthanol (45 mg /kg), l'éthanol et méthanol c'est un bon solvant pour le dosage des composés phénoliques. Le dosage des composés flavonoïdes révèle que l'extraction des flavonoïdes totaux et présentant par macération présentent les teneurs les plus élevées en solvant l'éthanol et méthanol (36 mg/kg) et (19 mg/kg), l'éthanol et méthanol c'est un bon solvant pour le dosage des composés flavonoïdes.

Les résultats indiquent l'existence de bonnes IC50 entre le pouvoir antiradicalaire DPPH• des extraits et les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et en acide ascorbique de miel *Ziziphus jujuba* avec de solvant éthanolique respectivement.

L'étude statistique montre l'existence d'une bonne IC50 entre le pouvoir Anti-radicalaire ABTS<sup>+</sup> des extraits et les teneurs en, composés phénoliques, flavonoïdes et en acide ascorbique de miel *Ziziphus jujuba*, avec de solvant méthanoïque, respectivement.

Les résultats du pouvoir réducteur du phosphomolybdate des extraits étudiés augmentent avec l'augmentation IC50 du miel (0.038mg/ml, 0.040mg/ml et 0.071 mg/ml), ont révélée des pourcentages de réductions dont le miel *Ziziphus jujuba* présent la meilleure réduction en phosphomolybdate.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active. Des essais Complémentaires seront nécessaires pour confirmer les performances mises en évidence. Ce travail mérite une continuité.



# Références Bibliographique

- M.Laraba, A.Serrat, G. Ouassaa.** Etude in vitro de l'activité antioxydants des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale, Thèse de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, (2016).
- H. Ouatah, f. Ouchabaa Yah.** Activité antioxydants antibactérienne de quelques miels de wilaya Béjaia, Thèse de Master. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, (2016).
- K. Djabali, K. Djellouli.** Effet des méthodes d'extraction (Agitation, microonde et sonication) sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydants des extraits de miel et de confiture de *Ziziphus jujuba*, Thèse de Master. Université A. Mira – Bejaia, (2017).
- H. Sana.** Etude des propriétés physicochimiques et antioxydants du miel soumis au vieillissement accéléré, Thèse de Master. Université A. Mira – Bejaia,(2017).
- N. Marhoune, F. Boulebtina.** Extraction des polyphénols ou des flavonoïdes des feuilles de mures sauvage (*rubus fruticosus*) par le méthanol ou dans un milieu aqueux : Test de tolérance au glucose et activité anti-oxydante, Thèse de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, (2017).
- S. Yahia Mahammed, W. Yahia Mahammed.** Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla , Djendel, Bathia , Bourached et Miliana, Thèse de Master. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, (2015).
- B. Abdel Hadi, H. Mokrane.** Modélisation de l'extraction des antioxydants de miel par le modèle Box-Behnken, et étude des Activités antioxydantes et antibactériennes, Thèse de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, (2014).
- N. Nadia.** Comparaison entre l'activité antioxydants du miel et de la propolis, Thèse d'ingénieur. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, (2008).
- V. Česksterytė, S.Kazlauskas, et J. Račys.** Composition of flavonoids in Lithuanianhoney and beebread, *BIOLOGIJA*,(2006).
- M. Nacz et F. Shahidi .** Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A*, (2004).
- M. Blasa, M. Candiracci, A. Accorsi, et M.P. Piacentini.** Raw millefiori honey ispacked full of antioxidants. *Food Chemistry*,(2006).
- S.S. Handa.** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and AromaticPlants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) ,*Extraction Technologies,for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology,Trieste, Italy*, (2008).

## ملخص

الهدف من هذا البحث هو دراسة تأثير (ACE , METH, ETH) على مستويات مضادات الأكسدة (البوليفينول الكلي والفلافونويد) ، القوة المرجعة والنشاط المضاد للأكسدة للنشاط لعسل نبات *Ziziphus jujuba*. النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن أن ETH هو الأكثر ملاءمة لاستخراج المركبات الفينولية وبالتالي تظهر مستويات عالية من البوليفينول الكلي و فلافونيدات (45mg EAG/ kg ;36mg EAG/kg) ومستوى عال جدا من النشاط المضاد للأكسدة  $IC_{50}= 2.08\text{mg/ml DPPH}$  بالنسبة إلى METH و ACE ، في حين أن المستخلصات التي حصلت عليها ACE لديها أدنى مستويات من البوليفينول الكلي والفلافونويد ( 8mg EAG /kg ) على التوالي ، وتظهر أيضا قوة إرجاعيه عالية جدا ( $IC_{50}= 0.032\text{mg/ml}$ ).

**الكلمات المفتاحية:** العسل، البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة.

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet (ETH, METH, ACE) sur les teneurs en antioxydants (polyphénols totaux et flavonoïdes), le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire de miel de *Ziziphus jujuba*. Les résultats obtenus révèlent que l'ETH est la plus convenable pour l'extraction des composés phénoliques et montrant ainsi des fortes teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes (45 mg EAG/Kg ; 36 mg EAG/Kg), et une activité antiradicalaire très élevée vis-à-vis le radical DPPH ( $IC_{50} = 2.08 \text{ mg/ml}$ ) par rapport à le METH et l'ACE, tandis que les extraits obtenus par l'ACE présentent les teneurs les plus faibles en polyphénols totaux et flavonoïdes (8 mg EAG/Kg ; 2 mg EAG/Kg) respectivement, et montrant aussi un pouvoir réducteur très élevé ( $IC_{50}= 0.032 \text{ mg/ml}$ ).

**Mots clés :** miel, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydants.

## Abstract

The objective of this work is the study of the effect (ETH, METH, ACE) on antioxidant levels (total polyphenols and flavonoids), the reducing power and the antiradical activity of *Ziziphus jujuba* honey. The results obtained reveal that ETH is the most suitable for the extraction of phenolic compounds and thus showing high levels of total polyphenols and flavonoids (45 mg EAG / Kg, 36 mg EAG / kg), and a very high level of antiradical activity. DPPH ( $IC_{50} = 2.08 \text{ mg / ml}$ ) relative to METH and ACE, whereas extracts obtained by ACE have the lowest levels of total polyphenols and flavonoids (8 mg EAG / kg; 2 mg EAG / kg) respectively, and also showing a very high reducing power ( $IC_{50} = 0.032 \text{ mg / ml}$ ).

**Key words:** honey, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity