



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE: DES SCIENCES

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Rebbah Nafissa

Halilou Hasnaa

DOMAINE : Science de la nature et de vie

FILIERE : Biologie cellulaire et moléculaire

OPTION : Biochimie de produits naturels

Thème

**Activité antioxydante des composés phénoliques de quelques
échantillons de miel Algériens**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
M. Berramdane Tayeb		Président
Benabed Houda		Examineur1
Boussoussa Hadjer		Rapporteur
Khacheba Ihcen		Co-rapporteur

Juin 2015

Remerciement

*En préambule à ce mémoire nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide, ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Nos remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif du département de Biologie, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*Nous tenons à remercier sincèrement nos promotrices : **Melle : BOUSSOUSSA HADJER** et **Mme : KHECHEBA IHSEN**, qui autant qu'Encadreurs de ce mémoire, elles sont toujours montrées à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elles ont bien voulu nous consacrer et qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

*Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements aux vendeurs de miel qui nous ont fourni nos échantillons de miel de différentes régions de l'Algérie, et à tous nos proches et amis et surtout **Aicha Dahou**, qui nous ont toujours soutenue et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.*

Merci à tous et à toutes.

Rabbah Nafissa

Dédicaces

Je dédie ce travail:

*À mes très chers parents: ma mère Awali et
Mon père Taher.*

À mes très chères sœurs: Nadjat ; Fatima ; Fadila ; Ilhame

*À mon frère: Azzedine
À mon fiancé : Mustapha*

*À toute ma grande famille: mes oncles, mes tantes,
Surtout ma tante Hada*

Mes cousines.

*À ma binôme et amie Hasnaa
À toutes mes amies et collègues en CEM Benchewi Omar.*

À toute la section de biochimie.

À tout ceux et celles qui m'ont encouragés, entourés de leur soutien

Durant les moments difficiles avec tant d'amour et de compréhension.

Halilou Hasna

Dédicaces

Je dédie ce travail:

*À mes très chers parents: ma mère Fatiha et
Mon père Taher (allah yarehmo)*

À ma sœur: Fatima

À mes très chers frères: Mohamed Tayab; Lachen ; Hossein.

À toute ma grande famille: mes oncles, mes tantes,

Mes cousines.

À mon binôme et amie Nafissa.

À toutes mes amies surtout : Aicha, Salma, Soade, Roukia, Hayat.

À tout la section de biochimie.

À tous ceux et celles qui m'ont encouragés, entourés de leur soutien

Durant les moments difficiles avec tant d'amour et de compréhension.

Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures.....	VI
Introduction générale.....	1

Chapitre I Etude Bibliographique

1. Généralités sur le miel.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Définition du miel.....	3
1.3 l'origine du miel.....	4
1.3.1 l'origine directe.....	4
1.3.2 l'origine indirecte.....	4
1.4 Les différents types de miel.....	4
1.4.1 Les miels monofloraux (unifloraux).....	4
1.4.2 les miels multifloraux.....	5
1.5 Propriétés physico-chimiques du miel.....	5
1.5.1 Propriétés physiques.....	5
A) La Densité (poids spécifique).....	5
B) La viscosité.....	5
C) La conductibilité électrique (CE).....	5
D) Le pH.....	6
1.5.2 Propriétés chimiques du miel.....	6
A) La teneur en eau.....	6
B) Les glucides.....	6
C) Les éléments mineurs.....	6
➤ Les acides.....	6
➤ Les protéines.....	7
➤ Les sels minéraux.....	7
➤ Les enzymes.....	7
➤ Les vitamines.....	7
➤ Les substances aromatiques.....	8
➤ La matière pigmentaire.....	8

1.5.3 Les propriétés organoleptiques.....	8
A) La couleur.....	8
B) La saveur.....	8
C) L'odeur.....	8
1.5.4 Les propriétés biologiques du miel.....	8
2. Les composés phénoliques du miel.....	9
2.1 Généralités biochimiques.....	10
2.2 Classification.....	10
2.2.1 Les Acides phénoliques.....	10
2.2.2 Les flavonoïdes.....	11
2.2.3 Les Tannins et Lignines.....	11
2.3 Effets des composés phénoliques du miel.....	11
2.3.1 Effets antimicrobiens, antiviraux et antiparasitiques.....	11
2.3.2 Effets antioxydants.....	12
2.3.3 Effets anti-tumoraux et antimutagènes.....	12
	12
3. Stress Oxydatif et Activité Antioxydante.....	
3.1. Le Stress Oxydatif.....	12
3.1.1 Définition des espèces oxygénées réactives.....	12
3.1.2 Nature et sources cellulaires des EOR.....	13
3.1.3 Définition du stress oxydatif.....	13
3.2. L'activité antioxydante.....	13
3.2.1 Définition d'un antioxydant.....	13
3.2.2 Sources naturelles des antioxydants exogènes.....	13
3.2.3 Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	14
3.2.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	14

Chapitre II Matériels ET Méthodes

1. Le choix des échantillons de miel.....	15
1.1 Situation géographique des stations d'étude.....	16
2. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	17
2.1 Préparation des extraits phénoliques.....	17
2.1.1 Extraction solide-liquide par le méthanol.....	17
2.1.2 Extraction par l'acétate d'éthyle (extraction liquide/ liquide).....	17

2.2 Dosage des phénols totaux.....	17
2.2.1 Principe.....	18
2.2.2 Protocole.....	18
2.3 Dosage des flavonoïdes.....	18
2.3.1 Principe.....	18
2.3.2 Protocole.....	18
3. Etude de l'activité antioxydante.....	19
3.1 Test de DPPH.....	19
3.1.1 Protocole.....	19
3.1.2 Calcul du pourcentage d'inhibition.....	20
3.2 Test de FRAP.....	20
3.2.1 Le protocole	20

Chapitre III Résultats et discussion

1. Extraction des composés phénoliques.....	22
1.1 Le rendement d'extraction.....	22
1.2 Dosage des phénols totaux.....	23
1.3 Dosage des flavonoïdes.....	25
2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	28
2.1 Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH.....	28
2.2 Test de la réduction du Fer (FRAP).....	33
VI Conclusion.....	37
V Référence bibliographiques.....	38
IV Annexes.....	44

Liste des abréviations

%	pourcentage
°C	Celsius
µg	microgramme
µl	microlitre
µM	molaire
AcEt	acétate d'éthyle
ADN	acide désoxyribonucléique
AlCl₃	Tri-chlorure d'aluminium
CE	la conductibilité électrique
Da	dalton
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
EAG	équivalent en acide gallique
EC₅₀	concentration de substrat qui inhibe 50% du radical DPPH
EOR	espèce réactive d'oxygène (reactive oxygen species).
ER	équivalent de la rutine
Fe²⁺	l'ion fer (ii)
Fe³⁺	l'ion fer (iii)
FeCl₃	le chlorure de fer (iii)
FRAP	essai de la réduction du fer du plasma.
g	gramme
GAE	équivalent en acide gallique
H⁺	proton
HCl	le chlorure d'hydrogène
HO	hydroxide
I%	pourcentage d'inhibition
kg	kilogramme
MeOH	méthanol
min	minute
ml	millimètre
mM	milli molaire
N	azote
nm	nanomètre

O₂	dioxygène
O₂⁻	ion d'hydroxide
pH	le potentiel hydrogène
R	radicale
R²	coefficient de corrélation
TPTZ	2,4,6-tripiridyl-s-triazine
UV/ Vis	ultraviolet-visible
VCEAC	vitamine c equivalent antioxydant capacity
Vit C	vitamine c (acide ascorbique)

Liste des tableaux

Tableau 1	Propriétés biologiques de quelques types de miel.....	9
Tableau 2	les régions de collecte des différents échantillons du miel pour l'année 2013 et 2014.....	16
Tableau 3	La teneur, l'aspect et la couleur des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle obtenus des différents échantillons de miel	22
Tableau 4	La teneur en phénols totaux des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle de chaque échantillon de miel.....	24
Tableau 5	La teneur en flavonoïdes des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des différents échantillons de miel.....	26
Tableau 6	Les valeurs d'EC ₅₀ en (µg/ml) des différents extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.....	30
Tableau 7	Les valeurs d'EC ₅₀ en (µg/ml) des antioxydants standard.....	30
Tableau 8	Les valeurs de VCEAC déterminées par le test FRAP pour les différents extraits de miel.....	34

Liste des figures

Figure 1	Les échantillons des miels	15
Figure 2	Carte représente lieu de collecte de nos échantillon du miel en Algérie	16
Figure 3	Réduction de radical liber DPPH en présence d'antioxydant	19
Figure 4	Courbe représente les concentrations de l'acide gallique en fonction de leur absorbance.....	24
Figure 5	Taux en phénols totaux des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle de différents échantillons de miel.....	25
Figure 6	Courbe représente les concentrations de rutine en fonction de leur absorbance...	26
Figure 7	Histogramme représente le pourcentage des flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle	27
Figure 8	Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide ascorbique.....	28
Figure 9	Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide gallique.....	28
Figure 10	Courbes représentants la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration on composer phénolique des extraits de miel.....	29
Figure11	Etude de la corrélation entre les valeurs d'EC ₅₀ des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.....	32
Figure 12	Courbe représentant la variation des concentrations de l'acide ascorbique vit c) en fonction de leur absorbance (593 nm).....	32
Figure 13	Courbe représentante le standard et deux échantillons pour chaque extrait (d'acétate d'éthyle et méthanoliques).....	33
Figure 14	Etude de corrélation entre les valeurs VCEAC, teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits méthanoliques.....	35

Ces dernières années, l'intérêt aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement et devant l'essor des médecines naturelles et face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels, le miel peut être un atout grâce à ses activités thérapeutiques et surtout antioxydante (**Popovici et al.**, 2010).

Cette denrée est produite par les abeilles mellifiques *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur celles-ci, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Le miel peut être fluide, épais ou cristallisé (**Donadieu.**, 2003). Il a des caractéristiques sensorielles et physico-chimiques très variables dues aux conditions climatiques et environnementales et à la diversité des origines des plantes à partir desquelles elles sont récoltées (**Cimpoiuet al.**, 2012). La composition du miel dépend essentiellement des sources florales et certains facteurs externes comme les facteurs environnementaux et les méthodes de traitement sont aussi importants (**Terrabet al.**, 2003).

Les actions thérapeutiques du miel sont dues à des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (**Martoset al.**, 2000). Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Le corps produit des antioxydants, et on en trouve également dans plusieurs aliments. L'activité antioxydante est la capacité et le potentiel du miel pour réduire les réactions oxydatives dans les systèmes de production alimentaire et la santé humaine. Les composés phénoliques sont considérés comme des composés quasi universels qui forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des végétaux (**Beta et al.**, 2005). **Paramaset al** (2006), ont rapporté que les composés phénoliques du miel contribuent de manière significative à son pouvoir antioxydant, ainsi que d'autres composés moins importants.

L'objectif de cette étude est de comparer le pouvoir de différents extraits phénoliques de quelques échantillons de miel vis-à-vis de leur action sur les phénomènes du piégeage des radicaux libres. Cette comparaison permettra de choisir le type de miel le plus adéquat et ayant le critère de qualité optimal : d'une part sa teneur en composés phénoliques et parallèlement, son activité antiradicalaire.

Dans la démarche globale de cette étude, en premier lieu, un constat général sur le miel, ses caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques, son origine et ses différents types a

été entamé. En second lieu une description générale sur les composés phénoliques du miel et leurs activités biologiques a été entreprise.

Dans la partie expérimentale ; nous nous sommes intéressés à l'extraction et le dosage de composés phénoliques et des flavonoïdes des différents échantillons de miel et ceci en adoptant deux méthodes d'extraction. Par la suite, nous avons évalué l'activité antioxydante de nos extraits phénoliques par le biais de deux tests chimiques, le test du DPPH et le test FRAP.

La troisième partie de ce mémoire, a été consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus

Nous terminerons cette étude par une conclusion générale et des perspectives de recherche à venir.

1. Généralités sur le miel

1.1 Historique

Les produits de la ruche ont toujours fasciné l'Homme. Le miel, a constitué pendant des millénaires la seule source de matières sucrées dont on pouvait disposer. Quant à la propolis, cette résine que les abeilles récoltent sur les bourgeons des arbres, était mal distinguée de la cire, mais on l'utilisait dans le folklore médical pour le pansement des blessures (**Djaafri, Rezzoug, Ounis, 2013**).

Le miel est donc un aliment que l'humanité connaît depuis la nuit des temps. Les usages qu'en faisaient les Anciens étaient très variés, que ce soit en Egypte où, considéré comme source d'immortalité, il servait à conserver la dépouille du pharaon, à Babylone où il était employé en ophtalmologie, pour les maladies de l'oreille et en Afrique où il joue un grand rôle dans l'alimentation et la pharmacopée pour soigner les brûlures les morsures de serpent ou les plaies infectées (**Djaafri, Rezzoug, Ounis, 2013**).

Enfin, les Livres Saints comme la Bible et le Coran ne manquent pas de louer les vertus du miel. Il est le symbole de la prospérité et de l'abondance lorsqu'il est question de la Terre Promise, pays ruisselant de lait et de miel. Aujourd'hui, le miel est un aliment qui est aussi apprécié qu'autrefois (**Djaafri, Rezzoug, Ounis, 2013**).

1.2 Définition du miel

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles «*Apis mellifera*» à partir du nectar, de sécrétions de plantes ou d'excrétions d'insectes butineurs, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec les substances spécifiques qu'elles sécrètent, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**Codex alimentarius., 2001**).

Le miel contient au moins 200 substances, principalement des hydrates de carbone et de l'eau. Il contient également des minéraux, des protéines, des acides aminés libres, des enzymes, des vitamines, des acides organiques, des flavonoïdes, des acides phénoliques ainsi que d'autres composés phyto-chimiques (**Terrab et al., 2003**).

1.3 L'origine du miel

Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles et cela à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou de miellat recueilli sur les plantes, selon qu'il vient du nectar ou miellat, il existe l'origine directe et indirecte (**Benali, Benhorma 2012**).

1.3.1 L'origine directe

Le nectar est un liquide sucré et mielleux qui se produit à la surface des parties spéciales appelés nectaires, ceux-ci sont en forme de turgescences, situés soit sur les feuilles, appelés nectaires extrafloraux, soit sur les fleurs, (sépalés, pétales, carpelles) appelés nectaires floraux, retrouvés par exemple chez Le Thym. Pour recueillir un litre de nectar, on estime qu'il faut entre 20000 et 100000 voyage des abeilles (**Benali, Benhorma 2012**).

1.3.2 L'origine indirecte

Le miellat est un produit plus complexe que le nectar faisant intervenir un intermédiaire, généralement, des insectes de la famille des Homoptères tels que les pucerons, leurs pièces buccales sont disposées pour piquer et absorber les aliments liquides telle que la sève des végétaux et rejetant l'excédent de matières sucrées sous forme des gouttelettes, que les abeilles récupèrent sur les feuilles des plantes. Nous citons quelques exemples d'arbres qui hébergent les pucerons, tels que, les sapins, les Epicéas, les chênes et aussi les plantes herbacées comme le blé (**Moussaoui N, 2011**).

1.4 Les différents types de miel

Généralement, les miels à base de nectar sont repartis en deux principaux groupes :

1.4.1 Les miels monofloraux (unifloraux)

Un miel dit monofloral est issu d'un nectar, ou d'un miellat, collecté par les abeilles sur un végétal unique et particulièrement attractif pour ces insectes. Cette définition stricte n'est vraiment avérée qu'en certains cas particuliers, notamment sur les grandes cultures (**Gonnet., 1982**).

Les miels monofloraux possèdent des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques (**Bogdanov., 2003**).

1.4.2 Les miels multifloraux

Les miels multifloraux, ou miel toutes fleurs, sont souvent classés suivant les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) (**Moussaoui N, 2011**).

1.5 Propriétés physico-chimiques du miel

1.5.1 Propriétés physiques

A) La Densité (poids spécifique)

Le poids spécifique du miel est en fonction principalement de sa teneur en eau (**Louveaux., 1968**). La mesure du poids spécifique se fait au moyen d'un densimètre ou de réfractomètre. Ainsi, selon plusieurs études (**Marvin., 1934 ; Deans., 1953 ; White et al., 1962**), la densité du miel à 20°C est comprise entre 1,39 et 1,44, il s'ajoute qu'un miel récolté trop tôt ou extrait dans un endroit humide contient une teneur élevée en eau. Dans leurs études, **Prost., (1987)** et **White et al., (1962)** ont trouvé une valeur moyenne de 1,4225 à 20°C pour 490 échantillons de miel récoltés des U.S.A.

B) La viscosité

Le miel est un produit relativement dense. Les variations de densité proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau, moins il est dense. La densité est en moyenne de 1,42 à 20°C. Cette densité peut servir alors comme un moyen de connaître la teneur en eau d'un miel. Ainsi, la densité moyenne indiquée ci-dessus correspond à une teneur en eau de 17,2% environ (**Louveaux., 1985**).

C) La conductibilité électrique (CE)

La conductibilité électrique présente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel, et elle est désignée aujourd'hui lors des contrôles de routine à la place de la teneur en cendre, cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la valeur de CE correspondante est élevée aussi (**Moussaoui N, 2011**).

D) Le pH

Le pH ou “potentiel hydrogène”, encore appelé indice de “Sorensen” donne une indication sur la source des acides présents dans le miel (**Bogdanos et al.**, 2003). Le PH du miel oscille entre 3,5 et 6 (**Benali, Benhorma 2012**).

Tous les miels sont acides et cela est dû principalement à la présence des acides organique (**Bogdanos et al.**, 2004).

1.5.2 Propriétés chimiques du miel

A) La teneur en eau

La teneur en eau dans le miel ne dépasse pas le plus souvent 20%. Elle dépend de la miellée, du climat, du type de la ruche ainsi que d'autres facteurs (**Bogdanos et al.**, 2006). Les miels qui contiennent plus de 12% d'eau sont de basse qualité et sont exposés à des risques de fermentation (**Benali, Benhorma 2012**).

B) Les glucides

Les glucides ou sucres sont présents en grande quantité : 78 à 80%. La majorité sont des sucres simples (environ 90% des sucres totaux) avec une prédominance pour le fructose, par rapport au glucose. Une petite quantité de disaccharides (sucrose, maltose, isomaltose), des tri-saccharides et oligosaccharides sont également présents et sont caractéristiques de leur origine Botanique (**Djaafri, Rezzoug, Ounis, 2013**).

C) Les éléments mineurs

➤ Les acides

Les miels contiennent des acides organiques (dont certains sont volatils), ainsi que des lactones. Leur provenance est diverse : certains sont issus du nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions enzymatiques et de fermentations.

Les acides identifiés dans le miel sont : l'acide gluconique (constituant l'acide majoritaire, issu du glucose), les acides butyriques, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide proglutamique, l'acide malique et l'acide citrique (**Lequet.**, 2010).

L'acidité totale est la somme des acides libres et des lactones. Légalement, elle ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents par kg. Pour les miels destinés à l'industrie, la limite tolérée est de 80 milliéquivalents(**Lequet.**, 2010).

➤ **Les protéines**

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille.

La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/ kg (**Meda et al.**, 2005).

➤ **Les sels minéraux**

Il s'agit surtout du potassium, du sodium, du manganèse, du cuivre et du calcium. Leurs teneur est en moyenne de 0,17% (**Phillippe.**, 1993).

➤ **Les enzymes**

Le miel contient plusieurs enzyme qui peuvent provenir des abeilles, du pollen du nectar, ou encore des microorganismes (**Hammoudi et Boudershem.**, 2009).

D'après **Donadieu** (2006), les principales enzymes sont les amylases alpha et bêta, la gluco-invertase et la gluco-oxydase. On trouve également de la catalase ainsi qu'une phosphatase (**Chauvin.**, 1968).

➤ **Les vitamines**

Le miel contient peu de vitamines. On y trouve essentiellement des vitamines du Groupe B: vitamines B1, B2, B3 (appelée aussi PP), B4 et B5. Parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, Ket D (**Clemence.**, 1980).

➤ **Les substances aromatiques**

Le miel contient environ 500 substances aromatiques différentes. Bien que ces dernières ne soient présentes qu'à l'état de trace. Celles-ci jouent un rôle prépondérant dans la formation du goût du miel (**Bogdanov et al.**, 2006).

➤ **La matière pigmentaire**

Le miel contient des pigments qui donnent la couleur au miel et qui n'ont pas encore fait l'objet d'études approfondies (**Donadieu.**, 1984).

1.5.3 Les propriétés organoleptiques

A) La couleur

En fonction de ses origines florales et géographiques, le miel peut présenter différents coloris. Il existe des miels limpides comme de l'eau, des miels jaunes, ambrés, verdâtres, rougeâtres et certains presque noirs. À l'exception du violet et du bleu, la couleur des miels varie à l'infini (**Clemence.**, 2005).

B) La saveur

Le goût et l'arôme varient et dépendent de l'origine végétale, mais le miel ne doit pas présenter de goût étranger ou d'odeur étrangère (fumée, etc.) ni avoir commencé à fermenter (**Lequet.**, 2010).

C) L'odeur

Dans les différents miels, les odeurs varient considérablement mais s'évaporent très rapidement. Elles sont végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes, vulgaires. Cependant, une odeur de fumée ou de fermentation représente un défaut (**Mokeddem.**, 1998).

1.5.4 Les propriétés biologiques du miel

À ces facultés générales, chaque miel allie les vertus médicinales de la fleur dominante dont il provient. Il existe donc des miels spécifiques préconisés dans certaines pathologies comme le montre Le tableau ci-dessous (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Propriétés biologiques de quelques types de miel (**Simon** et *al.*,2009)

Les types de miels	Propriétés
Le miel d'eucalyptus	Bronchites ou maladies pulmonaires, antibiotique naturel, rhumatisme, fièvre et fatigue.
Le miel d'oranger	Sédatif, antispasmodique, grippe, tension artérielle.
Les miels de montagne	La fatigue, maladies de la peau, système digestif et urinaire.
Miel multi fleur	antianémique, antiseptique, calme le toux, digestive, diurétique, dynamogénique, émolliente (relaxante), laxative, sédative et vicariante.
Le miel de jujubier	Miel très recherché pour ses qualités thérapeutiques : maladies du foie, de l'estomac et le diabète, excellent pour les troubles hépatiques « foies » anémie, - troubles respiratoires, antibiotique naturel, infection intestinale et urinaire.
Le miel d'euphorbe	Infections respiratoire, dysenterie constipations et diarrhées, taux et maux de gorge.

2. Les composés phénoliques du miel

Le miel est une excellente source de Polyphénols différents (**David** et *al.*,2011). Les composés phénoliques ou polyphénols possèdent une grande variété de structures allant de composés contenant un simple noyau phénolique (acide phénoliques) à des composés polymériques complexes comme les tanins (polymères de catéchine et épicatechine présentant plusieurs dizaines d'unités. En outre, *in vitro*, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses (**Khan.**, 2010).

Ces activités sont attribuées à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{HO}^\cdot$) et superoxyde ($\text{O}_2^\cdot$) (Nkhili., 2009).

Dans le miel, les composés phénoliques proviennent principalement des végétaux ou des plantes que les abeilles les utilisent pour produire les différents types de celui-ci, selon la dominance de la source végétale.

2.1 Généralités biochimiques

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (Nkhili., 2009).

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Nkhili., 2009). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés : les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Les formes complexes sont issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autres, les tannins et les lignines (Benard., 2009).

2.2 Classification

En distingue trois principales classes :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques) ;
- Les flavonoïdes ;
- Les tanins et lignines, Plus rares, les coumarines, les stilbènes (Nkhili., 2009).

2.2.1 Les Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Nkhili., 2009).

2.2.2 Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux, tous les flavonoïdes (plus de 4000) possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (Portet., 2007). Barboni, (2006) indique que les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, et les flavan-3-ols.

2.2.3 Les Tannins et Lignines

Les tannins sont des polyphénols polaires de haut poids moléculaire (>3000 Da) d'origine végétale existant dans presque toutes les parties de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Ils sont divisés en 2 groupes : tannins hydrolysables (qui donnent après hydrolyse soit de l'acide gallique soit de l'acide ellagique) et tannins condensés ou catéchiques (constitués de la condensation des dérivés flavane). Les tannins peuvent également être constitués par condensation d'unités quinone (Hadj salem., 2009).

2.3 Effets des composés phénoliques du miel

La composition du miel en composés phénoliques lui confère des propriétés antimicrobiennes, notamment comme bactéricides et bactériostatiques, des virucides et des antiparasites, antioxydants, anti tumoraux et antimutagènes et des différents effets sur la santé (Anso., 2012).

2.3.1 Effets antimicrobiens, antiviraux et antiparasitaires

Il est à noter que ces composés agissent principalement sur les bactéries à Gram positif. Finalement, le pH acide et la faible quantité d'eau du miel lui confère des propriétés naturelles bactéricides et bactériostatiques (Anso., 2012).

2.3.2 Effets antioxydants

Les antioxydants présents dans le miel sont : oxydases du glucose, catalases, acide ascorbique, flavonoïdes, acides phénoliques, caroténoïdes, acides organiques, acides aminés et protéines (**Anso., 2012**). L'action des antioxydants consiste à neutraliser les radicaux libres, molécules hautement réactives causant des dommages importants aux protéines, à l'ADN cellulaire et aux membranes cellulaires (**Tomczak., 2010**).

2.3.3 Effets anti-tumoraux et antimutagènes

Dans notre vie quotidienne, nous sommes en permanence au contact de composés dangereux et toxiques. Certains de ces composés dits tumoraux, participent au développement et à la prolifération anarchique des cellules, pour aboutir au cancer (**Anso., 2012 ; Bogdanov et al., 2008**).

Le miel montre des propriétés anti-cancéreuses. Les composés du miel limitent la prolifération des cellules cancéreuses mais également, leur propagation par voie sanguine ou lymphatique. Également il a été prouvé que le miel lutte efficacement contre le cancer de la vessie (**Anso., 2012**).

3. Stress Oxydatif et Activité Antioxydante

3.1 Le Stress Oxydatif

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines.

3.1.2 Définition des espèces oxygénées réactives

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc....) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxy-nitrite (**Bartosz., 2003 ; Halliwell et Whiteman., 2004**).

L'instabilité des EOR rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques.

3.1.3 Nature et sources cellulaires des EOR

Les EOR se forment de façon permanente dans toutes les réactions biochimiques comportant le transfert d'électrons ou la participation de l'oxygène. Divers types cellulaires et tissus donnent naissance aux EOR par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation au cours de leur métabolisme normale et parfois en réponse à un stimulus spécifique.

3.1.4 Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant ou oxydatif est un état caractérisé par un déséquilibre dans la balance métabolique cellulaire entre la production de radicaux libres et les capacités antioxydantes de l'organisme (**Delattre *et al.*, 2007**). Les conséquences cellulaires du stress oxydant sont responsables de l'altération de biomolécules (ADN, glucides, protéines, lipides), induisant ainsi un grand nombre de pathologie (**Curtin *et al.*, 2002**).

3.2 L'activité antioxydante

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé (**Servais., 2004**).

3.2.1 Définition d'un antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou ralentir l'oxydation de ces substrats (**Servais., 2004**).

Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...) (**Halliwell., 1991**).

3.2.2 Sources naturelles des antioxydants exogènes

Les sources naturelles d'antioxydants sont les aliments végétaux comme les légumes (surtout choux divers, oignon, tomate, concombre), les baies, les fruits (melon,

etc.), les céréales (riz complet, blé complet, graines de lin), le soja, le thé, le café et des plantes aromatiques: romarin, thym, sauge, origan, marjolaine, muscade, basilic, estragon(Pincemaital., 1998).

3.2.3 Mécanisme d'action d'un antioxydant

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés phénols. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire(BersetetCervelier., 1996).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour le transformer en chaleur (BersetetCervelier., 1996).

3.2.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe une grande diversité de méthodes physico-chimiques pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels. Plusieurs méthodes s'intéressent à l'analyse des étapes distinctes du processus d'oxydation comme par exemple la mesure :

- a) L'affaiblissement du substrat, et/ou la consommation de l'oxygène au cours de l'oxydation.
- b) La formation des produits d'oxydation.
- c) La capacité à piéger les radicaux libres en différentes phases (Moulay., 2012).

1. Le choix des échantillons de miel

Les miels peuvent être classés selon la nutrition (multi floraux, ou miel unifloraux), ou selon les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) (**Donadieu., 1984**).

Les échantillons de miel utilisés dans notre travail ont été collectés de différentes régions de l'Algérie. Il s'agit de huit échantillons à savoir : le miel d'Eucalyptus ; le miel du jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*) ; le miel de la montagne ; le miel multi-fleurs; le miel d'euphorbe(*Euphorbiaguyoniana*) ; le miel des fleurs d'oranger et le miel d'harmale (*Peganumharmala*) (**Figure 1**).



Figure 1 : les échantillons des miels

Cette variation dans la source végétale dont il est issu le miel a pour but de comparer entre les différents extraits de point de vue de leur composition phénolique et leurs capacités antioxydantes. Le **Tableau 2**, donne une description sur l'origine florale de nos différents échantillons de miel.

1.1 Situation géographique des stations d'étude

Le matériel utilisé comporte huit échantillons de miels récoltés dans diverses régions d'Algérie (Laghouat, Tipaza, Blida, Tissemsilt, Tiaret) durant le mois de Mars jusqu'à la fin d'Aout (figure 2).

Le tableau ci-dessous représente les stations de la collecte des divers échantillons du miel (Tableau 2).



Figure 2 : carte représente lieu de collecte de nos échantillons des miels en Algérie.

Tableau 2 : les régions de collecte des différents échantillons du miel pour l'année 2013 et 2014

Echantillon de miel	Région	Date de collecte
Miel de jujubier sauvage	Laghouat (hassi delaa)	Aout 2014
Miel fleurs d'oranger	Blida	Mai 2014
Miel multi fleurs	Blida (Afroune)	Mai 2014
Miel d'eucalyptus	Tipaza (Sidi racheda)	Juillet 2014
Miel de <i>Peganumharmala</i>	Tissemsilt	Juin 2013
Miel de montagne	Laghouat (Djebel Amour)	Avril 2014
Miel de chardon	Tiaret	Juin 2013
Miel d'euphorbe	Laghouat (Aflou/Brida)	Avril 2014

2.Extraction et dosage des composés phénoliques

2.1 Préparation des extraits phénoliques

L'extraction constitue une étape importante avant l'analyse qualitative et quantitative proprement dite. Celle-ci est influencée par la méthode choisie et des composés phytochimiques étudiés. Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone.

Pour extraire les composés phénoliques de nos échantillons de miel, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction, la première consiste à une macération directe au méthanol, tandis que dans la deuxième méthode nous avons opté à une extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant.

2.1.1 Extraction solide-liquide par le méthanol

La macération est une opération qui consiste à laisser l'échantillon en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

Une quantité de 5 g de chaque échantillon de miel est macérée dans 20 ml du méthanol absolu pendant 24 heures (**voir annexe 1 et 2**). Après filtration, les extraits méthanoliques obtenus sont évaporés à sec sous pression réduite à 45°C (**voir annexe 3**). Les résidus secs pesés sont repris dans 5 ml de méthanol et conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation (**voir annexe 4**).

2.1.2 Extraction par l'acétate d'éthyle (extraction liquide/ liquide)

Une quantité de 5 g du chaque échantillon de miel est macérée dans un mélange hydro-alcoolique (Méthanol/eau ; 8/2) pendant 24 heures. Après filtration, les fractions obtenues sont évaporées et la fraction aqueuse restante est lavée avec 10 ml d'acétate éthyle à l'aide d'une ampoule à déchanter, l'opération est répétée jusqu'à épuisement de la couleur.

Les extraits d'acétate d'éthyle obtenus sont séchés avec le sulfate de sodium anhydre, puis évaporés à sec sous pression réduite à 45°C. Les résidus secs pesés sont repris dans 5 ml du méthanol absolu et conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

3. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux de nos extraits de miel a été déterminée selon la méthode de **Singleton et Ross (1965)** utilisant le réactif de Folin Ciocalteu.

3.1 Principe

Les propriétés colorimétriques du réactif « Folin- Ciocalteu » sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Celui-ci réagit principalement avec la fonction hydroxyle des phénols (**Catalano et al., 1999**). Cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée, qui absorbe maximalement à 760 nm permettant ainsi de déterminer la concentration en polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage d'un standard.

3.2 Protocole

À partir d'une solution mère d'acide gallique (étalon choisi), nous avons préparé une gamme de concentration allant de 0,03 g/l à 0,3 g/l. Un volume de 100 µl de chaque dilution est introduit dans des tubes à essais auquel on ajoute 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, après 2 minutes, 2 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium 2% est additionné. Les tubes sont ensuite agités et incubés à l'obscurité pendant 30 min.

L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/ Vis (Shimadzu 1601).

Nous avons traité nos extraits phénoliques de la même manière comme il a été cité précédemment. Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) de la masse du miel.

4. Dosage des flavonoïdes

4.1 Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par (**Dohou et al., 2003**) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le tri chlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes. Ce complexe de coloration jaune, absorbe à une longueur d'onde de 409 nm.

4.2 Protocol

Nous avons préparé une gamme de concentration de la solution de la rutine qui varie entre 0,01 g/ml à 0,08 g/ml. On introduit dans des tubes à essais 500 µL de chaque dilution

auquel on ajoute un même volume d'une solution méthanolique de trichlorure d'aluminium 2%. Les tubes sont agités et incubés pendant 20 min à l'obscurité.

L'absorbance de chaque solution est mesurée à 409 nm contre un blanc en utilisant le même spectrophotomètre UV/ Vis.

Nos extraits phénoliques du miel ont été traités de la même manière avec le standard. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent rutine par gramme (g) de la masse du miel.

5. Etude de l'activité antioxydante

5.1 Test de DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité d'un antioxydant à piéger le radical libre DPPH (**Hartmann.**, 2007). En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence des radicaux DPPH en solution donne lieu à une coloration violette foncée, qui absorbe à 517 nm (**figure 3**). La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (**Epifano et al.**, 2007).

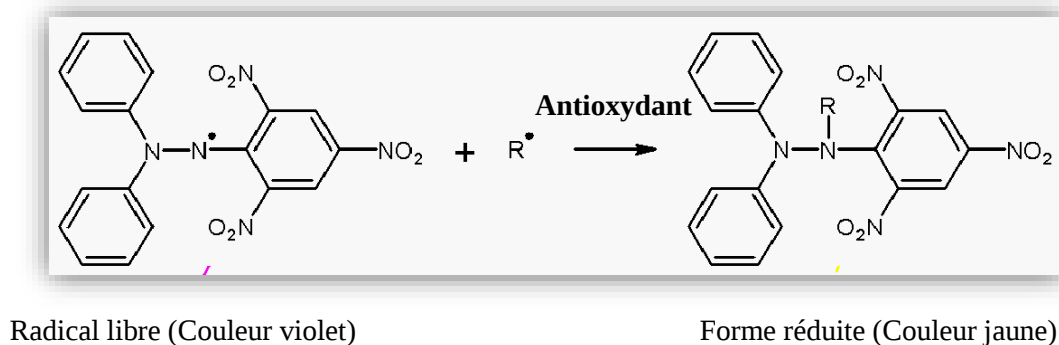


Figure 3 : Réduction de radical libre DPPH[•] en présence d'antioxydant.

5.1.2 Protocole

Un volume de 500 µl pour chaque dilution d'extrait est introduit dans des tubes à essai auquel nous avons ajouté 500 µl d'une solution méthanolique du DPPH (250 µM). Les tubes sont ensuite agités et incubés pendant 30 min à l'obscurité.

L'absorbance de chaque solution est mesurée à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/ Vis (Schimadzu 1601).

De même, l'activité anti-DPPH des deux standards ; vitamine C et l'acide gallique a été aussi étudiée.

5.1.3 Calcul du pourcentage d'inhibition

La décroissance de l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition I% est calculé suivant la formule ci-dessous : (Epifano et al., 2007).

$$I\% = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100\%$$

Où :

A_c: Absorbance du control en absence de l'antioxydant après 30 min d'incubation.

A_e: Absorbance des échantillons mesurés après 30 min d'incubation.

5.2 Test FRAP

5.2.1 Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe Fe³⁺-TPTZ en fer ferreux (Fe²⁺) dans un milieu acide. Une couleur bleue intense avec un maximum d'absorption va être développée à 593 nm. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à cette même longueur d'onde.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert., 2006).

5.2.2 Le protocole :

La solution de FRAP est préparée par un mélange de solution tampon d'acétate de sodium de 300 mM (pH 3,6) ; 10 mM de 2,4,6-tripiridyl-s-triazine (TPTZ) dans 40 mM d'HCl et 20 mM de FeCl₃ dans un rapport de (10:1:1) pour donner la solution du réactif de travail FRAP.

Différentes dilutions de chaque extrait ont été préparées. Un volume de 100 µl de chaque solution précédemment préparé a été mélangé avec 1 mL de la solution FRAP.

L'absorbance est mesurée à 593 nm après 5 min d'incubation, contre un blanc en utilisant un appareil UV-visible (Shimadzu 1601). La vitamine C choisie comme standard a été traitée dans les mêmes conditions.

III. Extraction des composés phénoliques

III.1) Le rendement d'extraction

Les teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques et d'acétates d'éthyles obtenus par les deux méthodes d'extraction sont consignés dans le Tableau (5) avec l'aspect et la couleur de chaque extrait.

Tableau 5 : La teneur, l'aspect et la couleur des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle obtenus des différents échantillons de miel

	Echantillon	Le rendement (%)	Concentration (g/l)	La couleur	L'aspect
Les extraits méthanoliques	Harmel	87,213±1,998	0,872±0,019	Jaune pale	Visqueux
	Eucalyptus	85,465±1,506	0,854±0,015	Brune foncé	Visqueux
	Seder	91,697±0,994	0,916±0,009	Jaune pale	Visqueux
	Epineux	88,499±5,231	0,884±0,052	Jaune pale	Visqueux
	Multifleur	72,933±4,620	0,729±0,046	Brune claire	Visqueux
	Montagne	82,238±2,240	0,822±0,022	Brune foncé	Visqueux
	Orange	74,101±4,382	0,741±0,043	Jaune claire	Visqueux
	Euphorbe	93,616±7,614	0,936±0,076	Brune foncé	Visqueux
Les extraits d'acétates d'éthyles	Harmel	1,382±0,121	0,138±0,121	Jaune	Visqueux
	Eucalyptus	0,554±0,189	0,055±0,189	Jaune claire	Visqueux
	Seder	1,168±0,138	0,116±0,138	Jaune très claire	Visqueux
	Chardon	9,349±1,401	0,934±1,401	Jaune claire	Visqueux
	Multifleur	0,718±0,328	0,071±0,328	Transparent	Visqueux
	Montagne	0,716±0,183	0,071±0,183	Transparent	Visqueux
	Orange	1,952±0,022	0,195±0,022	Transparent	Visqueux
	Euphobre	1,624±0,602	0,162±0,602	Transparent	Visqueux

D'après les résultats obtenus (Tableau 5), nous observons des changements de couleur et aussi de l'aspect tout dépend l'échantillon du miel utilisé pour l'extraction.

Ainsi, nous remarquons que les rendements obtenus varient d'un extrait à un autre suivant la méthode adoptée pour l'extraction des molécules phénoliques de nos échantillons de miel.

Pour les extraits méthanoliques : le miel d'**Euphobre** représente le rendement le plus élevé de **93,616%** et les autres teneurs des extraits varient de 91,697% à 74,101 % pour les extraits de (**Seder, Chardon, Harmel, Eucalyptus, Montagne et fleur d'oranger**) respectivement. Par contre, le miel multifleurs nous a donné le rendement le plus faible de **72,933%**.

Pour les extraits d'acétate d'éthyle : l'extrait de miel de chardon représente le rendement le plus élevé de **9,349 %**, les autres extraits sont marqués par des rendements variables de 1,952% à 0,716 % pour les miels de (**Fleurs d'oranger, Euphorbe, Harmel, Seder, Multifleur et Montagne**) respectivement. L'extrait du miel d'**Eucalyptus** donne le rendement le plus faible de **0,554 %**.

D'après ces résultats, nous remarquons que les valeurs les plus élevées se sont retrouvées dans les extraits méthanoliques par rapport à celles de l'acétate d'éthyle. Ceci, pourrait être expliqué par la différence de la nature des solvants utilisés et leurs polarités. D'ailleurs, nous avons pu constater que l'utilisation du méthanol a donné lieu à des rendements acceptables de composés phénoliques cible. Les travaux de **Sergiel et al .**, (2014), sur les extraits méthanoliques de différentes variétés de miel multi-fleurs ont conduit à des rendements similaires à ceux obtenus par nos échantillons de miel.

III.2) Dosage des phénols totaux

L'analyse des phénols totaux de nos extraits a été réalisée suivant la procédure décrite précédemment (la partie expérimentale). La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de miel a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en grammes équivalent acide gallique par gramme de miel (g/g) pour les deux méthodes d'extractions (méthanol et l'acétate d'éthyle) (Tableau 6 et Figure 4).

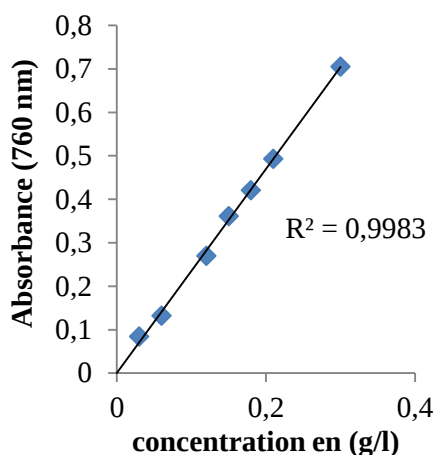


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 6 : La teneur en phénols totaux des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle de chaque échantillon de miel.

Échantillons du miel	Phénols totaux (µgEAG/g)	
	Me-OH	Ac-Et
Harmel	49,7 ±0,0217	<u>42,766±1,955</u>
Eucalyptus	<u>78,5 ±0,0243</u>	23,733±7,925
Seder	25,0 ±0,0305	21,9±14,450
Chardon	40,7 ±0,0208	41,333 ±6,351
Multi-fleurs	30,00 ±0,0199	23±8,100
Montagne	47,00 ±0,0081	17,766±6,864
Orange	<u>22,8 ±0,0058</u>	<u>11,066±5,154</u>
Euphorbe	38,5 ±0,0140	12,333±2,650

D'une façon générale (Tableau 2), nous remarquons que les teneurs en phénols totaux des extraits méthanoliques de miel présentent des valeurs variables dont l'eucalyptus a le taux en phénols totaux le plus élevé (78,5µg/g) contrairement à celui d'orange avec le taux le plus faible (22,8µg/g). En ce qui concerne les extraits d'acétate d'éthyle, nous observons que la teneur la plus élevée est celle du miel d'elharmale (42,766µg/g) et le taux le plus faible est celui de l'extrait de miel des fleurs d'oranger (11,066 µg/g).

En comparant nos extraits à l'issue de la méthode d'extraction, nous remarquons que les teneurs des extraits méthanoliques ont des valeurs élevées par rapport aux teneurs des extraits de l'acétate d'éthyle. De ce fait, les résultats du dosage nous confirment que le méthanol est le meilleur solvant pour obtenir des rendements importants par rapport à celui d'acétate d'éthyle. Les résultats obtenus sont présentés dans l'histogramme ci-dessous (Figure 5).

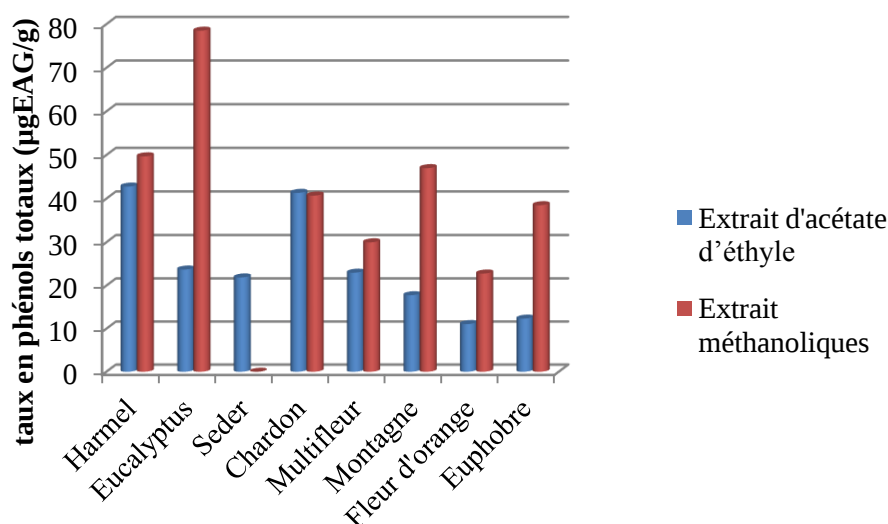


Figure 5 : Taux en phénols totaux des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des différents échantillons de miel.

En comparant nos résultats avec les études menées par **Bertoncelj** et *al.*, (2007) et **Ouchemoukh** et *al.*, (2007), sur les composés phénoliques de certains extraits de miel Algériens et Slovènes (64 à 1304 et de 448 à 2414 mg GAE /100g, respectivement), nous constatons que nos teneurs sont similaires à celles des miels Algérien, en plus sont nettement élevées par rapport à celles de la Slovanie.

III.3) Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits du miel étudiés ont été calculées et exprimées en microgrammes équivalent rutine par gramme de miel (Tableau 7 et figure 6). Tous les essais ont été reproduits au moins trois fois.

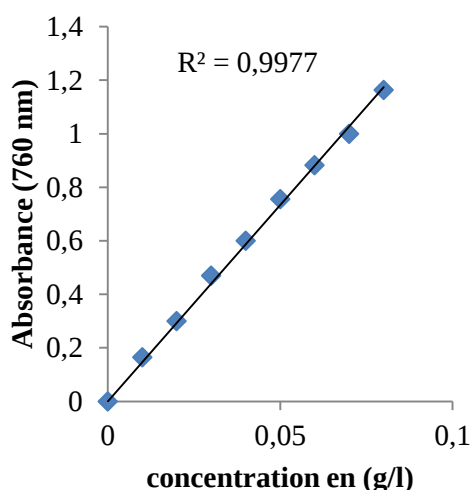


Figure 6 : Courbe d'étalonnage représentant les concentrations de la rutine en fonction de leur absorbance.

Tableau 7 : La teneur en flavonoïdes des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des différents échantillons de miel.

Échantillons du miel	Flavonoïdes (µg ER/g)	
	Me-OH	Ac-Et
Harmel	1,135±0,0007	7,311±0,0025
Eucalyptus	19,436±0,0099	8,492±0,0045
Seder	24,659±0,0090	10,808±0,0029
Chardon	18,301±0,0041	3,905±0,0031
Multifleurs	29,246±0,0021	0,726±0,0004
Montagne	46,866±0,0195	5,177±0,0001
Orange	9,445±0,0058	0,454±0,0003
Euphorbe	35,603±0,0090	2,043±0,0025

En analysant les résultats de Tableau 6. Nous remarquons que les teneurs en flavonoïdes des extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol (Tableau 6), varient entre 0,454 à 10,808 µg/g ; et de 1,135 à 46,866 µg/g respectivement.

Ainsi, nous observons que le miel du seder (extrait acétate d'éthyle) contient une teneur élevée en flavonoïdes par rapport à son rendement qu'est faible de 1,16 %. Pour les extraits méthanoliques, le miel de Harmel représente la plus faible teneur en flavonoïdes par rapport son rendement qu'est très élevée de 87%.

Sur la base de ces résultats, nous pouvons constater que nos extraits méthanoliques sont plus riches en flavonoïdes par rapport aux extraits d'acétate d'éthyle. Ceci, est peut être expliqué par la nature des composés flavonoïdiques. D'autres part, le dosage du contenu en flavonoïdes dans nos extraits a été effectué par la méthode spectrophotométrique au tri-chlorure d'aluminium qui sert plus spécifiquement à la quantification des flavones et flavonols (**Nadeem et al.**, 2010), ce qui confirme la faible polarité des flavonoïdes contenus dans nos extraits d'acétate d'éthyle.

Il est clair, que les teneurs en flavonoïdes dans nos extraits, sont inférieures aux teneurs en phénols totaux, ce qui nous indique la richesse de nos extraits par d'autres composés non flavonoïdiques (**voir annexe 5**).

Afin de comparer le contenu de nos échantillons de miel en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes), nous avons établi l'histogramme ci-dessous (**Figure 7**).

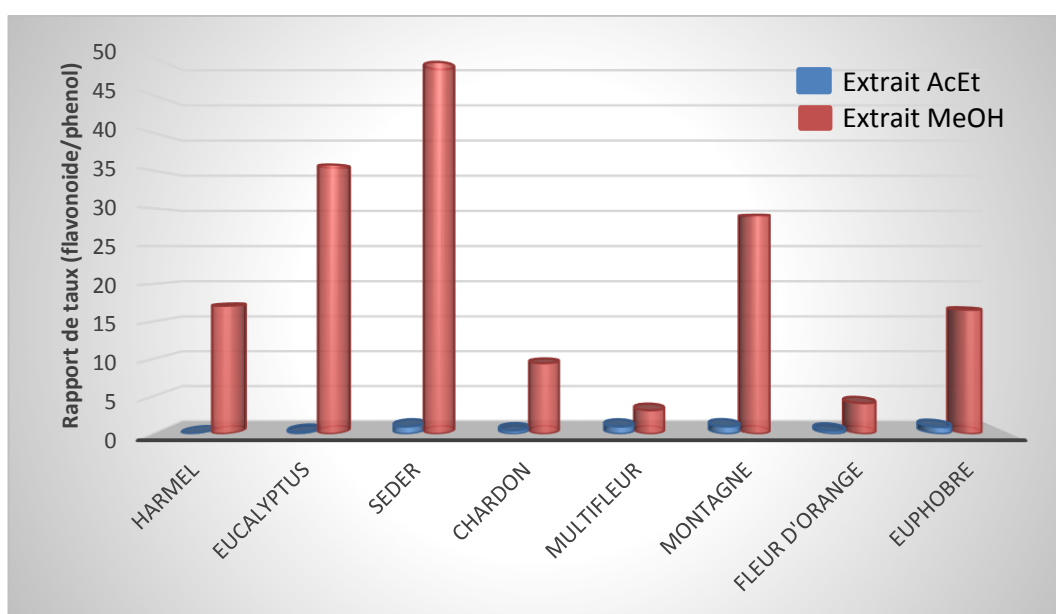


Figure 7 : Histogramme représente le pourcentage des flavonoïdes dans les différents extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.

Ces résultats sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par **Saric et ses collaborateurs** (2012), ces derniers ont rapporté que la valeur en contenu phénolique total du miel multifloral varie entre 0,705 et 1,235 µg EAG/ g. **Ibrahim et al** (2011) ont trouvé une valeur moyenne de 2,425 µg GAE/g pour le miel récolté de la Thaïlande et une valeur de 2,245 µg GAE/g pour le miel de Malaisie (**Krishna Kishore et al.**, 2011). La même constatation a

été établie par **Koula et al.**, (2014) qui ont quantifié les composés phénoliques présents dans quatre échantillons de miel Algérien (2,295 µg GAE/ g).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

IV.1) Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH

Les valeurs obtenues (I% de chaque extrait), nous ont permis de tracer les graphes illustrant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composés phénoliques issus de l'extraction par le méthanol et par l'acétate d'éthyle (**voir annexe 6 et 7**). Les Figure 8 et 9 représentent la variation des pourcentages d'inhibition (I%) en fonction des concentrations en µg/ml des deux antioxydants standards choisis pour cette étude à savoir, la vitamine C et l'acide gallique(**voir annexe 8 et 9**).

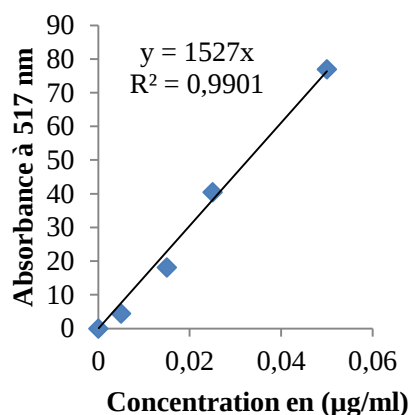


Figure 8 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide ascorbique.

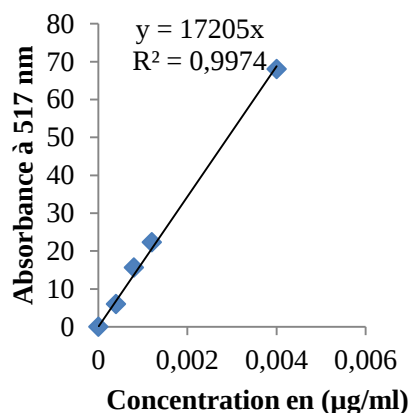


Figure 9 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide gallique.

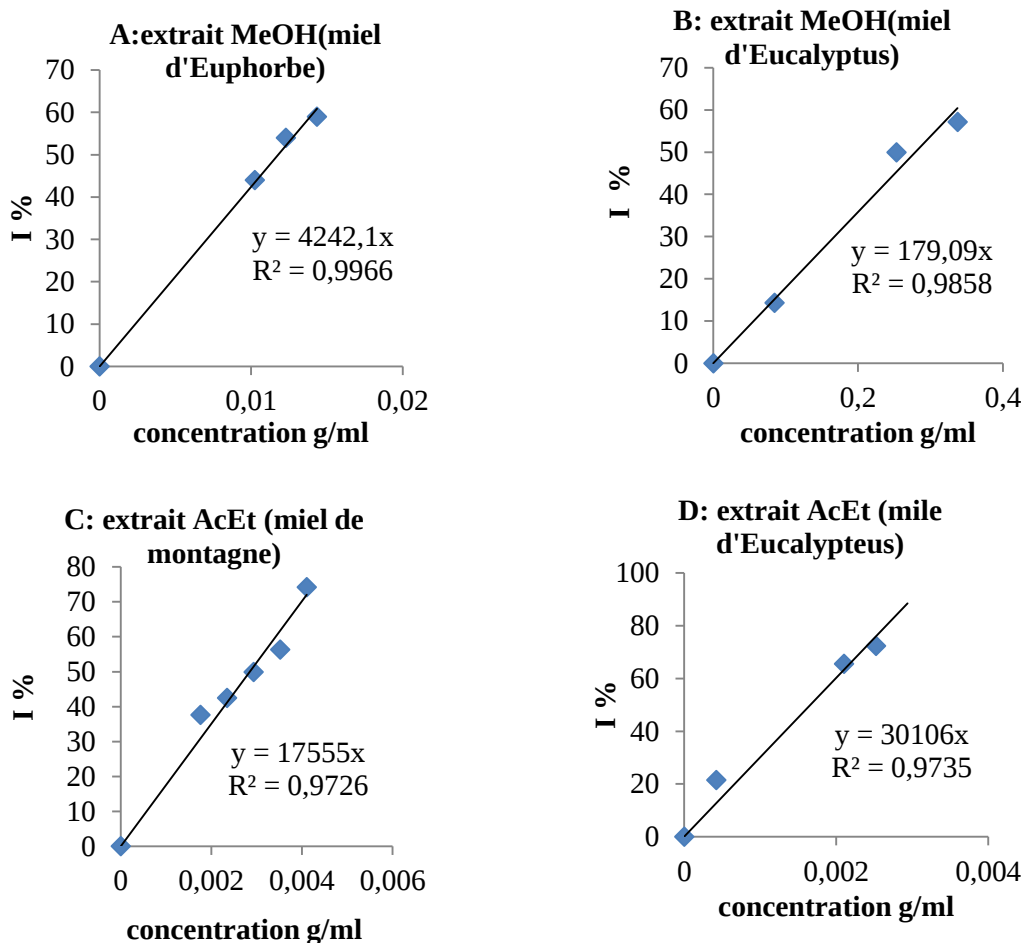


Figure 10 : Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration en composés phénoliques des extraits de miel.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage de réduction de DPPH[•] (I%), pour une concentration en antioxydant (extrait phénolique) donnée. Le paramètre « EC₅₀ » (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50 % la concentration initiale en DPPH[•]) (Kone., 2009) a été calculé pour chaque extrait (Tableau 8). De même, nous avons calculé les EC₅₀ de la vitamine C et de l'acide gallique choisis comme antioxydants standard dans ce test (Tableau 9). Plus la valeur d'EC₅₀ est petite plus la capacité antioxydante de nos extraits est importante (Yaghmai et Kolbadipour., 1987 et Evans., 2006).

Tableau 8 : Les valeurs d'EC₅₀ en (µg/ml) des différents extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.

Échantillons du miel	Me-OH	Ac-Et
	EC ₅₀ (µg/ml)	EC ₅₀ (µg/ml)
Harmel	0,318±0,010	0,018±0,0020
Eucalyptus	0,086±0,023	0,002±0,0001
Seder	0,377±0,026	0,006±0,0002
Chardon	0,179±0,00004	0,086±0,0004
Multifleur	0,333±0,024	0,006±0,0001
Montagne	0,461±0,002	0,003±0,0002
Oranger	0,508±0,013	0,005±0,0002
Euphorbe	0,011±0,0008	0,01±0,0008

Tableau 9 : Les valeurs d'EC₅₀ en (µg/ml) des antioxydants standards

Antioxydants standard	EC ₅₀ « µg/mL »
vitamine C	0,032±0,001
l'acide gallique	0,002±0,00001

En analysant l'ensemble des résultats obtenus (Tableau 8) et sachant que le paramètre EC₅₀ est inversement proportionnel à l'activité antioxydante (**Koula et al.**, 2014). Nos résultats, montrent clairement que les extraits du miel possèdent un potentiel antioxydant important comparable avec celui des antioxydants de référence utilisés dans ce test.

Les valeurs d'EC₅₀ des extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction varient globalement entre 0,002 et 0,508 µg/ml.

Les valeurs d'EC₅₀ des extraits d'acétate d'éthyle varient entre 0,002 et 0,086 µg/ml et entre 0,011 et 0,508 µg/ml pour les extraits méthanoliques. Donc, nous remarquons que les valeurs d'EC₅₀ les plus faibles ont été obtenues dans les extraits d'acétate d'éthyle par rapport aux extraits méthanoliques.

Pour les extraits d'acétate d'éthyle, la valeur plus élevée d'EC₅₀ était de 0,086 µg/ml pour l'échantillon du miel de chardon par contre la valeur la plus faible était de 0,002 µg/ml pour l'extrait du miel d'eucalyptus, cela confirme la possibilité qu'il contient la plus grande quantité des composés accepteurs de radicaux libres et le plus grand potentiel antioxydant (**Beretta et al.**, 2005).

Le test du radical libre DPPH[•] est largement utilisé dans l'étude des composés phénoliques en raison de sa facilité de mise en œuvre et de sa rapidité ; le temps d'incubation 30 min. De plus, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) permettent d'éviter l'auto oxydation des molécules testées et aussi de comparer un grand nombre de composés (**Belkheiri.**, 2010).

En revanche, le radical DPPH[•] pose le problème de son instabilité à la lumière vu que son absorbance à 517 nm décroît sans l'intervention de quelconque antioxydant (**Portes.**, 2008). C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH[•] doivent impérativement se faire à l'obscurité.

Nos extraits d'acétate d'éthyle ont prouvé leur fort pouvoir antioxydant par le test du DPPH ce qui est le cas pour la majorité des miels. **Silici et al.**, (2009) dans ces études sur le miel de *Rhododendron* a montré que plus le contenu phénolique est important les activités antioxydantes et antiradicalaire elles le sont aussi. D'après les résultats obtenus dans le dosage des phénols totaux, nous pouvons constater que nos extraits d'acétate d'éthyle malgré qu'ils sont moins riches en phénols totaux par rapport aux extraits méthanoliques leurs capacité antiradicalaire est nettement plus élevée.

Krpan et al., (2009) dans ces travaux sur l'activité antioxydante du miel d'Acacia, un potentiel antioxydant important s'est avéré proportionnel avec son contenu en polyphénols. Ceci, nous a encouragés à l'étude de la corrélation entre les différents EC₅₀ et le contenu en phénols totaux et flavonoïdes dans les deux extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle. Les coefficients de corrélation obtenus étaient faibles (R=0,4). Cette faible corrélation, confirme qu'il y a peut-être des composés individuels responsables à l'activité antioxydante.

Les différences de l'activité antioxydante peuvent être attribuées à la présence de différents composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, et d'autres composés phénoliques qui ont différents effets antioxydants (**koula et al.**, 2009).

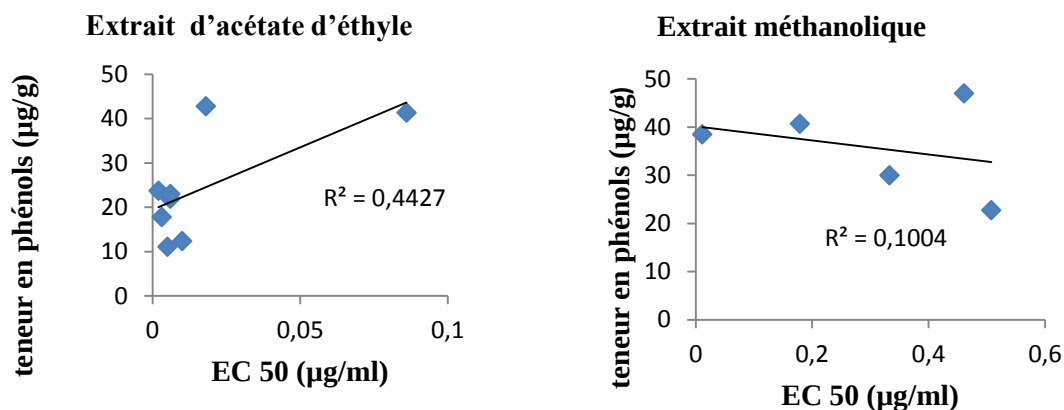


Figure 11 : Etude de la Corrélation entre les valeurs d'EC₅₀et des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.

IV.2) Test de la réduction du Fer (FRAP)

L'activité antioxydante de nos extraits évaluée par ce test a été exprimée en utilisant le paramètre VCEAC : qui représente l'activité antioxydante en équivalent de l'acide ascorbique (Vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity), dont la courbe d'étalonnage est montrée dans la figure (12). Le tableau (10) résume les résultats du test du pouvoir réducteur :

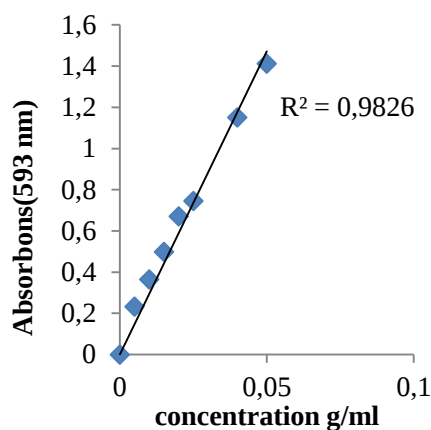


Figure (12) : Courbe représentant la variation des concentrations de l'acide ascorbique (Vit C) en fonction de leur absorbance (593 nm).

Les courbes représentant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration sont données dans la figure (13).

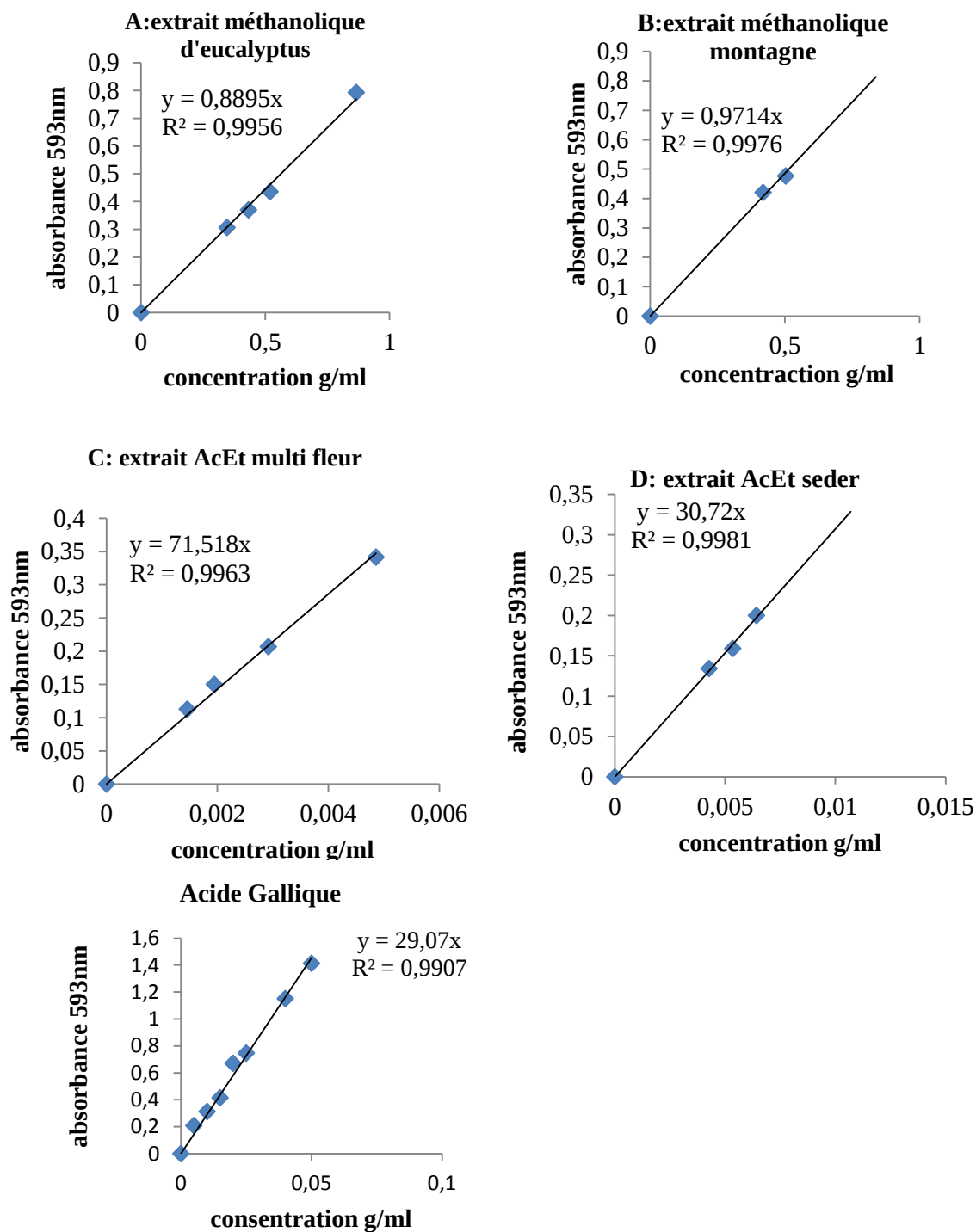


Figure 13 : Courbes représentant le standard et deux échantillons pour chaque extrait (extrait d'acétate d'éthyle et méthanoliques).

Tableau 10 : Les valeurs de VCEAC déterminées par le test FRAP pour les différents extraits de miel.

	VCEAC	
	MeOH	Ac-Et
Eucalyptus	0,0306± 0,084	2,904±2,432
Montagne	0,0334±0.009	1,669±4,893
Orange	0,0311±0.001	0,471±2,802
Chardon	0,0146±0.007	0,091±0,248
Seder	0,0124±0.006	1,058±1,117
Harmel	0,0161±0,016	0,838±0,289
Euphorbe	0,0203±0,008	0,820±0,021
Multifleur	0,0273±0,007	2,463±0,381
L'acide gallique	1.001±4,277	

D'après les résultats donnés dans le tableau précédent, nous remarquons que tous les extraits d'acétate d'éthyle ont un pouvoir réducteur important par rapport à celui de l'acide gallique. Par contre, on trouve que les extraits méthanoliques ont des valeurs très faibles.

Par conséquent, le miel d'Eucalyptus a la valeur d'activité antioxydante la plus élevée parmi tous les miels analysés, ce qui indique sa grande réduction et son potentiel antioxydant puissant. La valeur la plus faible a été enregistrée dans le miel de chardon.

Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence de molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort dans les extraits acétate d'éthyle.

En comparant nos résultats avec les travaux de **Sagdic et al** (2013), réalisés sur les extraits d'acétate d'éthyle de certains types de miel de la Turquie ($EC_{50} = 70,09$ et $86,19$ mgAAE /g de miel) pour le miel d'*Astragalus* et miel de miellat respectivement, nous constatons que ces valeurs sont plus élevées par rapport à nos résultats. Cela pourrait être expliqué par l'origine botanique et géographique ainsi que la nature des composés phénoliques du miel et aussi les méthodes des extractions.

D'après **Mayer et al** (1998), l'activité antioxydante des différents échantillons de miel analysés dépend principalement de la source florale de miel. Cependant, ces auteurs ont

suggéré que l'espèce botanique est la principale source de miel, mais n'est pas le seul facteur qui contribue à ses propriétés antioxydantes.

Pour cela, nos échantillons du miel issus de différentes origines botaniques et ce même facteur peut expliquer son influence sur le contenu en composés phénoliques et sur l'activité antioxydante des échantillons de miel.

Après l'étude de la corrélation entre les VCEAC et le contenu en phénols totaux et flavonoïdes dans les deux extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle.

D'après ces résultats de la corrélation, nous remarquons que celle-ci (VCEAC et teneur en phénols totaux/flavonoïdes) est très faible. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules antioxydantes.

Nos résultats sont inférieurs par rapport aux travaux de **Bertoncelj et al.**, (2007) effectués en Slovénie, où corrélation élevée a été trouvée ($R^2=0,96$) pour le type du miel mono-floral. Ainsi ces résultats expriment qu'il y a une forte relation entre l'activité antioxydante (test FRAP) et le contenu en phénols totaux (**Beretta et al.**, 2005; **Blasa et al.**, 2006).

À travers notre étude de l'activité antioxydante, il nous a parus clairement, que pour les deux méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante, nos valeurs de corrélation sont faibles en raison des points suivants :

- Que l'étude de l'activité antioxydante par ces différents tests dépend de plusieurs facteurs ; la sensibilité de chaque test, les mécanismes d'action mis en jeu par exemple (transfert électronique, donneur de $H\cdot$) et la spécificité du test (**Boussoussa**., 2010).

- Le dosage par la méthode FRAP est basé sur la capacité de l'analyse pour réduire le couple Fe^{3+} / Fe^{2+} . Cependant, étant donné que seule une petite quantité de ces composés est prévu dans le miel, leur contribution à la capacité antioxydante totale peut être considérée comme négligeable (**Ibrahim Khalil et al.**, 2010).

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que Les extraits d'acétate d'éthyle pourraient être considérés donc comme une source importante d'antioxydants qui peuvent être utilisés pour des fins médicinales.

Le miel est un aliment naturel utilisé depuis des années. C'est pour cela les scientifiques cherchent dans ce dernier des caractéristiques et des activités pour l'utiliser à des fins thérapeutiques.

Notre travail vise à faire une étude pour évaluer l'activité antioxydante des miels étudiés. En comparant nos résultats avec des travaux réalisés par plusieurs auteurs sur différents types de miel, on constate que nos échantillons ont un rendement plus élevé en phénols totaux et flavonoïdes avec une capacité antioxydante différente d'un échantillon à l'autre. Parmi nos échantillons du miel : le miel d'eucalyptus représente le meilleur miel car sa capacité de piéger les radicaux libres ($EC_{50}=0,002\mu\text{g/ml}$), de pouvoir de réduction ($VCEAC=2,904$) et son contenu en phénols totaux et flavonoïdes élevé malgré son rendement qui est très faible, aussi le miel de fleur d'orange présente une forte activité antioxydante malgré son rendement, composition en phénols totaux et flavonoïdes est faible. Ainsi, on remarque que le miel du chardon ayant un rendement et un taux en phénols élevés mais il n'a pas une activité antioxydante.

Encore une fois, ces résultats sont confirmés par la teneur en polyphénols totaux des miels, elle s'avère intéressante ainsi que l'activité antiradicalaire et le pouvoir de réduction FRAP.

D'après les résultats obtenus dans notre étude, nous pouvons dire qu'il y a une bonne corrélation entre l'activité antioxydante dosée par le test de DPPH, le contenu en composés phénoliques dans quelques échantillons du miel étudiés. Il apparaît clairement que l'échantillon du miel d'eucalyptus exprime ce résultat.

Nous concluons que le miel d'Algérie possède une forte activité antioxydante et spécialement le miel d'eucalyptus et de fleur d'orange et nous encourageons à continuer les recherches dans le miel et à obtenir plus d'informations qui peuvent remplacer les médicaments chimiques par des aliments naturels et actifs comme le miel.

V Références bibliographiques

- Anso J.**, 2012 .Du miel à volonté. D2A, N°. 1, 23.Article
- Bartosz, G.**, 2003. Generation of reactive oxygenspecies in biological systems. Comments on Toxicology, P 9-5-21.
- Belkheiri N.**, 2010. Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse ; UniversitéToulouse III - Paul Sabatier, 244 pp.
- Benalia W et Benhorma S.**, 2012. Analyse physico-chimique de quelque échantillons de miels commercialisés dans la wilaya de Laghouat. Mémoire d'ingénieur, Université-Amar Telidji Laghouat, p3-6-9-11.
- Benard C.**, 2009 .Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. *Thèse, Univ. France*, 265 pp.
- BersetCetCervelier M.E.**, 1996. Methods of estimationg the degree of lipidoxidation and of measuring antioxidizingpower.Science des Aliments, 16, 219-245.
- Bertonelj J., Dobersek U., Jamnik M. et GolobT.**, 2007. *Evaluation of the phenolic content, antioxidantactivity and color of Solvenianhoney*.Foodchem ; 105 :822-828.
- Bogdanov S., Bieri p. Gallmann** ,2005.Miels monofloraux Suisses. Centre de recherches apicoles, Station de recherches agroscopeLiebfled- posieux .forme 2005, N°231,p56.
- BogdanovS.,Rouff K ., Oddo L.P.** 2004.*physico-chimique methods for the characterisation of unifloralehoneyes ,a review*. Apidologie, 35.S4-S17.
- Boussoussa H.**, 2010. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanteriumadpressum*. Mémoire de Magister, Université-Amar TelidjiLaghouat.p 23,30.
- Chauvin R.**, 1968. Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In : Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, p 116-154.
- Clemence. H .**, 2005: le miel de la source a la thérapeutique thèse de docteur en pharmacie, Université Henri Poincaré – nancy1, p 96.
- Codex aliment Arius.**, 2001.PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES. Commission du Codex Alimentarius. ALINORM 01/25, 1-31.
- KoneD.**,2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes- extraction, identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant, Thèse ; UniversitédeBamako; p 188.

V Références bibliographiques

Djaafri F., Rezzoug S et Ounis K ., 2014. Caractérisation physico-chimique et effet antibactérien de quelques types de miels. Mémoire d'ingénieur, Université kasdi merbah-Ouargla, p 9.

Donadieu Y., 1978 .Les Produits De La Ruche. Thérapeutiques naturelles. Edit, Maloine S. A, Paris.

Doukani K .,Tabak S ., Derriche A ., Hacini Z ., 2014.Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens.1112-5888.

Hadj Salem J., 2009. Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusaet* synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat, UniversitéFrance, p 270.

Helliwell B., Whitman M. (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean. British journal of pharmacology. 142 : p 31-2.

Ibrahim MD., Moniruzzaman M., Boukraa L., Benhanifia M., Asiful MD., Nazmul MD., et al., 2012. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Journal molecules*, 17, 11199-11215.

Khan K., 2010. Polyphénols d'Agrumes (flavanones :extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'Homme) glucuronides (et étude physico-chimique de leur interaction avec le sérum albumine). Thèse de doctorat, Université Marrakech, p169.

Lequet L., 2010. Du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur, thèse de Docteur Vétérinaire ; Université Claude-Bernard - Lyon (médecine - pharmacie), p195.

Meda A, Lamien C., Marco R .,2005. *Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity.* Food Chemistry, vol. 91, N°3, p. 571-577.

Moussaoui N., 2011. Analyse sensorielle de quelques miels du sud Algérien. Mémoire d'ingénieur, Université kasdi merbah-Ouargla, p 7-21.

Nadeem A S., Mohd M., Abdul K ., 2010. *Evaluation of antioxidant activity, quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of Aegle marmelos.* African Journal of Plant Science, p 1 – 5.

Nkhilie Z., 2009 . Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat, Université Marrakech, p 320.

V Références bibliographiques

- Ouchemoukh S., Louaileche H. and Schweizer P., 2007.** *Physicochemical characteristics and pollenspectrum of some Algerian honeys.* *FoodChemicol*; 18 :p52-58.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J.O., 1998.** Mesure et utilisation des antioxydants. *Journal of MedecineSphère*, p 73, 233-239.
- Saric G., Markovic K., Major N., Krpan M., Ursulin-Trstenjak N., Hruskar M et al ., 2012.** *Changes of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Acacia and Multi-floral Honey During Storage. Original scientificpaper*, FTB-ms2946.
- Servais S ., 2004.** Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone. Université de Claude Bernard Lyon.
- Singleton, V. L., Rossi, J. R. 1965.** *Colorimetry of total phenolicswithphosphomolybdic – phosphothungsticacid.* *Am. J. Enol. Vitic*, 16 : 144–158.
- Tomczak C., 2010 .**Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Thèse de doctorat, école nationale vétérinaire, Université Lyon, p 185.
- Sibel S, Osman Sb, Lutfiye b., 2009.**Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobialactivities of Rhododendron honeys.*Food Chemistry* 121 (2010) 238–243.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006.** *Free radicals, metalsand antioxidants in oxidative stress-induced cancer.**Chem. BiolInteract*, 160: 1–40
- Van Antwerpen, P., 2006.** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.
- YaghmaiS et S. Kolbadipour., 1987.** Volatile Component of *Rhanteriumepapposum*Oliv, *Flavour and fragrance journal*, p29-32.
- Moulay Y., 2012.** Investigation Phytochimique de l'Acacia arabicaAux propriétés antioxydantes et inhibitrices, Université kasdimerbah-Ouargla, p 18.
- Doukani. K .,tabak. S., derrriche. A., hacini .Z.** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels algériens.*revueecologie-environnement* (10) : 2014
- Beretta J., Giangiacomo G., Ferrero M., OrioliM. and MaffeiFacino R., 2005.** Standarization ofantioxidantproperties of honey by a combination ofspectrophotometric/fluorimetricassays andchemometrics. *An. ChimicaActa* ; 533 :185-191.
- Bertonelj J., Dobersek U., Jamnik M. and GolobT., 2007.** Evaluation of the phenolic content,antioxidantactivity and color of Solvenianhoney.*Food chem* ; 105 :822-828.

V Références bibliographiques

- Beta T., Nam S., Dexter J.E. and Sapirstein H.D.,**2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled, dulcified and roller-milled fractions. *Cereal Chem*; 60: 390 -393.
- Cimpoiu C., Hosu A., Miclaus V. and Puscas A.**2012. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* ;10 :1010-1016.
- Bogdanov S., Ruoff K. and Persano L.** 2004. Physico-chemical methods for characterization of unifloral honeys : a review. *Apidologie*; 35:4-17.
- Hartmann T.,** 2007. From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* ; 68: 2831 -2846.
- Martos I., Ferreres F., Yao L., D'Arcy B., Caffin N. and Tomás-Barberán F.A.,** 2000. Flavonoids in monospecific Eucalyptus honeys from Australia. *J. Agr. Food Chem* ; 48 : 4744-4748.
- Mayer A.S., Donovan J.L., Pearson D.A., Waterhouse A.L. and Frankel E.N.,** 1998. Fruithydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *J. Agr. Food Chem* ;46 :1783–1787.
- Paramas A. M. G., Barez J. A. G., Marcos C. C., Garcia-Villanova R. J. and Sanchez J.S.,** 2006. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chem*; 95 :146–156.
- Sagdic O., Silici S. and Ekici L.,** 2013. Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *International Journal of Food Properties* ;16:658–666.
- Terrab A., Diez M.J. and Heredia F.J.,** 2003. Palynological, Physicochemical and color characterization of Moroccan honeys : Orange (*Citrus sp.*) honey. *International Journal of Food Science and Technology*; 38 :387-394.
- Halliwell, A., Gutteridge, J.M.C.** (1991) The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*. **280**: 1-8.
- Watt, J.M. et Breyer B , M.G.,** 1962. *The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa*. 2nd Edition. E. and S. Livingstone, London, United Kingdom. 1457 pp.
- Hubert A.J.** 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en Nutrition et santé humaine. Thèse de Doctorat en qualité et sécurité des aliments de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 174p.

V Références bibliographiques

Delattre J, Beaudeau JL et BonnefontR., 2005. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicalesinternationales Paris, 1- 405.

Ibrahim kh, Mahaneem, Syedmohsinsahil j, Nadia a etSitiamrahS.,(2011).evaluation of radical scavengingactivity and colourintensity of ninemalaysianhoneys of differentorigin journal of apiproduct and apimedical science 3 (1): 04 – 11.

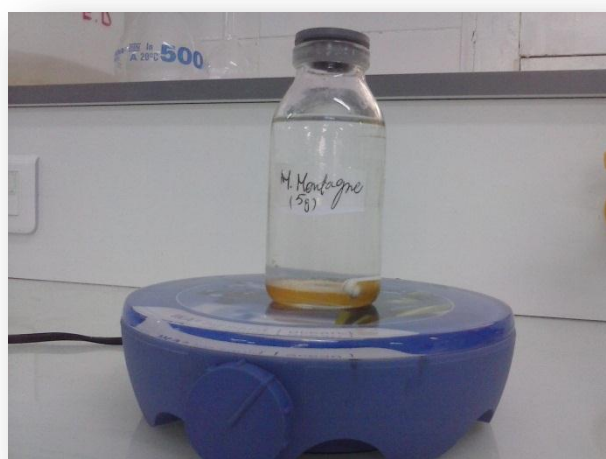
Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., IdrissiHassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N. (2003).Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaelythroides*Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142: 61-78.

R. V. Barbehenn., C. P. Jones., A. E. Hagerman., M. Karonen and J.Salminen.,2006. *Ellagitannins have GreaterOxidativeActivitiesthan Condensed Tannins and Galloyl Glucoses at High pH: Potential Impact on Caterpil*, *J ChemEcol*; 2253–2267 pp.

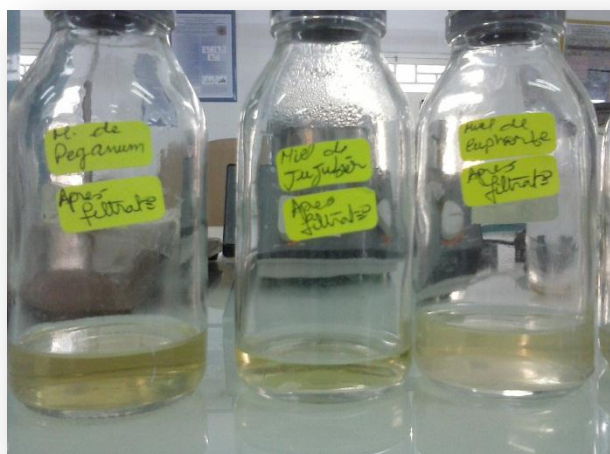
Annexe 1 : une image représentative des variétés des miels après mesure de 5g



Annexe 2 : une image représente le miel de montagne lors de macération



Annexe 3 : une image représente les extraits des miels après filtration d'une macération méthanoliques.

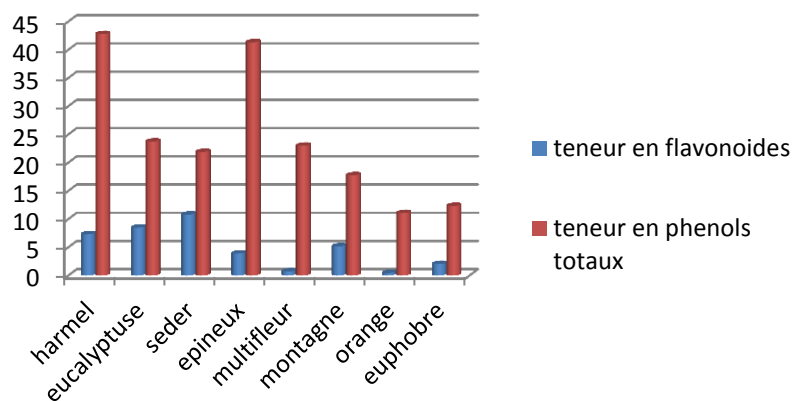


Annexe 4 : image représente l'extrait méthanolique miel de seder.

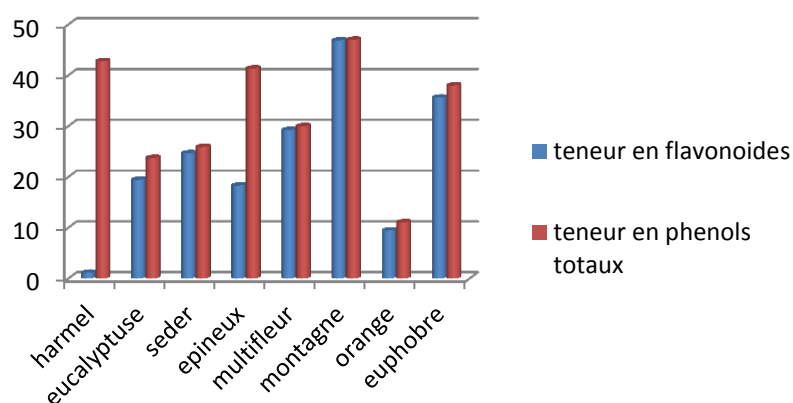


Annexe 5 : Histogrammes représente les teneurs en phénols et flavonoïdes pour l'extrait d'acétate d'éthyle (A) et méthanoliques (B).

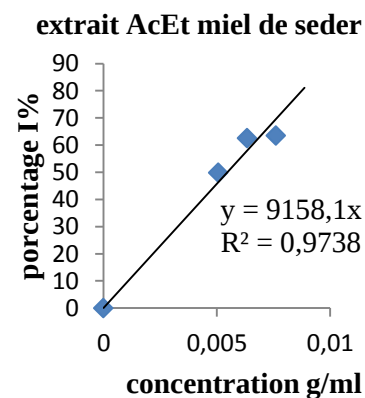
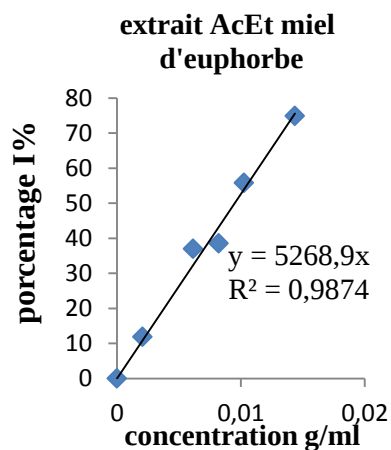
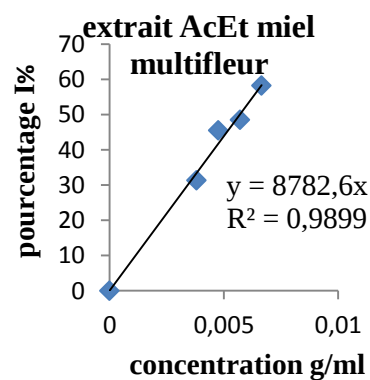
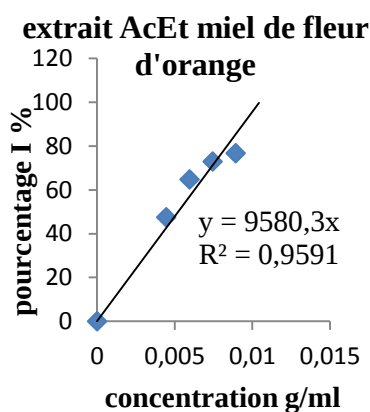
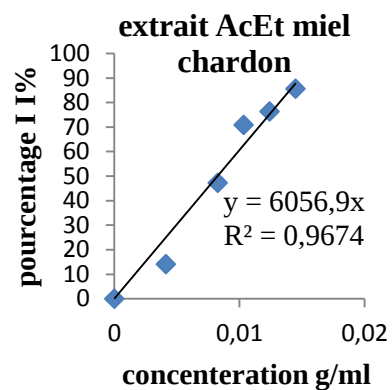
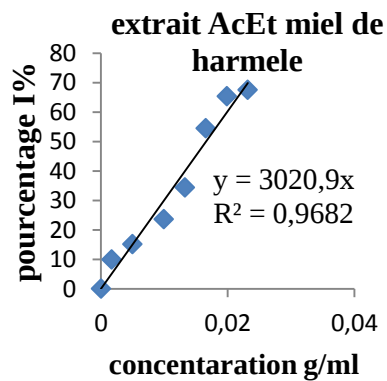
A



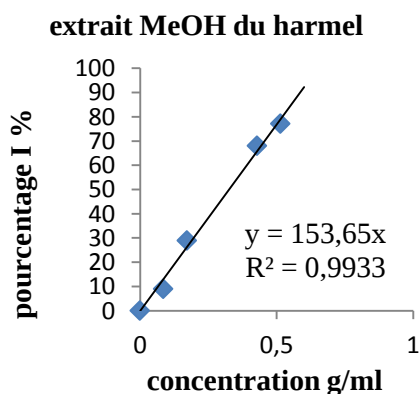
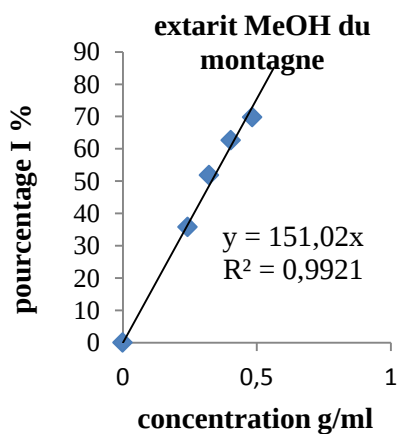
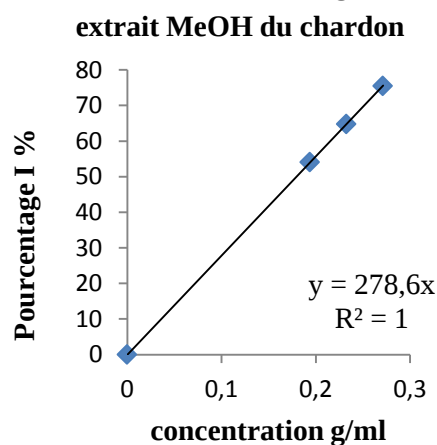
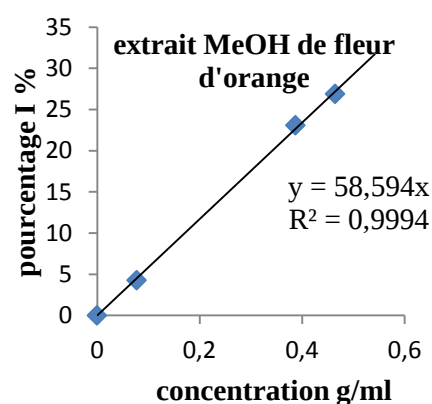
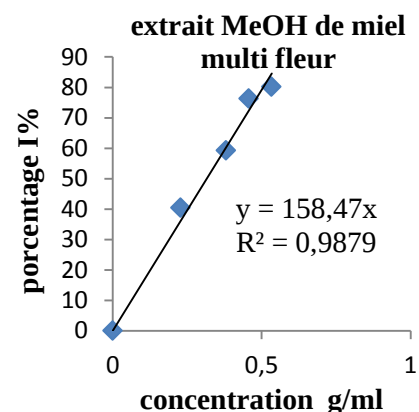
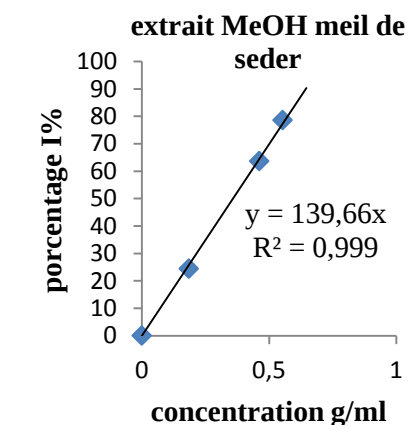
B



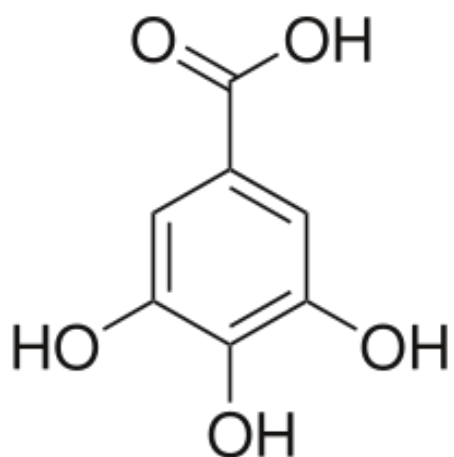
Annexe 6 : les graphes d'I% de l'extrait Acétate d'éthyle des miels .



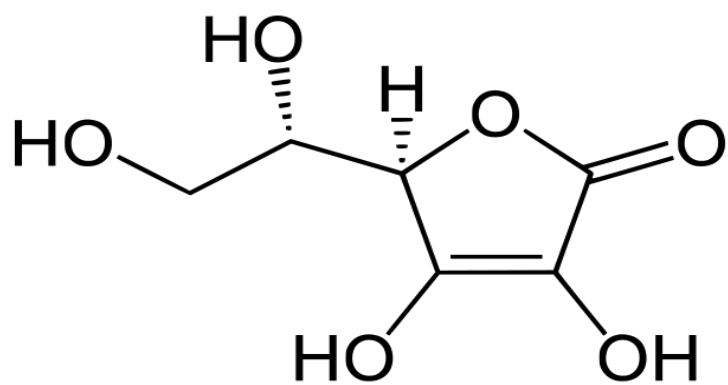
Annexe 7 : les graphes d'I% de l'extrait méthanoliques des miels



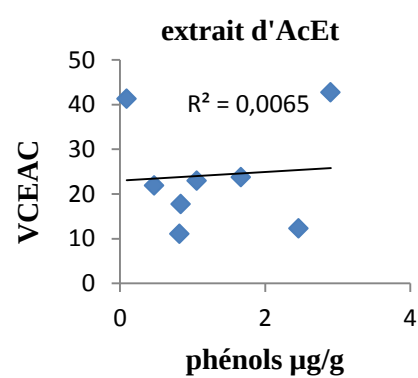
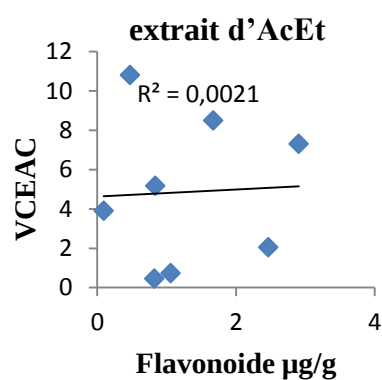
Annexe 8 : structure chimique de l'acide gallique (web)



Annexe 9 : structure chimique de l'acide ascorbique (web)



Annexe 10 : Etude de corrélation entre les valeurs VCEAC, teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits d'acétate d'éthyle.



Résumé :

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant unemultitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique. Une grande partie del'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. L'objectif denotre travail vise à faire une étude sur le type de miel en Algérie qui ayant une activité antioxydante meilleur parmi elle. Une étude a été menée sur des échantillons du miel de déférente région d'Algérie.

L'analyse quantitative despolyphénols totaux utilisant le réactif Folin-Ciocalteu comme méthode de dosage a montré une différence dans la composition phénolique totale des miels étudiés. L'activité antioxydante des différents échantillons a été évaluéepar deux méthodes ; la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH. L'échantillon de miel d'eucalyptus provenant de la région de Tipaza est riche en polyphénols et flavonoïdes est présenteune meilleure activité antioxydante par rapport aux autres échantillons étudiés.

Mots clés : Miel, composés phénoliques, flavonoïdes , activité antioxydante FRAP/ DPPH.

Abstrat :

Honeyis a complexorganic compound of greatdiversity, givingitnumerousproperties, bothnutritionally as therapeutically. Much of the currentresearchinterestfocuses on the study of antioxidantmolecules of naturallorigin. The aim of ourworkis to make a study on the honey in Algeriaguyhavingantioxidantactivity best amongthem. A studywasconducted on samples of honeydeferentialregion of Algeria.

Quantitative analysis of total polyphenolsusing the Folin-Ciocalteu reagentsuchassayshowed a difference in the total phenolic composition of the studiedhoneys. The antioxidantactivity of differentsampleswasevaluated by twomethods; the reduction of iron and trapping of the free radical DPPH. The eucalyptus honeysamplefrom the Tipaza regionisrich in polyphenols and flavonoidspresentis a betterantioxidantactivitycompared to othersamplesstudied.

Keywords:Honey, phenoliccompounds, flavonoids, antioxidantactivity FRAP/DPPH.

ملخص :

تركز الكثير من الأبحاث الحالية الاهتمام عالي دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة طبيعي و يعد العسل مركب بيولوجي عضوي ذاتنوع كبير، ومتعدد الخصائص، سواء من الناحية الغذائية وايضا العلاجية. والهدف من عملنا هذا هو إجراء دراسة على انواع العسل في الجزائر وتحديد أي من بينها لديه جودة في نشاط مضادات الأكسدة الأفضل. وقد أجرينا دراسة على عينات من مناطق مختلفة في الجزائر.

وأظهر التحليل الكيميائي من إجمالي البوليفينول باستخدام كاشف فولين Ciocalteu فرق في إجمال يتكوين الفينولية من عينات العسل المدروسة. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في عينات مختلفة بطريقتين؛ الحد من الحديد ومحاصرة الجذور الحرة DPPH. تعتبر عينة عسل الكاليتوس من منطقة تيبازة النوع غني بالبوليفينول والفلافونويدات و هو من منحها نشاط أفضل لمضادات الأكسدة بالمقارنة مع عينات الأخر التي تمت دراستها.

كلمات البحث: العسل، مركبات الفينول، مركبات الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة. FRAP/DPPH.