

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière: Sciences Biologiques
Spécialité: Alimentation et nutrition
Option : Bioprocédé et Technologie Alimentaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Etude de l'effet gastroprotecteur de quelques miels Algériens in vivo sur des souris ulcérées par l'indométacine

Présenté par :

SAADELI Lynda & TAARKOUBT Sonia

Soutenu le: **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{me} BOULEKBACHE L.

M^r BOUKHALFA F.

M^{me} AIDLI A.

Présidente

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017



Remerciements

En premier lieu, nous remercions dieu le tout puissant pour son aide et pour avoir accordé la volonté, courage et patience.

Toute notre estime et notre respectueuse gratitude vont à Monsieur BOUKHALFA F. D'avoir accepté d'être notre promoteur. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'il trouve ici l'expression de notre haute considération et notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements les plus chaleureux s'adresse aussi à M^{me} BOULEKBECHÉ de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer ce mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à M^{me} AIDL I d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci

Sonia et Lynda



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A mes chers parents pour leur amour et leur support continu
Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde
reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

Mon très cher frère Lamine, et ma très chère sœur Amel.

A mon cher Fatah. H

*Mon fiancé et L'amour de ma vie, qui me soutient, Je te remercie pour tout le
bonheur et la fidélité que tu m'apportes jour après jour, ta présence, les sacrifices
accomplis, ta patience, ton soutien moral et tes attentions de tous les jours.*

A l'âme de ma grand-mère Djamila et mon oncle SADEK

Que Dieu les accueille dans son vaste paradis

*Ma chère grand-mère Aicha, mon grand père Lahlou et à toutes ma famille : mes
oncles, mes tantes et à mes cousins et cousines.*

A Mon binôme et toute sa famille.

A mes meilleurs copines Meriem ; Hanane et leur famille

*A mes adorables amies : Sabrina, Khadîdja, Zineb, Leila, Fatiha, Asma et
autres.*

*Toute la promotion Bioprocédés et Technologie Alimentaire 2017. Je vous
souhaite, à toutes et à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.*

A tous ceux qui mon aidé à la réalisation de ce travail.



Dédicace

J'ai l'honneur à dédier ce modeste travail

A mes très chère parents SEDDIK et ZAHIA je ne peux jamais imaginer une vie sans vous, merci pour votre patience, pour votre soutien infini; pour vos conseils d'or tout au long de ma vie, j'espère que je suis la bonne fille que vous souhaitez de l'avoir et je serai une source de fierté pour vous. Mes très chers frères : Salim et Yanis pour qui je souhaite une vie pleine de joie, réussite et beaucoup de bonheur.

A l'âme de mon grand-père paternelle BOUZID et ma grand-mère maternelle KHALES RABIAA que Dieu les accueille dans son vaste paradis.

A mes grands-parents AHMED et MESSAOUDA que dieu les gardes

A mes oncles ZAIDI, NOREDDINE, RABAH, LAID et ainsi à leur famille ; mon oncle EL KHIER qui m'a vraiment soutenu dans toutes mes années d'études ainsi que sa femme ; mes tantes et leurs familles. Mes cousins et cousines surtout Nounou et Salwita.

A mes très chères copines Mima et Biba avec qui j'ai passé des agréables et inoubliable moments.

A tous mes ami(e)s : Mounir, Kimou, Rachid, Yasmina, Lydia, Hanane, Lamouche, Sabrina et les autres .

Sans oublier ma binôme M^{lle} TAARKOUBT Sonia et toute sa famille.

A toute la promotion bioprocédés et technologie alimentaire 2016/1017 à qui je souhaite une bonne continuation dans leur vie soit privé ou professionnelle.

Enfin, mes dédicaces vont à toute la famille SAADELI et KHALES

DIDA LYNDA



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction 1

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Le miel 3

I.1.1 Origine du miel 3

I.1.2 Composition du miel 3

I.1.3 Propriétés thérapeutique du miel 4

I.1.4 Les molécules bioactives du miel 4

I.2 Les maladies gastriques 5

I.3 Ulcère gastrique 5

I.3.1 Facteurs favorisant l'apparition d'ulcère gastrique 5

I.3.2 Les symptômes de l'ulcère 6

I.3.3 Traitement de l'ulcère gastrique 7

I.4 Anatomie de l'estomac 8

I.4.1 Histologie de l'estomac 8

I.4.2 Physiologie de la sécrétion gastrique 9

I.4.3 Formation des sécrétions gastriques 10

I.4.4 Contrôle de la sécrétion acide 10

CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES

II. Matériel expérimental 12

II.1 Echantillonnage	12
II.2 Extraction des antioxydants	12
II.3 Dosage des antioxydants	12
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux	12
II.3.2 Dosage des flavonoïdes	12
II.3.3 Dosage des anthocyanines	13
II.3.4 Dosage des caroténoïdes	13
II.3.5 Dosage de l'acide ascorbique (vitamine C)	14
II.4 Détermination de l'activité antioxydante.....	14
II.4.1 Pouvoir réducteur	14
II.4.2 Neutralisation des radicaux libres.....	15
II.5 Evaluation de l'activité gastroprotectrice	15
II.5.1 Matériel animal.....	15
II.5.2 Evaluation de l'activité anti-ulcère.....	18
II.6 Analyse statistiques	19

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III. Résultat et discussion	20
III.1 Dosage des antioxydants	20
III.1.1 Composés phénolique totaux	20
III.1.2 Flavonoïdes	21
III.1. 3 Anthocyanine	23
III.1.4 Caroténoïdes.....	24
III.1.5 Acide ascorbique	24
III.2 Activités antioxydante.....	26
III.2.1 Réduction de chlorure ferrique.....	26
III.2.2 Pouvoir anti-radicalaire DPPH*	27

III.3 Evaluation de l'activité gastroprotectrice.....	28
III.3.1 Les Observations macroscopiques	28
III.3.2 Evaluation du degré d'ulcération et d'inhibition par le calcul des surfaces.....	30
III.3.3 Evaluation des effets de miel sur les taux gastriques de MDA.	31
Conclusion.....	33
Référence Bibliographique	
Annexe	

Liste des abréviations

- ❖ % : pourcentage.
- ❖ °C : degré Celsius.
- ❖ µg : microgramme.
- ❖ µl : microlitre.
- ❖ AA : acide ascorbique.
- ❖ Abs : absorbance.
- ❖ AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien.
- ❖ DCPIP : 2,6 dichlorophenol-indophénol.
- ❖ DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- ❖ E : équivalent.
- ❖ EAG : équivalent d'acide gallique.
- ❖ EQ : équivalent quercétine.
- ❖ EβC : équivalent beta carotène.
- ❖ FeCl₃ : chlorure ferrique.
- ❖ g : gramme.
- ❖ kg : kilogramme.
- ❖ l : litre.
- ❖ M: molarité.
- ❖ MDA : malondialdéhydes
- ❖ mg : milligramme.
- ❖ min : minute.
- ❖ ml : millilitre.
- ❖ N : normalité.
- ❖ nm : nanomètre.
- ❖ nmol : nanomole.
- ❖ pH : potentiel d'hydrogène.

Liste des figures

Figure 1: Structure d'indométacine.....	6
Figure 2: Anatomie de l'estomac	8
Figure 3: Formation des sécrétions acide.....	10
Figure 4: Le contrôle de la sécrétion acide.	11
Figure 5: Photographie originale des souris albinos.	16
Figure 6: Photographie originale d'élevage des souris au sein de l'animalerie.....	16
Figure 7: Photographie originale de gavage des souris avec différents traitements.	17
Figure 8: Les différentes étapes du sacrifice des souris.....	17
Figure 9: Teneurs en composés phénoliques totaux des miels étudiés.....	20
Figure 10: Teneurs en flavonoïdes des miels étudiés.....	22
Figure 11: Teneurs en anthocyanines des miels étudiés.	23
Figure 12: Teneurs en caroténoïdes des miels étudiés.	24
Figure 13: Teneurs en acide ascorbique des miels étudiés.....	25
Figure 14: Pouvoir réducteur en FeCl ₃ des échantillons étudiés.....	26
Figure 15: Pouvoir anti-radicalaire vis-vis DPPH* des miels étudiés.	27
Figure 16: Photographie originale des estomacs.	28
Figure17: Photographie originale des estomacs traités par le miel.....	29
Figure18: Photographie originale d'un estomac ulcéreuse traité par le misoprostol.....	29
Figure19: Représentation en histogramme de l'effet du Misoprostol et de miel sur l'ulcère induit par l'indométacine chez les souris..	30
Figure 20: Les valeurs des niveaux de MDA gstriques (nmol MDA/mg du tissu) chez les groupes expérimentaux..	32

Introduction

Introduction

L'ulcère est l'un des événements fréquents et maladies gastro intestinale qui peut être induite par de nombreux facteurs, notamment le stress, le tabagisme, l'alcool, l'infection par *Helicobacter pylori* (**Li et al., 2016**), et l'utilisation accrue de médicament anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) tels que l'indométacine (**Belaiche et al., 2002**), qui intervient dans la suppression de la prostaglandine qui jouent un rôle protecteur vital en stimulent les sécrétion de bicarbonate et de mucus, maintien du sang de la muqueuse flux et régulation du renouvellement et de la réparation des cellules muqueuse (**Li et al., 2016**).

Cette maladie est caractérisée par des lésions de la muqueuse gastrique qui résultent d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs tels que l'acide et la pepsine, et les mécanismes de défense de l'intégrité de la muqueuse gastriques (**Joseph et al., 2010**).

Plusieurs médicaments sont utilisés pour le traitement de l'ulcère gastrique tel que les inhibiteurs de la pompe à protons, les antagonistes des récepteurs histaminiques, les antiacides, les analogues des prostaglandines.

Les thérapies existantes sont très couteux et toute fois certains de ces molécules favorisent non seulement une large gamme d'effets secondaires indésirables (hypersensibilité, arythmie, impotence, changement hématopoïétiques) mais aussi une faible efficacité dans le traitement de cette pathologie (**Viana et al., 2013 ; Batista et al., 2015**).

Le miel, un produit utilisé depuis l'antiquité comme remède dans de nombreuses cultures et communautés, fait toujours l'objet de nombreuses études où lui est attribué une multitude de propriétés bénéfiques pour l'organisme, citant les activités antioxydant et anti-inflammatoire, stimulant de l'épithélialisation et de la régénération des tissus, traitement de désordres gastro-intestinaux, gingivite et maladies parodontales (**Farzana et al., 2016**).

Dans une méta-analyse une équipe d'oncologie à étudié les effets du miel dans les soins de lésions cancéreuse qui s'accompagnent le plus souvent de nécrose (**Goetz, 2009**).

L'objectif de notre étude consiste à étudier la composition phytochimique de quelques miels des régions de la willaya de Bejaia et d'évaluer son activité gastro-protectrice sur l'ulcère gastrique induit par l'indométacine sur des souris *Swiss albinos*.

Pour réaliser cet objectif, la présente étude est divisée en deux parties, dont la première est une partie théorique qui vise à présenter le miel et ses aspects thérapeutiques et nutritionnels, ainsi que l'ulcère gastrique et sa pathologie.

La deuxième partie est une partie pratique qui porte sur l'analyse phytochimique des différents miels étudiés, ainsi que la détermination de leur activité antioxydante en procédant par plusieurs méthodes (pouvoirs réducteurs et activités anti-radicalaires), et étudier l'effet gastroprotecteur de ces miels *in vivo* sur des souris *Swiss albinos* ulcéreuse par l'indométacine.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I.1 Le miel

Selon le **Codex alimentarius 1981**, le miel est défini comme étant une substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ; de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des enzymes qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche.

I.1.1 Origine du miel

Le miel se classe en deux grandes variétés selon l'origine sécrétoire, soit à partir du nectar ou à partir de miellat recueilli sur les plants (**Meda, 2005**).

Le nectar est un liquide sucré produit par les nectaires, organes glandulaires de certains végétaux supérieurs (**Guerzou et Nadji, 2002**).

Le miellat est une solution sucrée dont la concentration en sucre variable (5 à 20%) contrairement au nectar le miellat contient différentes quantités de sucres, surtout du mélézitose (**Bougdanov et al., 2007**).

I.1.2 Composition du miel

Le miel se compose principalement de sucres, d'eau et divers autres substances telles que les protéines (enzymes), les acides organiques, les vitamines, les minéraux, les pigments, les composés phénoliques, et une grande variété de composés volatils ainsi que des particules solides dérivées de la récolte de miel (**Da Silva et al., 2015**).

Les hydrates de carbone est l'ingrédient le plus important du miel, et représente 65 à 70% de glucides, principalement des monosaccharides (glucose, fructose) suivi de disaccharides (saccharose) et d'une faible concentration de trisaccharides (**Meo et al., 2016**).

Le miel est considéré comme une source riche de minéraux, d'acides aminés (principalement de la proline), de protéines, de vitamines, d'enzymes, etc (**Gulzar et al., 2016**).

La composition chimique et la quantité de ces composés sont influencées par la source florale, le climat et les conditions environnementales (**Pablo et al., 2015**). La qualité du miel est déterminée par l'origine botanique et géographique (**Luana et al., 2015**).

I.1.3 Propriétés thérapeutiques du miel

Le miel est très connu dans la consommation humaine comme source d'aliment naturel mais également utilisé comme ingrédient dans diverses préparations alimentaires, dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées comme édulcorants, et en confiseries comme agents aromatisants (**Ndife et al., 2014**).

Le miel a été utilisé comme médicament depuis l'antiquité dans de nombreuses cultures et communautés (**Farzana et al., 2016**), dont il est utilisé pour le traitement des brûlures, des désordres gastro-intestinaux, de l'asthme et des ulcères de peau (**Al-Mamary et al., 2002 ; Ferreira et al., 2009**). Administré par voie buccale, le miel peut guérir ou soulager l'insomnie, les maux de gorge et certaine infection gastrique. Il augmente aussi la teneur du sang en hémoglobine et la vigueur musculaire (**Jean-Prost, 2005**).

Le miel a toujours eu une place appréciée dans la médecine traditionnelle. Il a été principalement utilisé pour la cicatrisation des plaies et les maladies de l'intestin (**Boussaid et al., 2014**).

Le miel peut être utilisé comme un masque pour une peau assainie, en massage stimulant et détoxifiant, en gargarisme pour les irritations de la gorge, en inhalation en cas de toux (**Ballot Flurin, 2009**).

Les vertus thérapeutiques du miel sont attribuées à son activité antioxydante et antibactérienne. Les miels contiennent un faible pH et une osmolarité élevée combinée à travers l'assemblage enzymatique du peroxyde d'hydrogène exerce un résultat antimicrobien. L'action antibactérienne était principalement due au peroxyde d'hydrogène formé par l'enzyme glucose oxydase dérivée de l'abeille. L'activité antibactérienne du miel est principalement tributaire de son activité peroxyde et de ses mécanismes anti-peroxyde (**Meo et al., 2016**).

I.1.4 Les molécules bioactives du miel

La littérature suggère que le miel est un aliment contient de puissants agents antioxydants (**Meo et al., 2016**). Ces derniers sont également utilisés actuellement comme conservateurs dans les industries alimentaires et cosmétiques (**Cynthya et al., 2017**).

A partir des années 1970, des chercheurs issus de différents domaines scientifiques ont commencé à étudier les propriétés chimiques et biologiques du miel, incluant ses qualités antibactériennes, bactériostatiques, anti-inflammatoires, anti-tumorales. Les travaux les plus

récents ne décrivent plus seulement le miel comme un supplément alimentaire bénéfique, mais nous éclairent sur ses propriétés antioxydantes.

Les différents antioxydants présentés dans le miel sont les composés phénoliques, les pigments caroténoïdes et les vitamines tels que vit C.

I.2 Les maladies gastriques

Selon **Escudier, (2009)**, les troubles et les pathologies gastro-intestinales sont fréquents et peuvent être divisés en trois catégories :

- troubles inflammatoires: ulcère gastrique, maladie cœliaque, maladie de Crohn et rectocolite hémorragique.
- troubles néoplasiques: cancer de l'œsophage, de l'estomac et du côlon.
- troubles fonctionnels: achalasia, diverticulose et syndrome du côlon irritable.

I.3 Ulcère gastrique

L'ulcère gastrique est une lésion nécrotique profonde impliquant toute la profondeur de la muqueuse et la musculature, caractérisé par une perte de substance de la paroi digestive atteignant la musculature. Il est à différencier des érosions et abrasion (muqueuse) et ulcération (sous muqueuse) (**Zeitoun et al., 2014**).

De nombreux facteurs (génétiques, neuronaux, hormonaux, humoraux et iatrogènes) ont été postulés pour avoir des rôles dans le développement de l'ulcère (**Tarnawski, 1991**).

L'ulcère gastrique est dû à un déséquilibre entre les facteurs d'agression de la muqueuse (sécrétion chlorhydrique) et les facteurs protecteurs (barrière muqueuse). Les ulcères duodénaux sont les plus souvent localisés dans le bulbe, où le pH est encore acide. En aval, les sels biliaires neutralisent la sécrétion acide gastrique (**Zeitoun et al., 2014**).

I.3.1 Facteurs favorisant l'apparition d'ulcère gastrique

Plusieurs facteurs peuvent favoriser le déclenchement et la prolifération de cette pathologie parmi eux :

➤ **Anti-inflammatoire non stéroïdiens et l'aspirine**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale ou de l'automédication. Leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques sont connues depuis la fin du siècle dernier et expliquent leur large utilisation. Certains AINS, et tout particulièrement l'aspirine ont des propriétés

inhibitrices (**Blain et al., 2000**), inhibent le cyclo-oxygénase (COX), qui est un principe médiateur impliqué dans la synthèse de prostaglandine et de la thromboxane_{A2}. Leur toxicité gastroduodénale est due principalement à la diminution de synthèse des prostaglandines qui jouent un rôle important dans le maintien de la barrière muqueuse, mais également à des mécanismes vasculaires (**Zeitoun et al., 2014**).

L'indométacine appartenant au groupe des indoliques, dont le groupement acétique est fixé en position 3 (**Figure 1**) où l'azote hétérocyclique est acidifié par un reste par-chlorobenzoyl. Les autres substituants présentent son groupement méthyle (en position 2) et un motif éther oxyde (méthoxy), en position 5 (**Kirkiacharian, 2010**).

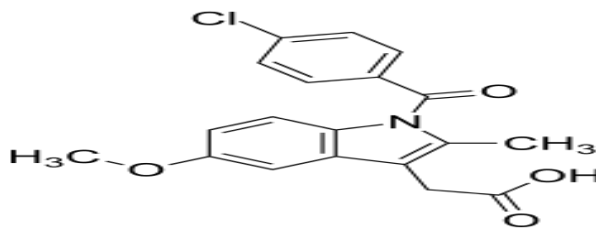


Figure 1: Structure d'indométacine.

➤ *Helicobacter pylori*

C'est une bactérie spirale, bacille à gram (-) qui colonise la muqueuse gastrique entraînant une gastrite chronique évoluant vers l'atrophie (**Zeitoun et al., 2014**).

Les autres facteurs sont le tabac (par augmentation de la sécrétion gastrique acide) et le stress, l'alcool.

I.3.2 Les symptômes de l'ulcère gastrique

Les ulcères gastriques peuvent causer une douleur rongeur ou semblable à une brûlure dans la région épigastrique. La douleur se manifeste souvent d'une à trois heures après les repas et disparaît après l'ingestion de nourriture.

Les autres symptômes de l'ulcère comprennent le manque d'appétit, les éructations, les nausées, et les vomissements (**Elaine et Marieb, 2008**).

Ces ulcères peuvent entraîner de graves complications. Dans environ 20 % des cas, le sang s'écoule des vaisseaux sanguins endommagés et se répand dans le tube digestif, causant une hématurie (vomissement du sang) et un méléna (évacuation de sang noire par l'anus) ce qui provoque une anémie si la perte est importante (**Elaine et Marieb, 2008**).

I.3.3 Traitement de l'ulcère gastrique

La première étape de traitement consiste à éviter les substances irritantes comme le tabac, l'alcool, l'ibuprofène et l'aspirine et tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les médecins prescrivent souvent des médicaments antiacides pour neutraliser les acides de l'estomac.

➤ **Les antiacides**

Ces molécules neutralisent les protons par son pouvoir tampon, protégeant la muqueuse gastrique, soit par pouvoir couvrant, soit par modification du mucus gastrique contre l'action de HCl (**Gimenz *et al.*, 2000**).

➤ **Les anti-sécrétoires**

Les inhibiteurs de la pompe à protons agissent directement en bloquant le système de transport impliqué dans la sécrétion des ions H^+ par les cellules pariétales. En diminuant la sécrétion acide, ces médicaments, s'ils sont efficaces, sont susceptibles d'induire une hypergastrinémie secondaire (**Scoazec, 2011**).

➤ **Les pansements gastriques**

Les pansements gastriques sont des préparations médicamenteuses administrées par voie orale afin de protéger la muqueuse gastrique lésée ou risquant de l'être. Elle sert de rempart entre la muqueuse lésée et les sucs digestifs (dont l'acide chlorhydrique), elles agissent par effet mécanique en formant un gel venant tapisser la surface du contenu de l'estomac (**Lechat *et al.*, 1982**).

➤ **Eradication de *Helicobacter pylori***

L'éradication de *H. pylori* par une trithérapie adaptée constitue désormais le traitement de choix de la maladie ulcéreuse. Bien que *H. pylori* soit sensible, *in vitro*, à de nombreux antibiotiques, son élimination reste difficile, probablement du fait de sa localisation au sein du mucus gastrique acide, ce qui réduit l'activité locale des antibiotiques.

Au début des années 1990, plusieurs essais cliniques italiens et français ont montré qu'un taux d'éradication de plus de 85 % pouvait être obtenu avec une trithérapie de sept à dix jours associant deux antibiotiques et un anti-sécrétoire. Les antibiotiques utilisés étaient la clarithromycine, l'amoxicilline et les nitro-imidazolés. L'anti-sécrétoire utilisé était un IPP, l'oméprazole (**Bommelaer et Stef, 2009**). Il est systématique en postopératoire ou après confirmation de l'infection par une sérologie (**Zeitoun *et al.*, 2014**).

I.4 Anatomie de l'estomac

L'estomac aussi appelé **poche stomacale** est la portion du tube digestif en forme de poche, située entre l'œsophage et le duodénum. L'estomac est en rapport anatomique avec le foie, la rate, le pancréas, le diaphragme et les intestins. Il est situé au-dessus du mésocôlon (**Elaine et Marieb, 2008**) (voir figure 2)

L'estomac permet d'assurer la digestion par ses fonctions mécaniques (brassage) et chimiques en mélangeant les aliments aux sucs gastriques (eau, acide chlorhydrique, enzymes). Pour une digestion idéale, le pH de l'estomac est compris entre 1,5 (pendant la nuit) et 5 (en début de digestion): les enzymes gastriques fonctionnent à pH acide (un $\text{pH} < 7$) (**Zeitoun et al., 2014**)

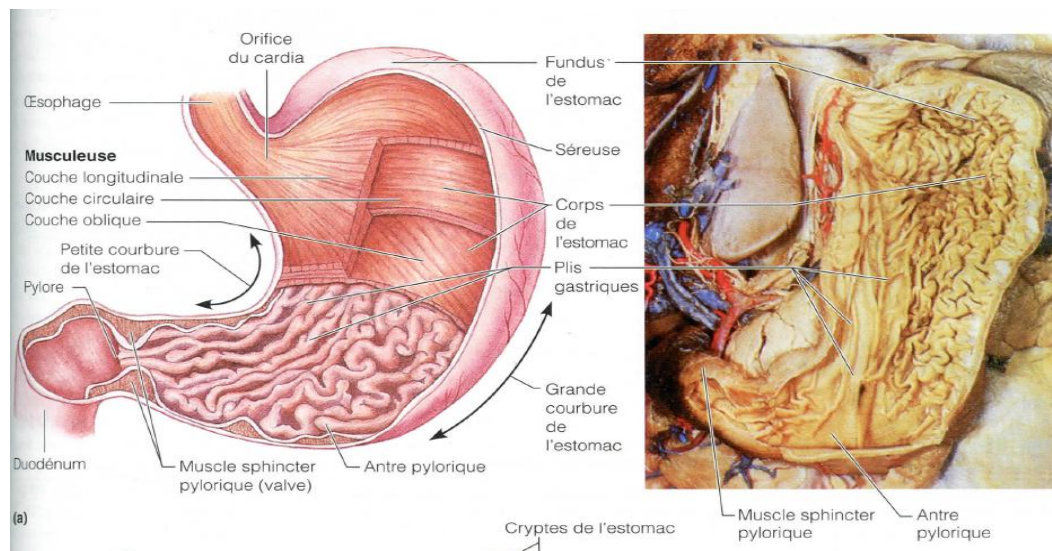


Figure 2: Anatomie de l'estomac.

I.4.1 Histologie de l'estomac

L'estomac est constitué de plusieurs régions :

- **Le cardia:** jonction entre l'œsophage et l'estomac (**Stevens et low, 2006**).
- **Le fundus ou grosse tubérosité:** partie en forme de dôme situé du côté latérale du cardia (**Elaine et Marieb, 2008**).
- **Le corps:** c'est la partie médiane qui va en rétrécissant vers le bas et se prolonge par l'antre pylorique (**Elaine et Marieb, 2008**).
- **L'antre:** portion terminale de l'estomac, terminée par le pylore qui régit l'évacuation gastrique via le muscle sphincter pylorique (**Elaine et Marieb, 2008**).

La paroi de l'estomac est composée de quatre couches qui sont :

- **Muqueuse:** c'est la couche la plus profonde, est une membrane humide qui tapisse la cavité, ou lumière de l'organe (**Elaine et Marieb, 2008**).

- **Sous-muqueuse:** se compose de tissu conjonctif aréolaire qui relie la muqueuse à la musculuse.

- **Musculaire:** comporte trois types de fibres musculaire lisses, longitudinales externes, circulaire moyenne et oblique internes, qui jouent un rôle important dans le brassage des aliments.

- **Séreuse (péritoine):** correspond à la partie externe de la paroi (**Belon et Lacour, 2015**).

1.4.2 Physiologie de la sécrétion gastrique

Le principal rôle de l'estomac est de transformer les aliments à l'état de **chyme** semi-liquide afin de les rendre acceptables pour l'intestin. L'agent de cette transformation est le suc gastrique qui est un liquide incolore limpide inodore et acide (pH compris entre 1,5 et 2,5), il est produit par les glandes fundus et du corps gastrique sous la dépendance de prise d'aliment (**Elaine et Marieb, 2008**).

Le suc gastrique est très riche en $[H^+]$: de 0 à 150 mmol/L, et contient 7 g/l de substances dissoutes pour moitié organique et moitié minérale (**Bado et sobhani, 2011**).

Les substances organiques de l'estomac sont diverses, à savoir :

- **Le mucus:** assure une protection physique et chimique contre l'acidité et les enzymes du suc gastrique par un film continu formé à la surface de l'épithélium. Il est constitué des glycoprotéines très hydrophiles qui retiennent les bicarbonates (**Belon et Bernard, 2015**).

- **Le facteur intrinsèque:** c'est une glycoprotéine secrétés par les cellules pariétales. Elle lie la vitamine B₁₂ (cobalamine) et la transporte jusqu'à l'iléon ou elle est absorbé (**Belon et Bernard, 2015**).

- **Les pepsinogènes I et II:** sont secrétés par les cellules principale ce sont les formes inactive de la pepsine qui sont activées par l'acidité gastrique, la pepsine est une endopeptidase active à pH acide entre 1.6 et 3.2 qui clive les protéines au niveau des acides aminés aromatique libérant des polypeptides de masse moléculaire encore élevée. Les peptones (**Belon et Bernard, 2015**).

- **La lipase gastrique:** est secrétés par les cellules principale elle est activer en milieu acide, et hydrolyse les triglycérides en glycérides et acides gras par coupure de la liaison ester externe (**Belon et Bernard., 2015**).

I.4.3 Formation des sécrétions gastriques

La sécrétion acide commence avec l'insertion des canalicules dans la membrane apicale des cellules pariétales et l'ouverture des canaux Cl^- et celles de K^+ active la H^+/K^+ ATPase qui permet de sécréter les protons (**Belon et Bernard, 2015**).

Les ions H^+ sécréter par les cellules pariétales proviennent de la dissociation de H_2CO_3 formé à partir du CO_2 et de H_2O sous l'action de l'anhydrase carbonique. Les ions bicarbonate sont éliminés dans le sang en échange d'ions Cl^- au pôle basolatérale de la cellule (**Figure 3**). L'arrêt de la sécrétion acide sera lié au repli dans la cellule des canalicules sécrétoires (**Belon et Bernard, 2015**).

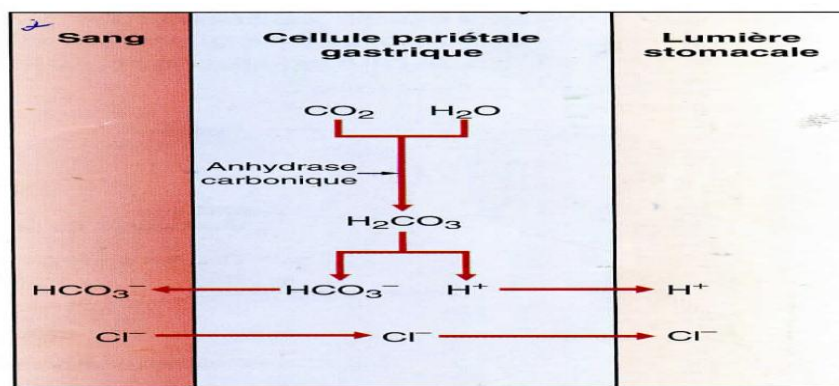


Figure 3: Formation des sécrétions acide.

I.4.4 Contrôle de la sécrétion acide

Selon (**Belon et Bernard, 2015**), les trois stimulants de la sécrétion acide des cellules pariétales sont l'histamine, la gastrine et l'acétylcholine (**Figure 4**).

- **L'histamine:** est produite par les histaminocytes ou cellules entérochromaffine-like. Elle agit p par voie paracrine, en se fixant sur récepteurs H_2 des cellules pariétales pour augmenter l'AMPC intracellulaire.
- **La gastrine:** est produite par les cellules G. Elle agit par voie endocrine sur les cellules pariétales elles-mêmes et sur les histaminocytes en stimulant la libération d'histamine
- **L'acétylcholine:** libérée par la stimulation du nerf vague. Elle agit directement sur les cellules pariétales (récepteurs M_3) et indirectement en stimulant les histaminocytes et les cellules a gastrine (**Belon et Lacour, 2015**).

Les inhibiteurs de la sécrétion gastrique acide des cellules pariétales sont les Somatostatine, Sécrétine, Prostaglandine.

- **La Somatostatine** : elle est élaboré par les cellules D, qui agit par voie paracrine, inhibe la sécrétion gastrique de toutes les substances.
- **La Sécrétine** : agit par voie endocrine inhibe la sécrétion et la motilité gastrique.
- **La Prostaglandine** : agit par voie paracrine (récepteur couplé à une protéine G inhibitrice de l'adenylate cyclase (**Belon et Lacour, 2015**)).

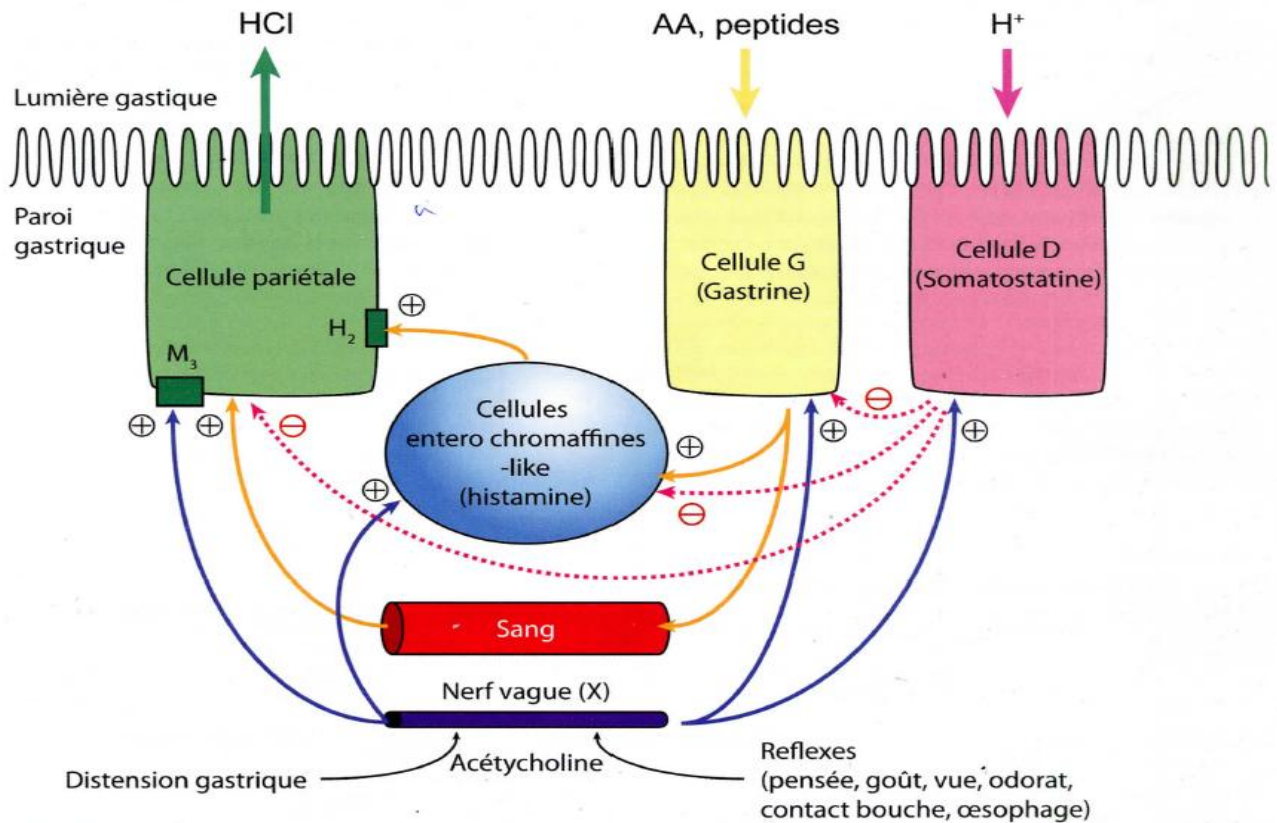


Figure 4: Le contrôle de la sécrétion acide.

Chapitre II

Matériel et méthodes

II. Matériel expérimental

II.1 Echantillonnage

Les prélèvements ont été effectués sur plusieurs types de miel (4 échantillons). Provenant de différentes régions de la wilaya de Bejaia (Boukhiana, Aokas, Derguina et Toudja). Ces échantillons se différencient entre eux par la couleur et aussi sur la composition florale de la région de récolte.

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

II.2 Extraction des antioxydants

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

Une prise d'essai du miel (1g) est mise en contact avec 7ml de solvant d'extraction. Après une agitation à l'aide d'un vortex à l'obscurité. L'extrait est conservé dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

II.3 Dosage des antioxydants

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par **Kechar et Hallel (2016)**.

Un volume de 250 μ l d'extrait est additionné à 750 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois), auquel un volume de 750 μ l de carbonate de sodium (60g/l) est ajouté après cinq minutes. L'ensemble est incubé à l'abri de la lumière pendant 90mn, l'absorbance est mesurée à 725nm.

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

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des échantillons du miel étudiés est évaluée selon la méthode décrite par **Miguel *et al.*, (2016)** modifiée par **El-Haskoury *et al.*, (2017)**.

Pour 750µl d'extrait sont ajoutées 750µl de chlorure d'aluminium (2%) après une heure d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 420nm.

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

II.3.3 Dosage des anthocyanines

La teneur en anthocyanine est déterminée selon la méthode décrite par **Lako et al., (2007)**, légèrement modifiée en utilisant les tampons de chlorure (pH=1 ; 0.25M) et d'acétate (pH=4.5 ; 0.4M).

Une quantité de miel 2g est mélangée avec 10ml d'eau distillée, légèrement acidifiée avec l'acide chlorhydrique (0.1N).

Deux tubes à essai, contenant chacun 1ml d'extrait, sont ajoutés 2ml de tampon (pH=1.0) pour le premier et 2ml tampon (pH=4.5) pour le deuxième tube, et l'absorbance est mesurée à 510nm et à 700nm pour chacun.

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

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

Avec:

Abs= (Abs₅₁₀-Abs₇₀₀) pH₁-(Abs₅₁₀-Abs₇₀₀) pH_{4.5}. L: trajet optique (nm)

FD: facteur de dilution. P: masse de l'échantillon (mg).

V : Volume final de l'extrait.

MM : poids moléculaire de cyanidines-3-glucoside (449,2g/mol)

ε : Coefficient d'absorbance moléculaire de la cyanidines-3-glucoside(26900).

II.3.4 Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes des échantillons du miel étudié est déterminée selon la méthode décrite par **Zamora et al., (2005)**, qui consiste à extraire les caroténoïdes, à l'abri de la lumière, en homogénéisant 2g du miel avec 15ml d'un mélange de solvants (hexane, acétone, méthanol : 5 :5 :5) pendant 15min.

Deux millilitres de KOH (1M) sont additionnés au mélange qui sera gardé à l'abri de la lumière pendant 16heure. Ensuite, sont ajoutés respectivement, 10ml d'hexane et après 5 minutes, 10ml d'une solution de sulfate de sodium (1%). Le mélange laissé à décanter, à

l'abri de la lumière, pendant une heure et la phase supérieure qui représente l'extrait caroténoïde est récupéré.

L'absorbance des extraits est mesurée à 450nm et la concentration en caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant le β -carotène.

II.3.5 Dosage de l'acide ascorbique (vitamine C)

La teneur en acide ascorbique des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode de **Klein et Perry (1982)**, légèrement modifiée ou le solvant d'extraction l'acide métaphosphorique (1%) est remplacé par l'acide oxalique (0.4%).

Une quantité de miel (2g) est mélangée avec 10ml de solvant d'extraction, et l'ensemble est agité pendant quelques minutes à l'abri de lumière et d'air.

Pour 250 μ l de filtrat, sont ajoutés 1.25ml du réactif 2.6 dichlorophenol-indophénol (DCPIP), qui permet d'oxyder la vitamine C en milieu acide. La solution de DCPIP, de couleur bleue, devient rose après réduction (**Ball, 1997**) et l'absorbance est mesurée à 515nm.

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

II.4 Détermination de l'activité antioxydante

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

II.4.1 Pouvoir réducteur

➤ Réduction du chlorure ferrique

La réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par **Xue et al., (2017)**.

Pour 500 μ l d'extrait sont ajouté 500 μ l de tampon phosphate (0,2M ; pH=6,6) et 1,25ml de ferrocyanure de potassium (1%). Après incubation à 50° pendant 30min dans un bain

marie, 750µl trichloracétique (10%) sont ajoutés, et le mélange est centrifugé à 3000g pendant 20min.

En suite, 750µl du surnagent sont additionnés de 750µl d'eau distillée et 250µl de chlorure ferrique (0,1N), l'absorbance est mesurée après 10min à 700nm.

II.4.2 Neutralisation des radicaux libres

➤ Inhibition du radicale DPPH*

Le pouvoir antiradicalaire, par la neutralisation du radical DPPH*, des échantillons du miel étudiés est évaluée selon la méthode décrite par **Xie *et al.*, (2015)**, légèrement modifiée par **Zhou *et al.* (2016)**.

Pour 100µl d'extrait, 1.2ml de DPPH (0,06mg/ml) sont ajoutées. Après une incubation à l'abri de la lumière pendant 30min, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Le pouvoir antiradicalaire vis-à-vis le DPPH* est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical, selon la formule suivante :

$$PI\% = \left[\frac{(AbsT - AbsEch)}{AbsT} \right] * 100$$

D'où :

Abs_T : Absorbance du témoin à 517nm après 30min.

Abs_{Ech} : Absorbance de l'extrait à 517nm après 30min.

II.5 Evaluation de l'activité gastroprotectrice

II.5.1 Matériel animal

Pour mener notre étude, des souris mâles *Swiss albinos* de type NMRI, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, dont le poids corporel varie entre 20 et 25g, ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-ulcère du miel. Les souris ont été gardées au niveau de l'animalerie de l'université A. Mira de Bejaia.



Figure 5: Photographie originale des souris albinos.

Les souris ont été élevées dans des cages spéciales et la salle est maintenue à une température ambiante comprise entre (25-27°), et un cycle de lumière de 12h par jours. Avec un accès libre à une alimentation de type bouchon et à l'eau du robinet.

L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de génétique de l'université de Bejaia.



Figure 6: Photographie originale d'élevage des souris au sein de l'animalerie.

❖ Etude de l'activité anti-ulcère

L'activité anti-ulcère du miel a été testée sur l'ulcère expérimental induit par l'indométacine, selon le protocole de **Djahanguiri (1969)**.

Les souris ont été réparties de manière aléatoire en 6 lots (n=5), et ont été privées de nourriture 18 heures précédant chaque expérimentation dans le but de vider l'estomac des souris.

Ces derniers ont été pesés et marqués avant l'administration des traitements par voie intra-gastrique, l'eau administrée est retirée, une heure avant le gavage.

Ainsi les souris sont divisées en six groupes différents selon le type de traitement (le miel reçu) administré.

- **Groupe témoin** : ayant reçu que l'eau physiologique.
- **Groupe ulcéreux** : a reçu de l'eau physiologique (NaCl 0,9%) et de l'indométacine.
- **Groupes G1, G2, G3 et G4** : ont reçu les différents miels et l'indométacine à 25mg/10ml/kg.
- **Groupe traité** : ayant reçu le Misoprostol (200µg) et l'indométacine à 25mg/10ml/kg.



Figure 7: Photographie originale de gavage des souris avec différents traitements.

Une heure après le gavage, la solution est administrée aux groupes. Quatre heures après l'administration, la dissection est réalisée. L'observation macroscopique sous la loupe binoculaire. Les estomacs est photographie par un appareil photo pour évaluer les surfaces lésées et totales (figure 8).

Les souris ont été sacrifiées 4 heures suivant l'administration de l'indométacine par dislocation cervicale sous anesthésie au chloroforme. Les estomacs ont été prélevés suite à une dissection ventro-médiane, ces derniers ont été incisés selon la grande courbure, lavés avec une solution saline puis étalés sur une lame en verre.

Des souris albinos sont élevées du miel afin de tester l'effet protecteur suite à un ulcère gastrique induit par l'indométacine.



Figure 8: Les différentes étapes du sacrifice des souris (photographie originale).

❖ Broyage des estomacs

Le broyage de l'estomac s'effectue avec l'ajout de tampon phosphate 7,4, puis homogénéisées à l'aide d'un homogénéisateur électrique (Heidolph : Silent Crusher S). L'homogénat a été réparti dans des tubes, puis centrifugé à 1000g pendant 10min à 4°C.

Les surnageants ont été récupérés puis conservés à -80°C dans des eppendorfs jusqu'à l'utilisation.

II.5.2 Evaluation de l'activité anti-ulcère

Les photos d'échantillons d'estomacs ont été prises et enregistrées sur ordinateur pour être analysés par la suite.

L'évaluation des surfaces lésées et des surfaces totales est réalisée par l'utilisation du logiciel image J, ceci permet d'évaluer l'action inhibitrice de miel sur l'ulcère provoqué par l'indométacine chez les souris.

Les résultats obtenus nous ont permis de calculer deux paramètres différents :

Le pourcentage d'ulcération a été calculé par la formule suivante :

$$\text{➤ \% d'ulcération} = (\text{surface totale des lésions} / \text{surface totale de l'estomac}) * 100.$$

Le pourcentage de protection ou d'inhibition de l'ulcère a été calculé par la formule suivante :

$$\text{➤ \% d'inhibition} = ((USc - USt) / USs) * 100$$

USc : Surface ulcérée du contrôle.

USt : surface ulcérée du test.

❖ Détermination du taux des MDA (malondialdéhydes)

Le taux de lipides peroxydés dans les homogénats d'estomac a été déterminé selon la méthode d'Ohkawa *et al.*, (1979), avec quelques modifications.

Principe

Le malondialdéhyde (MDA) est un indicateur du stress oxydant dans les cellules et les tissus, résulte de la peroxydation d'acide gras polyinsaturé. La réaction de l'acide thiobabaturique (TBA) avec le MDA est la méthode la plus utilisée pour leur dosage. Dans un milieu acide et à haute température (90-100°C) chaque molécule de MDA réagit avec 2

molécules de TBA avec formation d'un complexe rose, qui peut être extrait dans des solvants organiques exemple : butanol et l'absorbance est mesuré à 532nm (**Jetawattana, 2005**).

Dans des tubes 0,1ml de l'homogénat ont été additionnés de SDS (8,1%) et un mélange d'acide acétique (20%) et TBA (1%), 0,75ml d'acide acétique, dont le pH a été ajusté à 3,5 par une solution de NaOH (2M), puis un volume d'eau distillée a été ajouté pour avoir un volume finale de 2ml. Le blanc a été préparé suivant le même protocole mais sans homogénat.

Les tubes ont été aussi tôt fermés puis légèrement agités, et ensuite mis dans un bain marie à 95°C sous une constante agitation pendant 60min. Dès leur sortie du baign marie, les tubes ont été immédiatement placés dans un bain d'eau froide afin d'arrêter la réaction. Après refroidissement, un mélange de n-butanol et pyridine (15/1 : v/v) et d'eau distillée ont été ajoutés, et les tubes ont été énergiquement agités pendant une minute environ, puis centrifugés à une vitesse de 4000g pendant 10min.

L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm. La conversion de l'absorbance mesurée en équivalent de MDA (nmol/mg de tissu) est obtenue en utilisant la courbe en utilisant le TEP (1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane) comme standard.

Le taux des MDA, exprimée en équivalent de MDA (nmol/mg de tissu), est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant le TEP (1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane) comme standard.

II.6 Analyse statistiques

Les paramètres de la statistique descriptive sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. La majorité des données obtenues sont la moyenne de 3 essais à l'exception des anthocyanines, (1 essai). Le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification entre les différents échantillons du miel. Les corrélations entre les paramètres étudiées sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation. Les résultats sont classés par ordre décroissant a>b>c>d>.

Les valeurs obtenues, portant la même lettre, ne présentent aucune différence du point de vue statistique et les barres verticales représentent les écarts types. Les différences ont été considérées comme signification à $p < 0,05$.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultat et discussion

III.1 Dosage des antioxydants

III.1.1 Composés phénolique totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique du réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 725 nm (Ribéaux-Gayon, 1968). La spectrophotométrie permet de quantifier le taux des polyphénols dans les quatre échantillons de miel.

Les teneurs en polyphénols totaux des miels étudiés, exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique/100g (mg E.A.G/100g) d'échantillon en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n°9.

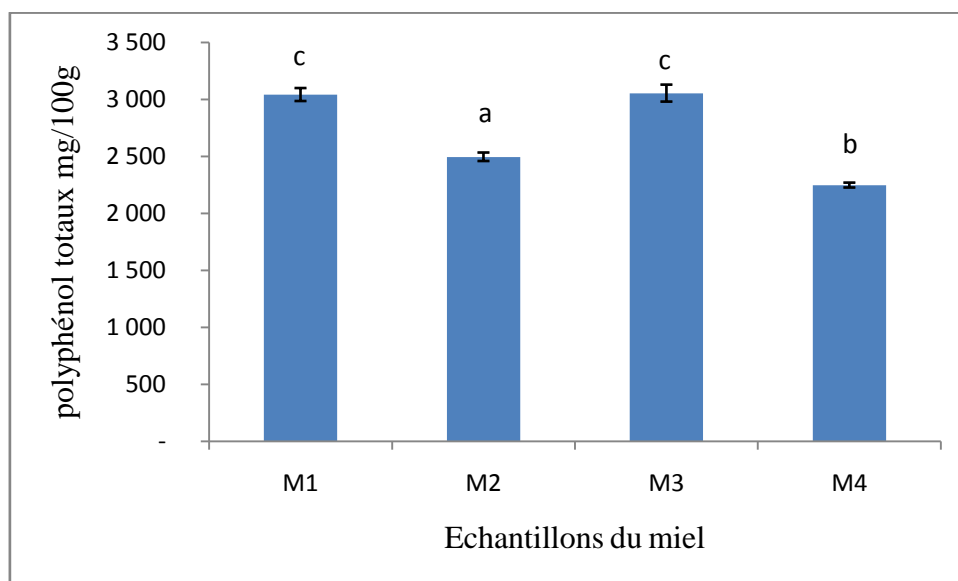


Figure 9: Teneurs en composés phénoliques totaux des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

D'après les résultats obtenus, les polyphénols sont présents dans les quatre échantillons avec des teneurs variables d'un échantillon à un autre, en fonction des régions.

Dans notre étude, les teneurs en polyphénols totaux des miels varient entre 2246,45 et 3053,19 mg EAG/100g. L'échantillon de miel de Toudja (M4) enregistre une teneur faible par rapport aux autres miels, tandis que le miel de Derguina (M3) enregistre la valeur la plus élevée (3053,19mgEAG/100g) du miel.

D'après une analyse statistique on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en polyphénols totaux des quatre échantillons du miel étudiés, à l'exception des échantillons M1 et M3 qui ne présentent aucune différence significative entre eux.

Ces variations peuvent être attribuées à L'origine botanique, Année de récolte et la ruche environnementale (**Blasa et al., (2006)**).

Ces résultats rentrent dans l'intervalle de valeurs rapportés par **Bertoncelj et al., (2007)** sur l'échantillon malaisien 448 à 2414 (mg EAG/100g), et supérieurs de ceux de **Al-Mamary et al., (2002)** qui est de 75,13 à 246,21mg EAG/100g du miel.

Plusieurs auteurs ont rapportés une teneur en polyphénols totaux des miels étudiés respectivement de 11,79 à 84,31, 15,84 à 61,63 et 16,5 à 133,3 mg EAG/100g (**Anjos et al., (2015)** ; **Mouhoubi et al., 2016** ; **Attanzio et al., 2016**). Ces résultats sont inférieurs à la teneur obtenue dans le présent travail.

D'après **Blasa (2006)**, les miels foncés sont plus riche en composés phénoliques que les miels clairs, ceci est confirmé par notre étude: l'échantillon de Toudja de couleur jaune clair a une faible teneur en polyphénols totaux, par rapport à l'échantillon de Derguina qui est de couleur plus foncé (marron foncé), riche en composés phénoliques.

Selon **Moniruzzaman et al., (2013)**, l'origine botanique du miel est la cause des variations de l'activité antioxydante, et les espèces du miel provenant de différentes sources florales possèdent de fortes activités antioxydant (**Daukani et al., 2014**).

La différence entre les différents miels est due à l'origine florale et géographique (**Flores et al. 2015**).

III.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la classe la plus abondante des polyphénols dans la nature (**Karunakaran et Kumaran, 2007**). Le principe de leur dosage repose sur la propriété de ses composés à chélater les ions aluminium (**Berset, 2006**).

Les teneurs en flavonoïdes des miels étudiés, exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine/100g (mg EQ/100g) d'échantillon en se référant à une courbe d'étalonnage, sont représentées dans la figure n°10.

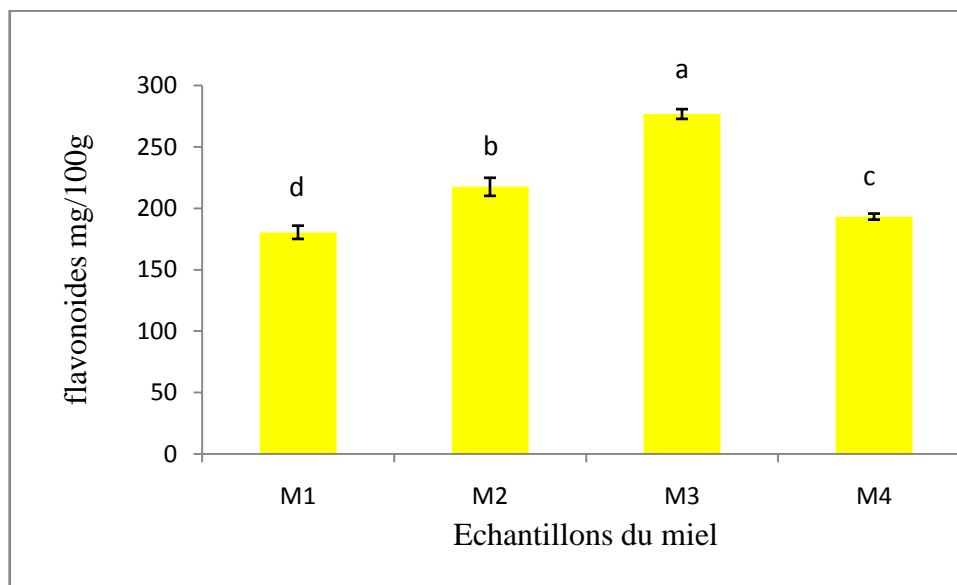


Figure 10: Teneurs en flavonoïdes des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

Les résultats obtenus signalent que la concentration en flavonoïdes enregistrée dans les miels varie considérablement de 180,49 à 276,8 mg EQ / 100g de miel.

La teneur la plus élevée est notée pour l'échantillon M3 (276,8 mg EQ/g du miel) suivie de celle des autres échantillons M2, M4 respectivement (217,51 et 217,51 mg EQ/g d'extrait), tandis que l'échantillon M1 a la plus faible teneur en flavonoïdes (180,49 mg EQ/100g du miel).

Après une étude statistique on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en flavonoïdes des quatre échantillons du miel étudiés.

Selon **Mouhoubi et al., (2016)**, la variation de la teneur en flavonoïdes dépend de la source, de la région, de la saison et du lieu de collecte.

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus à partir d'une étude menée par **Habib et al., (2014)** (12,76 à 109,49 mg/100g sur les miels orientaux, **Allegra et al., (2016)** (4 à 82 mg d'E.Q/100g) et **Mouhoubi et al., (2016)** (2,07 à 10,15).

Ouchemoukh *et al.*, (2016) ; Bakri *et al.*, (2017), ont rapportés une teneur en flavonoïdes des miels étudiés respectivement de (0,3 à 36), (19 à 43) mg EAG/100g. Ces résultats sont inférieurs à la teneur obtenue dans le présent travail.

III.1.3 Anthocyanine

Les teneurs en anthocyanines des miels étudiés, exprimées en microgramme d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100g d'échantillon (μ E.C.G/100g) sont représentées dans la figure n°11.

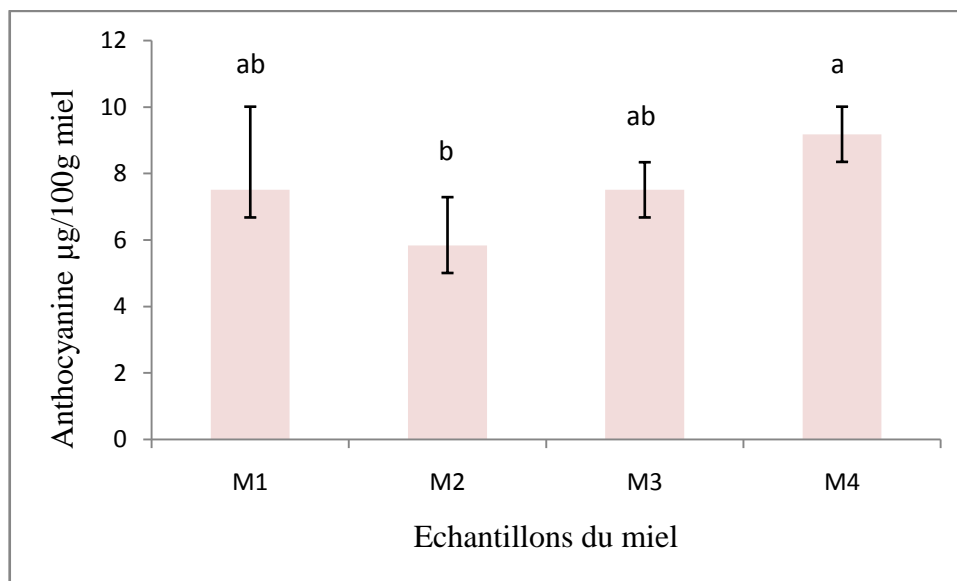


Figure 11: Teneurs en anthocyanines des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

Nos échantillons d'étude présentent des teneurs en anthocyanine variant entre 5,84 et 9,18 microgramme d'équivalent cyanidines-3-glucoside/100g d'échantillon. Le miel d'Aokas (M2) contient une teneur faible en anthocyanines (5,84 μ g d'E.Cy,3,Glu/100g) du miel, suivi des miels de M1 et M3 même teneur (7,5 μ g/100g) et M4 (9,18 μ g/100g). Présente la teneur la plus élevée.

Après une étude statistique on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en anthocyanines des quatre miels étudiés. Cependant aucune différence significative entre les teneurs en anthocyanines des miels M1 et M3.

III.1.4 Caroténoïdes

Les teneurs en anthocyanines des miels étudiés, exprimées en microgramme d'équivalent cyanidines-3-glucoside par 100g d'échantillon (mg E.β.C/100g) sont représentées dans la figure n° 12.

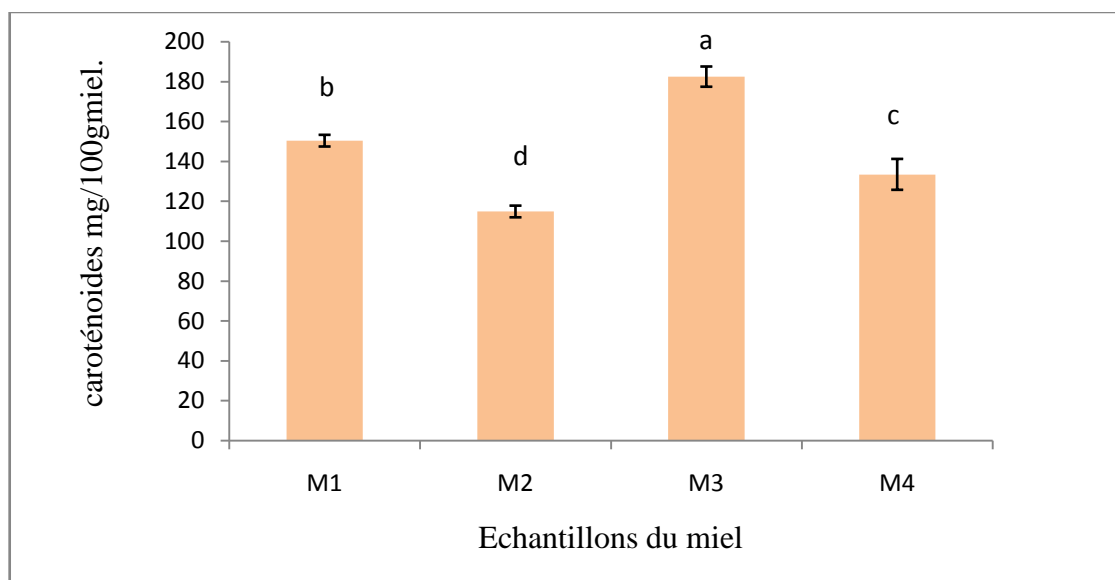


Figure 12: Teneurs en caroténoïdes des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

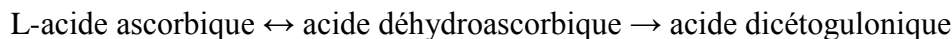
La teneur en caroténoïdes des miels analysées est comprise entre 114,86 à 182,43 mg/100 g. Le miel M3 a la teneur la plus élevée en caroténoïdes (182,43 mg EβC/100 g), suivie respectivement par les échantillons du miel M1 (150,34g), M4 (133,45g). L'échantillon M2 a le taux le plus faible.

Après une analyse statistique on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en caroténoïde des quatre échantillons du miel étudiés.

Ces résultats sont nettement supérieurs de ceux obtenus par **Mouhoubi et al., (2016)** (0,3 à 1,01) et **Aires et al., (2009)** qui est de l'ordre $932 \pm 1 \mu\text{g}/100\text{g}$, $950 \mu\text{g}/100\text{g}$ du miel, respectivement.

III.1.5 Acide ascorbique

Le L-AA (L-acide ascorbique) est oxydé (réaction réversible) en acide déhydroascorbique, puis en acide dicétogulonique (ADCG) (réaction réversible) selon la réaction :



La vitamine C qui est de couleur bleu sous sa forme oxydé devient rose après sa réduction par le réactif DCPIP (Ball, 1997).

Les teneurs en acide ascorbique obtenus, exprimé en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique (mg E. A. ASC)/100g du miel en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, sont représentées dans la figure n°13.

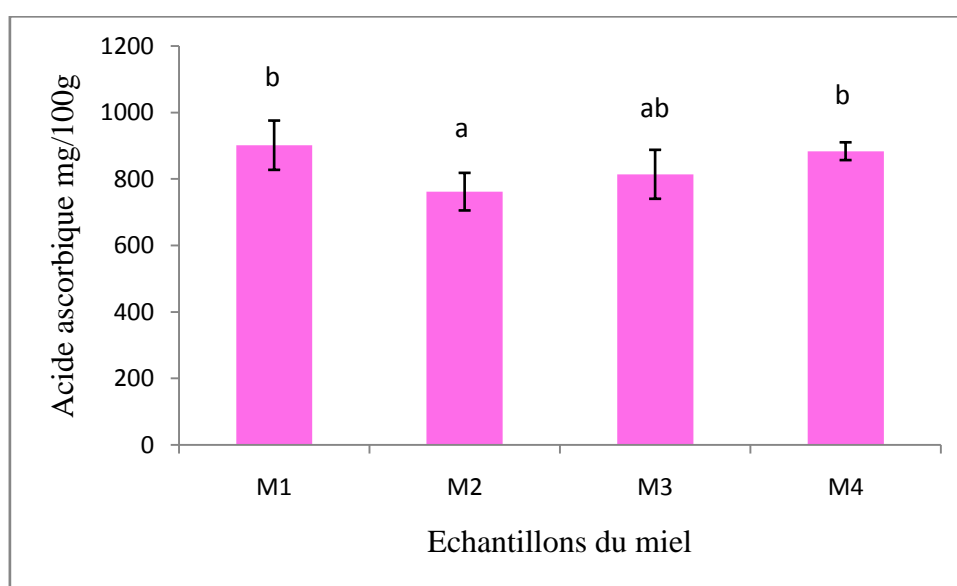


Figure 13: Teneurs en acide ascorbique des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

Le taux de la vitamine C des miels étudiés est compris entre 761,84 à 901,49 mg d'EA Ascorbique/100g de miel. Le miel M2 est considéré comme le plus pauvre en acide ascorbique, tandis que le M1 est considéré comme le plus riche en acide ascorbique.

Après une analyse statistique on constate qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les taux en acide ascorbique des quatre échantillons du miel étudiés, à l'exception des échantillons M1 et M4 qui ne représentent aucune différence significative entre eux.

Ces résultats sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Ferreira *et al.*, (2009)** qui est de 14,001 et **Mouhoubi *et al.*, (2016)** (0,39 à 3,37) mg E.A.ASC /100g d'échantillon.

III.2 Activités antioxydante

L'activité antioxydant a été évaluée in vitro par deux méthodes différentes : la méthode de réduction de chlorure ferrique et la méthode de réduction de radical libre DPPH.

III.2.1 Réduction de chlorure ferrique

C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide et facile à exécuter. Cette méthode est basée sur la capacité des composés phénoliques à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} (**Manohar *et al.*, (2017)**).

Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des échantillons des miels étudiés, sont représentés dans la figure n°14.

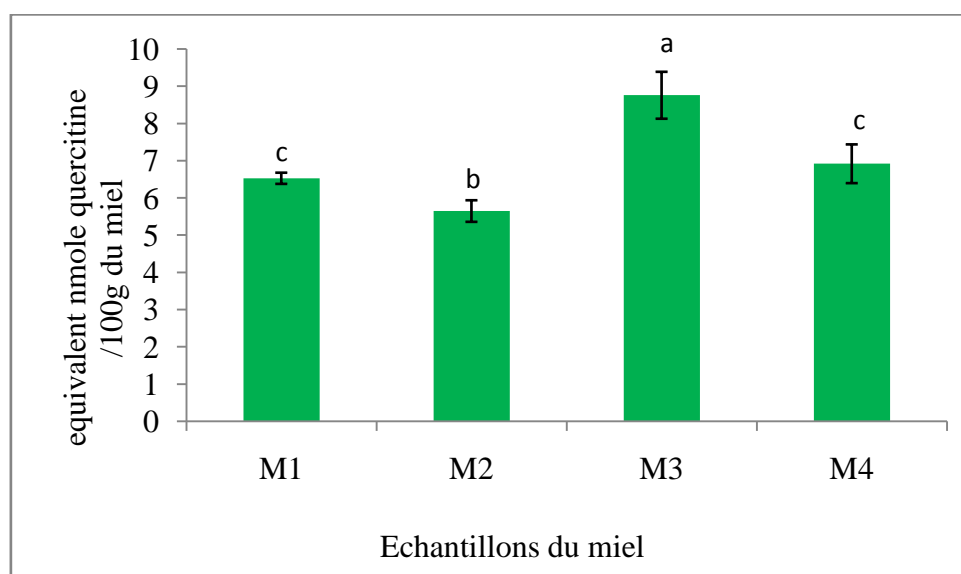


Figure 14: Pouvoir réducteur en $FeCl_3$ des échantillons étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir réducteur des échantillons étudiés varie considérablement de 5,65 à 8,7 d'équivalent nanomole/100g de miel, dont le miel M3 (Derguina) présente le meilleur pouvoir réducteur qui est de 8,76 d'équivalent

nanomole/100g de miel suivie respectivement par les M4 (6,92) et M1 (6,53). Alors que M2 (Aokas) présente le plus faible pouvoir réducteur (5,65 d'équivalent nanomole/100g de miel).

L'analyse statistique signale l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage de réduction de FeCl_3 avec les taux en composés phénoliques avec un coefficient de corrélation de ($r=0,8879$).

La qualité et la quantité des composés phénoliques sont les deux responsables de la variation de l'activité antioxydante (Beretta *et al.*, 2005 ; Blasa *et al.*, 2007).

III.2.2 Pouvoir anti-radicalaire DPPH*

Le DPPH* est un radical de couleur violette intense (Bakri *et al.*, 2017). La disparition de la couleur violette et apparition de la couleur jaunâtre est due à la réduction de la forme radicalaire de DPPH* à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présent dans l'échantillon selon la réaction suivante :



Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des échantillons des miels étudiés, sont représentés dans la figure n°15.

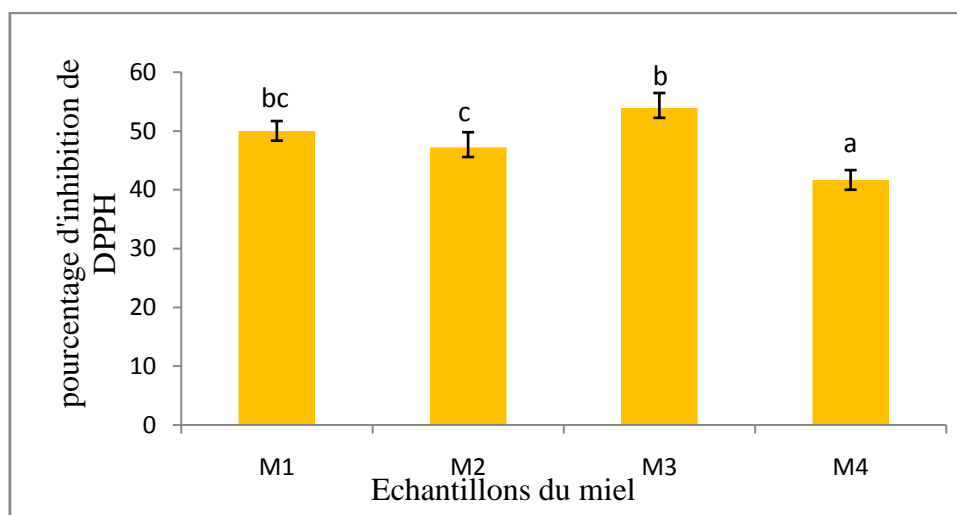


Figure 15: Pouvoir anti-radicalaire vis-vis DPPH* des miels étudiés.

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les barres verticales représentent les écart-types.

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

Le présent travail révèle que les quatre échantillons du miel présentent une activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH allant de 37,22 % pour le M1 à 53,88% pour le M3.

L'analyse statistique signale l'existence d'une bonne corrélation entre le pourcentage d'inhibition de radical de DPPH*avec les teneurs en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de ($r=0,8384$).

Les miels sombres ont tendance d'être actif dans la réaction avec DPPH (Aleksandra, 2010).

III.3 Evaluation de l'activité gastroprotectrice

III.3.1 Les Observations macroscopiques

Les résultats de l'observation microscopique des estomacs des lots de souris normale et de lots de souris ulcéreux par l'indométacine sont illustrés dans la figure 16.

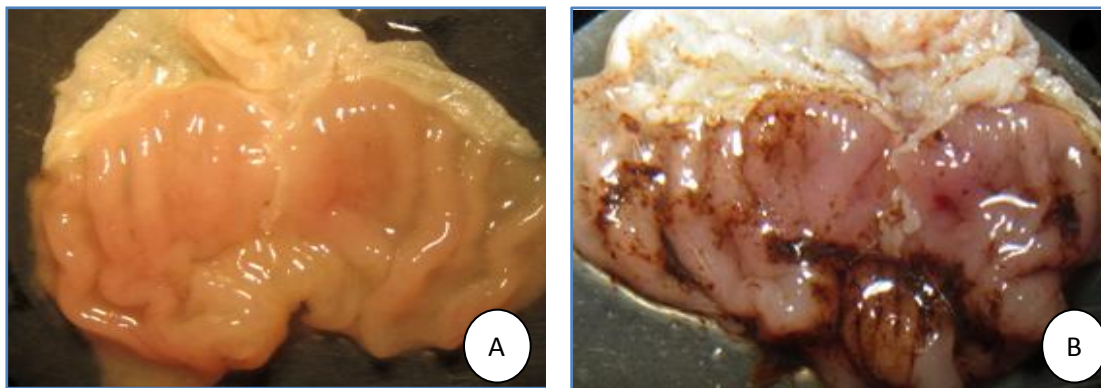


Figure 16: Photographie originale des estomacs ;

A : estomac de souris de lot normal ; B :estomac de souris de lot ulcéreux par l'indométacine.

L'observation microscopique montre l'apparition des lésions gastriques au niveau de la partie muqueuse de l'estomac, chez les souris ayant reçu l'indométacine, qui se manifeste par des ulcérations, rougeurs, œdèmes, hémorragies, érosions et des perforations.

Par contre aucune des lésions décrites précédemment apparaissent chez les souris normales.

Les résultats de l'observation microscopique des estomacs des lots de souris ulcéreux traités et le non traités par le miel sont illustrés dans la figure 17.

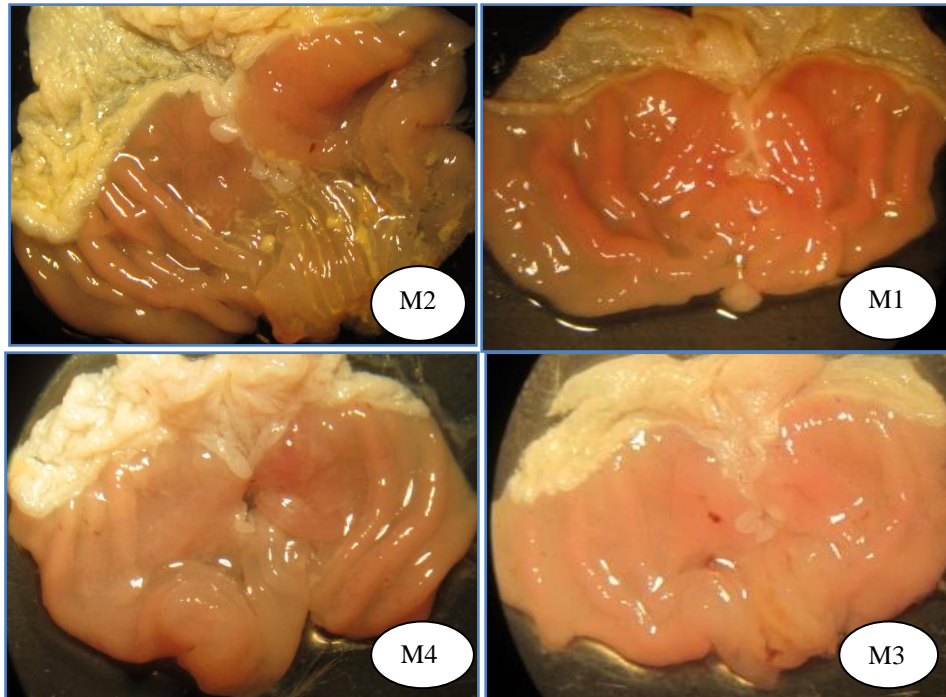


Figure17: Photographie originale des estomacs

M2) estomac traité par le miel M2 ; M1) estomac traité par le miel M1; M4) estomac traité par le miel M4 ; M3) estomac traité par le miel M3

Les estomacs des groupes des souris ulcéreux traités par les miels, ont exhibé une protection et une nette réduction des lésions gastriques vis-à-vis des dommages induits par l'indométacine par rapport au lot ulcéreux (figure 17).

Le degré d'ulcérations observées chez les souris ulcéreuses est efficacement réduit chez les souris ayant reçu le misoprostol (figure18).

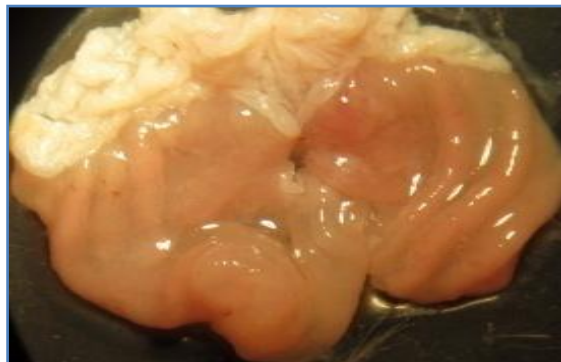


Figure 18: Photographie originale d'un estomac de souris ulcéreuse traitée avec le Misoprostol.

III.3.2 Evaluation du degré d'ulcération et d'inhibition par le calcul des surfaces.

Le logiciel image J permis d'évaluer l'effet gastroprotecteur de miel contre des lésions induites par l'indométacine.

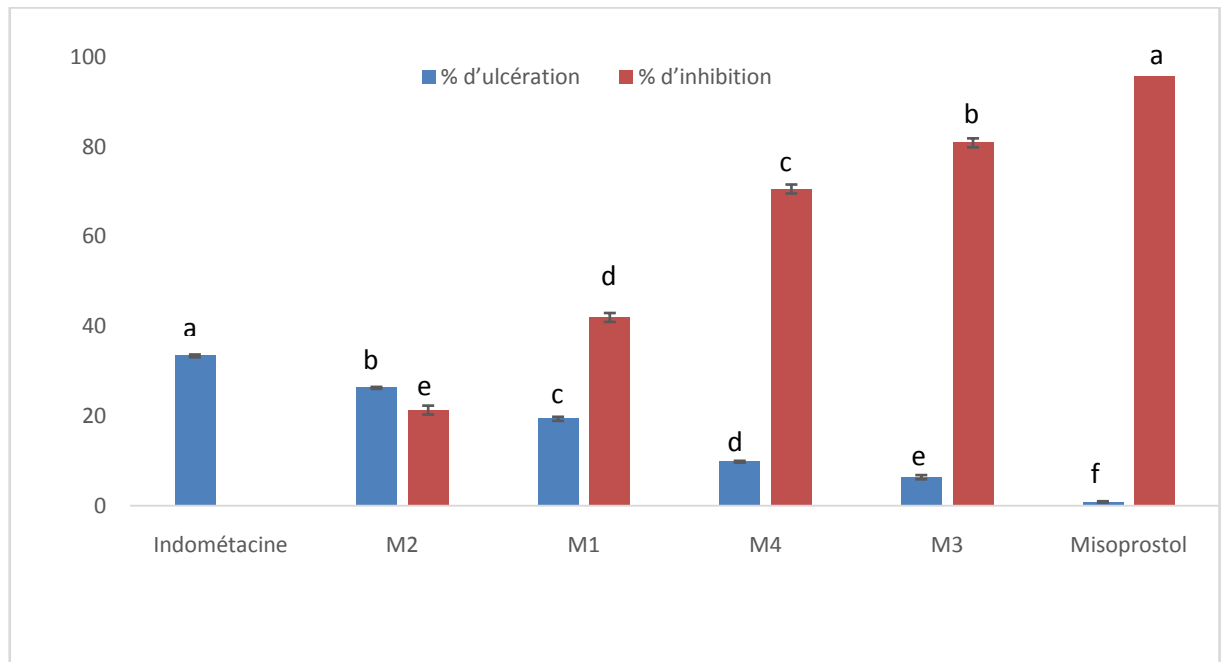


Figure 19: Représentation en histogramme de l'effet du Misoprostol et de miel sur l'ulcère induit par l'indométacine chez les souris. Misoprostol : test avec le misoprostol 200 μ g/kg; M2 test 25 mg/kg; M1 test 50mg/kg; M4 test 100mg/kg; M3 test 200mg/kg.

Le pourcentage d'ulcération maximal trouvé au niveau des souris ulcérées par l'indométacine est de 33,42.

Une réduction très hautement significative ($***p < 0,001$) des surfaces lésées, chez le groupe contrôle Misoprostol avec un pourcentage d'ulcération de 0,86 ce qui reflète un pourcentage d'inhibition de 97,42.

Les souris traitées avec les différents miels présentent une différence très hautement significative ($***p < 0,001$) avec les groupes des souris ulcérées par l'indométacine. Les pourcentages d'ulcération sont comme suit pour M2, M1, M4 et M3: 26,29, 19,39, 9,82 et 6,38. Un pourcentage d'inhibition est observé également pour le groupe G1, G2, G3 et G4 comme suit : 21,33, 41,98, 70,61, 80,90.

Les observations macroscopiques ont montré la présence des signes d'ulcération au niveau des groupes traités par l'indométacine tel que des hémorragies, des rougeurs, des pétéchies que l'on ne retrouve pas au niveau des estomacs sains traités préalablement par le miel à différentes concentrations ainsi que par le misoprostol (médicament de référence). Les ulcérations observées sont caractéristiques de lésion induites par l'indométacine et cela est en accord avec les observations apportées par différentes études (**Silva et al., 2008 ; Martins et al., 2014**).

Des pourcentages d'inhibition de l'ulcère 21,33 ; 41,98 ; 70,61 ; 80,90 % ont été exhibés par les miels M2, M1, M4 et M3 respectivement. L'effet enregistré par les miels était comparable à celui révélé par le standard ($p < 0,05$).

D'après les résultats obtenus, le miel a significativement réduit le pourcentage. Ce qui confirme que le miel a un effet protecteur sur la muqueuse gastrique contre l'indométacine.

D'après **Alagwu et al., 2013**, l'acide arachidonique est considéré comme un précurseur de la synthèse de la prostaglandine au niveau de miel. Ceci permis la stimulation du mucus et la sécrétion du bicarbonate. Suite aux analyse phytochimique, le miel contient des antioxydants exemple les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes capables de détruire les radicaux libres causant des dommages et des lésions et provoquant ainsi un effet anti-inflammatoire.

III.3.3 Evaluation des effets de miel sur les taux gastriques de MDA

Les taux de MDA ont été mesurés et les résultats sont représentés dans la figure 20.

L'analyse statistique des résultats obtenus a révélé une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de MDA chez le groupe indométacine (282,48nmol/mg du tissu). Alors que chez les groupes traités par le miel et le misoprostol à 200 μ g/kg, il a constaté une réduction significative ($p < 0,001$) du taux du MDA (93,10 ; 73,35 ; 58,53 et 51,92 nmol/mg de tissu, respectivement) par apport aux souris de groupe indométacine.

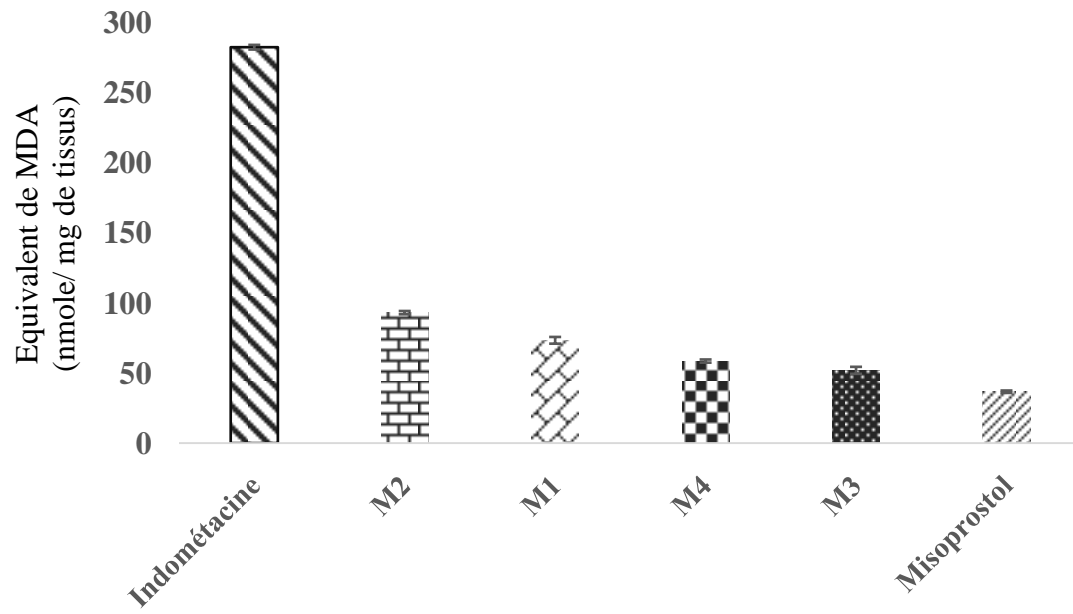


Figure 20: Les valeurs des niveaux de MDA gstriques (nmol MDA/mg du tissu) chez les groupes expérimentaux.

Conclusion

Conclusion

La santé humaine est mise en danger par de nombreuses maladies, ce qui a mené à la recherche de produits naturels riches en antioxydants réduisant ainsi le risque lié à ses pathologies.

De nombreux auteurs ont démontrés que le miel est une source d'antioxydant naturelle, qui est efficace pour réduire le risque de certaines affections et les différents processus inflammatoires.

Le présent travail est consacré à étudier l'effet gastro-protecteur de quelques échantillons de miel récoltés dans la région de Bejaia. En se basant sur les différents paramètres phytochimiques et l'activité antioxydante du miel.

L'analyse des résultats a permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'activité antioxydante de miel dépend des quantités de polyphénols et de flavonoïdes.
- Existence d'une bonne corrélation entre la teneur en caroténoïde et le pouvoir réducteur, les polyphénols et le DPPH.

Les observations macroscopiques ont démontré la présence au niveau des groupes ulcéreux par l'indométacine des hémorragies, des rougeurs, des pétéchies tous étant signes d'ulcération, qui diminuent au niveau des estomacs de lots traités préalablement par les différents échantillons du miel, ainsi que par le médicament de Misoprostol. Les ulcérations observées sont caractéristiques de lésions induites par l'indométacine.

Les résultats de cette étude ont montré que l'administration intra-gastrique de miel exerce un effet protecteur contre le pouvoir ulcérogène de l'indométacine au niveau de la muqueuse gastrique, en effet il a été observé que le miel a réduit significativement les lésions induites par l'indométacine.

En terme de perspective et à fin de compléter et d'approfondir la présente étude, il serait intéressant :

- D'approfondir les recherches sur les différents types de miel, leur propriété antioxydante, et leur effet positif sur la santé du consommateur.
- De réaliser le dosage de différents antioxydants en utilisant d'autres méthodes telles que HPLC.

- Connaitre le mécanisme d'action exacte des principes actifs impliqués dans le pouvoir gastro-protecteur.

Référence
Bibliographique

A

- ❖ **Aguilar K.A., Garvín A., Ibarz P.E.D., Augusto.** (2017). Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication, *Ultrasonics Sono chemistry*.
- ❖ **Ahn M.R., Kumazawa S., Usui Y., Nakamura J., Matsuka M., Zhu F., Nakayama T.** (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*. 101, 1383–1392.
- ❖ **Al M.L., Daniel D., Moise A., Bobis O., Laslo L., & Bogdanov S.** (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112, 863-867.
- ❖ **Aleksandra W.** (2010). Phenol content and antioxidant activity of different types of polish honey- a short report. *Polish journal of food and nutrition science*. Vol. 60, No.4, pp.309-313.
- ❖ **Al-Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M. et Shahibi F.** (2005). Comparaison of Antioxidant Activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sundried date (*Phoenixdactylifera L*) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.53: 7592-7599.
- ❖ **Al-Mamary M., Al –Meeri A., and Al-Habori M.** (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*; 22 (9):1041-1047.
- ❖ **Andrzej Tarnawski., Jerzy Stachura., William J. Krause., Thomas G. Douglass., Hella Gergely.**(1991).Quality of Gastric Ulcer Healing: A New, Emerging Concept; *J Clin. Gastroenterol.* New York S42.
- ❖ **Anjos O., Iglesias C., Peres F., Martinez J., Garcia A., Taboada J.** (2015). Neural networks applied to discriminate botanical origin of honeys. *Food Chemistry* 175 (2015) 128–136.
- ❖ **Attanzio A., Tesoriere L., Allegra M., Livrea A. M.** (2016). Monofloral honeys by Sicilian black honeybee (*Apis mellifera ssp. sicula*) have high reducing power and antioxidant capacity.

B

- ❖ **Bado A. et Sobhani I.** (2011). Physiologie de la sécrétion gastrique .*Gastro-entérologie* 1-14
- ❖ **Ball G.F.** (1997). Vitamin C. In bioavailability and analyse of vitamins in foods. Ed. Jones Barleth.515-563.

- ❖ **Ballot Flurin C.** (2009). Miels et gelée royale : leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. Experte en préparation d'apithérapie, apicultrice Causerets. *Phytothérapie* 87–90.
- ❖ **Belon J.P., Lacour B.** (2015). Physiologie du système digestif. *Édition ELSEVIER MASSON*, 229-235.
- ❖ **Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioloi M. and Facino R.M.** (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica*. 533: 185-191.
- ❖ **Berset C.** (2006). Antioxydants phénoliques : structure, propriétés, sources végétales. In *Les polyphénols en agroalimentaire*. CHEYNIER V., SARNI-MANCHADO P. Lavoisier, Tec et DOC., Paris, pp. 265-289.
- ❖ **Bertoncelj J., Dobersek U., Jamnik M., and Golob T.** (2007). Evaluation of the phenolic content, Antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food chem*; 105:822-828.
- ❖ **Blasa M., Candiracci M., Accorsi A., Piacentini M.P.** (2006). Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem*. 97, 217–222.
- ❖ **Bontempo L., Camin F., Ziller L., Perini M., Nicolini G., Larcher R.** (2015). Isotopic and elemental composition of selected types of Italian honey.
- ❖ **Bougdanov S., Bieri K., Kilchenmann V., Gallman P., Dillier F. X.** (2007). Les procréons à l'œuvre dans la production du miel de forêt. Centre suisse de recherche apicoles Station de recherche AgroscopeLiebefeld-Posieux ALP.
- ❖ **Boussaid A. M., Rezig L., Hellal H., Donsi F., Ferrari G., Hamdi S.** (2014). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*.
- ❖ **Bouyahya J., Abrini A., Et-Touys F., Lagrouh N., Dakka Y., Bakri.** (2017). Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain.
- ❖ **Brun et Caillaud.** (2009). Physiologie humaine : Les fondements de la médecine .Paris Masson.409p
- ❖ **Buratti S., Benedetti S., Cosio M.S.** (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta* 71, 1387–1392.

C

- ❖ **Codex Alimentarius**, (2001). Revised codex standard for honey, Codex standard 12-1981, Rev.1 (1987), Rev. 2 (2001), 1-7.
- ❖ **Cynthia M.M., Jun X., Abdul M., Suresh N., John S.** (2017). Antioxidant activity of polyphenols from Ontario grown onion varieties using pressurized low polarity water technology. *Journal of Functional Foods* 31 (2017) 52–62.

D

- ❖ **Da Silva P.M., Gauche C., Gonzaga L.V., Oliveira Costa A. C., Fett. R.** (2015). Honey: Chemical composition, stability and authenticity, *Food Chemistry*
- ❖ **Dasilva R., Saraiva J., de Albuquerque S., Curti C., Donate P.M., Bianco T.N.C., Bastos J.K., and Silva MLA.** (2008). Trypanocidal structure activity Relation shipforcis and trans-methylpluviatolide. *Phytochemistry*, 69: 1890-1894.
- ❖ **Daukani K., Tabak S., Derriche A., et Hacini Z.** (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algérien. *Revue Ecologique-Environnement*.10 : 37-49.

E

- ❖ **ELAIN N., MARIEB.** (2008). Biologies humaines principales d'anatomie et de physiologie.
- ❖ **El-Haskoury R., Kriaa W., Lyoussi B., Makni M.** (2017). Ceratonia siliqua honeys from Morocco: Physicochemical properties, mineral contents, and antioxidant activities. *Journal of Food and Drug Analysis*.

F

- ❖ **Farzana A.Y., Malik H.M., Abdul M., Ruqaiyyah S., Naveed A.K.** (2016). Antiacanthamoebic properties of natural and marketed honey in Pakistan

G.

- ❖ **Gimenez F., Brazier M., Calop J., Tchiakpé L., Claerbout J. F.** (2000). Traitement de l'ulcère gastroduodénale .pharmacie clinique et thérapeutique *Edition Masson, Paris*. 1065p.
- ❖ **Goetz P.** (2009). Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. *Phytothérapie*, (2009) 7: 91–93.
- ❖ **Guerzou M.N., Nadji N.** (2002). Etude comparative entre quelques miels locaux et autres importes. Ingénieur d'état en Agronomie. Université Ziane Achour de Djelfa-Algérie. Mémoire online.

- ❖ **Gulzar A.N., Yogita S., Ishrat M., Vikas N.** (2016). Discrimination of high altitude Indian honey by chemometric approach according to their antioxidant properties and macro minerals. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.

H

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

I

- ❖ **Ibrahim Khalil MD., Moniruzzamam M., Boukraa L., Benhanifia M., Asiful Islam MD., Nazmul Islam MD., Sulaiman S.A., and Hua Gan S.** (2012). Physicochemical and Antioxydant Propertis of Algerian honey. *Journal molecules*, 17, 11199-11215.

J

- ❖ **Jean Prost P et Medori P.** (2005). Apiculture : Connaitre l'abeille-conduire le rucher. Edition : Tec et Doc. Paris, pp.161-424.
- ❖ **Jetawattana S.** (2005). Free radical & radiation Biology; malondialdehhyde (MDA) a lipid oxidation product. *Spring*. 77,222.
- ❖ **Jince Mary Joseph, Kandhasamy Sowndhararajan, Sellamuthu Manian.**(2010).Protective effects of methanolic extract of Hedyotis puberula (G. Don) R. Br. exarn against experimentally induced gastric ulcers in rat. *Journal of Ethnopharmacology* 131: 216–219.

K

- ❖ **Karunakaran R.J., Kumaran A.** (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *LWT*. 40: 344-352.
- ❖ **Kechar K., et Hellal. B.** (2016). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth. du Tessala (Algérie occidentale).
- ❖ **Kirkiacharian S.** (2010). Guide de chimie médicinale et médicaments. *Paris : Lavoisier*.498-513p
- ❖ **Klein B.P et Perry A.K.** (1982). Ascorbic acid and vitamin A activityin selected Vegetables from different geographical areas of Unite d States. *Journal of food science* .47: 941-948.

L

- ❖ **Lako J., Trenerry V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. et Premier R.** (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian Fruit, vegetables and readilyavailable. *Food Chemistry*.101 : 1727-1741.
- ❖ **Lazareth S., Hubert U., Michon-Pasturel P., Priollet.** (2007). Déficit en vitamine C et ulcères de jambe. Résultats d'une enquête cas témoins. *Journal des Maladies Vasculaires* 32 96–99
- ❖ **Lechat P., Lagier G., Kouveix B., Vincens M., Weber S.** (1982). *Pharmacologie Medical* 4ème Edition Masson, Paris, 763 p.
- ❖ **Li P., Yadong W., Xiaorong C., Huangang W., Mi L., Fuqiang M., Hong W., Jiaolong C., Chao W., Renfu Q., Zongbao Y.** (2016). Effect of moxa-burning heat stimulating Liangmen (ST 21) and Zusanli (ST 36) on proliferation and apoptosis signaling proteins in rats with stress-induced gastric ulcer. *Journal of traditional Chinese Medecine*.

M

- ❖ **Mahaneem M., Sirajudeen K.N.S., Swamy M., Yaacob N.S et Siti Amrah S.** (2010). Studies on the antioxidant properties of tualang honey of Malaysia.Afr. J. Trad. CAM. 7. 1: 59-63.
- ❖ **Manohar C. M., Xue. J., Murayyan. A., Neethirajan. S., John Shi.,** (2017). Antioxidant activity of polyphenols from Ontario grown onion varieties using pressurized low polarity water technology. *Journal of Functional Foods*. 31 52–62.
- ❖ **Meda A.** (2005). Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activités biologiques des miels du Burkina faso. Thèse de doctorat en sciences biologiques appliquées : Biochimie et Chimie des Substances Naturelles. Université de Ouagadougou, Unité de formation de et de recherche Sciences de la vie et de la Terre, Ouagadougou, 139p.
- ❖ **Meo S. A., Al-AsiriS A., Mahesar A., L,Ansari M. J.** (2016). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- ❖ **Millao S., Uquiche E.** (2016). Antioxidant activity of supercritical extracts from *Nannochloropsisgaditana*. Correlation with its content of carotenoids and tocopherols, *The Journal of Supercritical Fluids*.

- ❖ **Mouhoubi Z.T., Ouchemoukh S., Tamendjari A.** (2016). Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*
- ❖ **Murador D.C., da Cunha D.T., de Rosso V.V.** (2014). Effects of cooking techniques on vegetable pigments: a meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels, *Food Research International*.

N

- ❖ **Nagy S.** (1980). Vitamin C contents of citrus fruit and their products. *J. Agric. FoodChem.* 28, 8-1.
- ❖ **Ndife J., Abioye L., Dandago M.** (2014). Quality Assessment of Nigerian Honey Sourced from Different Floral Locations, *Official Journal of Nigerian Institute of Food Science and Technology*. Vol. 32 No. 2, pages 48 – 55.

O

- ❖ **Ouchemoukh S., Ouchemoukh N-A, María Gómez-Romero, Aboud F., Guiseppe A., Fernández-Gutiérrez A., Segura-Carretero A., Louaileche H.** (2016). Characterization of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry.

P

- ❖ **Pablo A. Ulloa., Miguel Maia., and Amadeu F., Brigas.** (2015). Physicochemical Parameters and Bioactive Compounds of Strawberry Tree (*Arbutus unedo L.*) Honey. 10pages.

R

- ❖ **Ribéreau-Gayon P., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp.

S

- ❖ **Scoazec Jean-Yves.** (2011). Pathologie œsophagienne et gastrique : lésions néoplasiques précoces. Cas no 8. Une tumeur endocrine de l'estomac. *Annales de pathologie* 31, 390—395
- ❖ **Shantal Rodriguez Flores M., Escuredo. O., Carmen Seijo. M.** (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chemistry*. 166: 101–106.

V

- ❖ **Viana A.F.S.C., Fernandes H.B., Silva F.V., Oliveira I.S., Freitas F.F.B.P., Machado F.D.F., Costa C.L.S., Arcanjo D.D.R., Chaves M.H., Oliveira F.A., Oliveira R.C.M.** (2010). Gastroprotective activity of *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire leaves on experimental ulcer models, *Journal of Ethnopharmacology*.

X

- ❖ **Xie J.H., Dong C.J., Nie S.P., Li F., Wang Z.J., Shen M.Y., Xie M.Y.** (2015). Extraction, chemical composition and antioxidant activity of flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja leaves. *Food Chemistry*, 186, 97-105.

Y

- ❖ **YixiaoShen., Xiumei Zhang, WitoonPrinyawiwatkul, Zhimin Xu.**(2014). Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food Chemistry*. 157: 553–558.

Z

- ❖ **Zamora G.S., Yahia E.M., Brecht J.K., Gardea A.** (2005). Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Food science and technology*, 38: 657-663.
- ❖ **ZEITOUN J.P., CHRYSOSTALIS A., LEFEVER J.** (2014). Hépatologie Gastro-Entérologie Chirurgie Digestive .*Edition Vernazobres-Grego*
- ❖ **Zhou Z-Q., Xiao J., Fan H-X., Yu Y., He R-R., Feng X-L., Kurihara H., So K-F., Yao X-S., Gao H.** (2016). Polyphenols from wolfberry and their bioactivities, *Food Chemistry*.

Annexe

Annexe I : résultats des analyses phytochimiques des miels étudiés

Les résultats des analyses phytochimiques des échantillons de miels étudiés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau II : Résultats des analyses phytochimiques des miels étudiés.

Echantillons	Polyphénols (Mg/100g)	Flavonoïdes (mg/100g)	Anthocyanines (µg/100g)	Ac .Ascorbiqu (mg/100g)	Caroténoïdes (mg/100g)	DPPH (%)	P. Réducteur (mg EBSA/100g)
M1	3040,78 ^c	180,49 ^d	7,51 ^{ab}	901,49 ^b	150,34 ^b	50 ^{bc}	653,88 ^c
M2	2494,68 ^a	217,51 ^b	5,84 ^b	761,84 ^a	114,86 ^d	47,22 ^c	565,39 ^b
M3	3053,19 ^c	276,8 ^a	7,51 ^{ab}	814,04 ^{ab}	182,43 ^a	53,88 ^b	876,5 ^a
M4	2246,45 ^b	193,26 ^c	9,18 ^a	883,49 ^b	133,45 ^c	41,66 ^a	692,13 ^c

Les valeurs représentent la moyenne ($n \geq 3$).

Les valeurs portant la même lettre ne sont pas différentes significativement.

Les barres verticales représentent les écart-type.

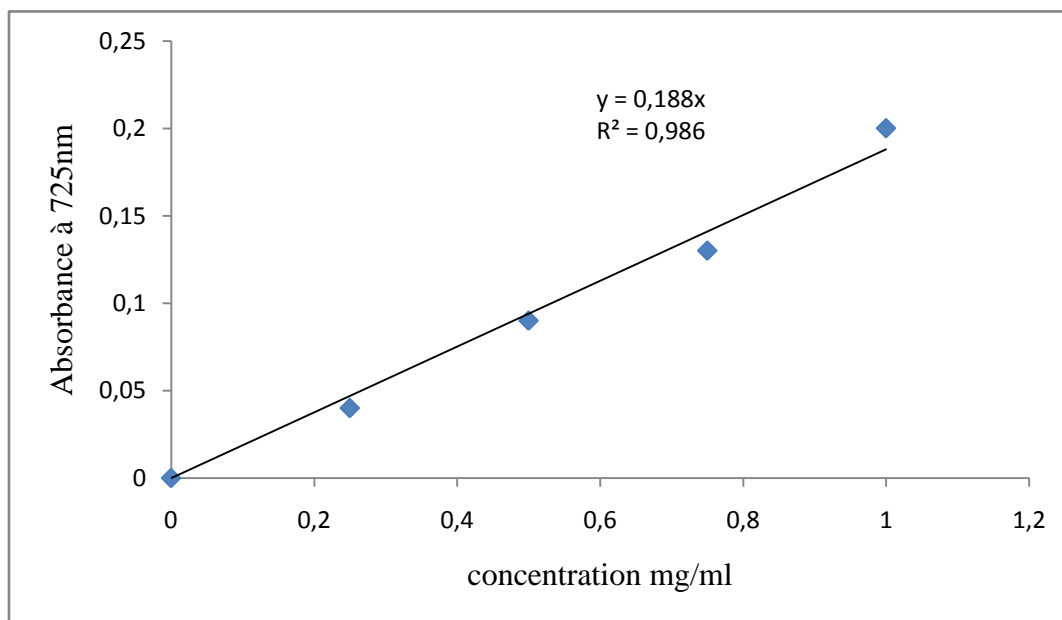
Annexe II : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants.

Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en utilisant l'acide gallique.

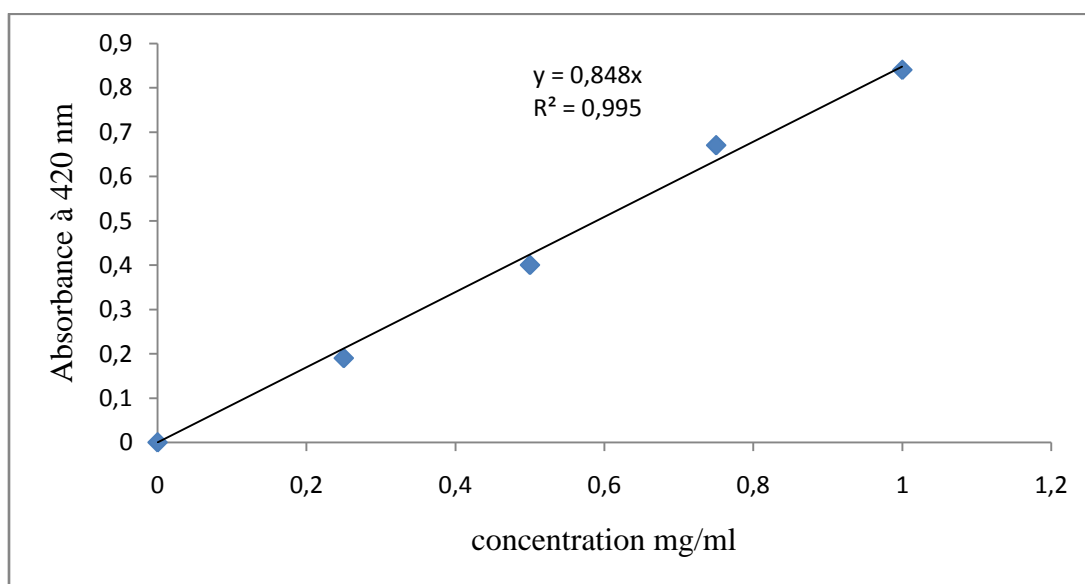


Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en utilisant la quercétine.

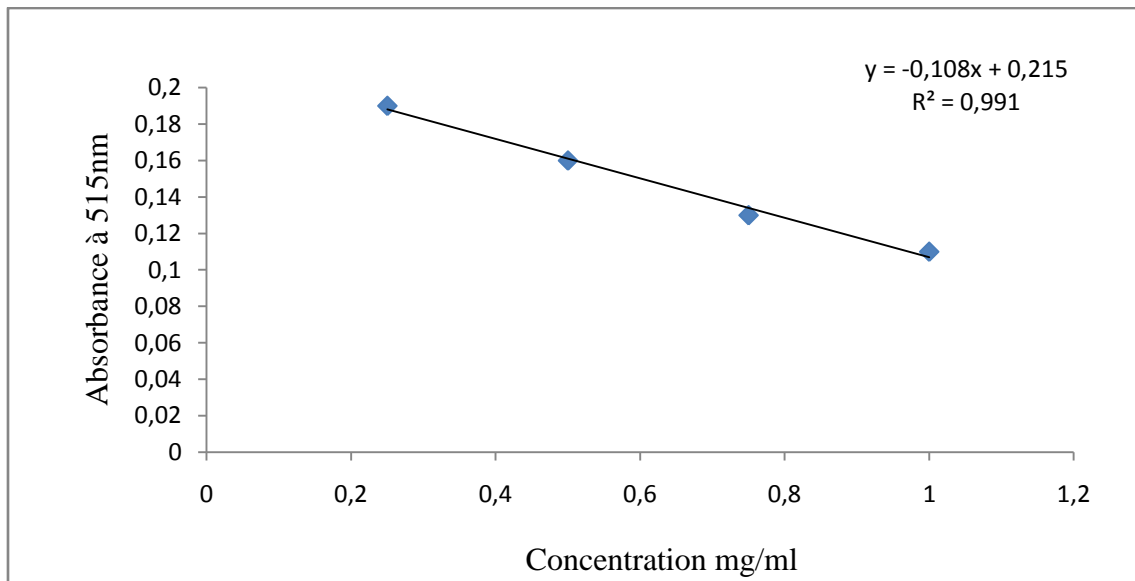


Figure 3 : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la vitamine C en utilisant l'acide ascorbique.

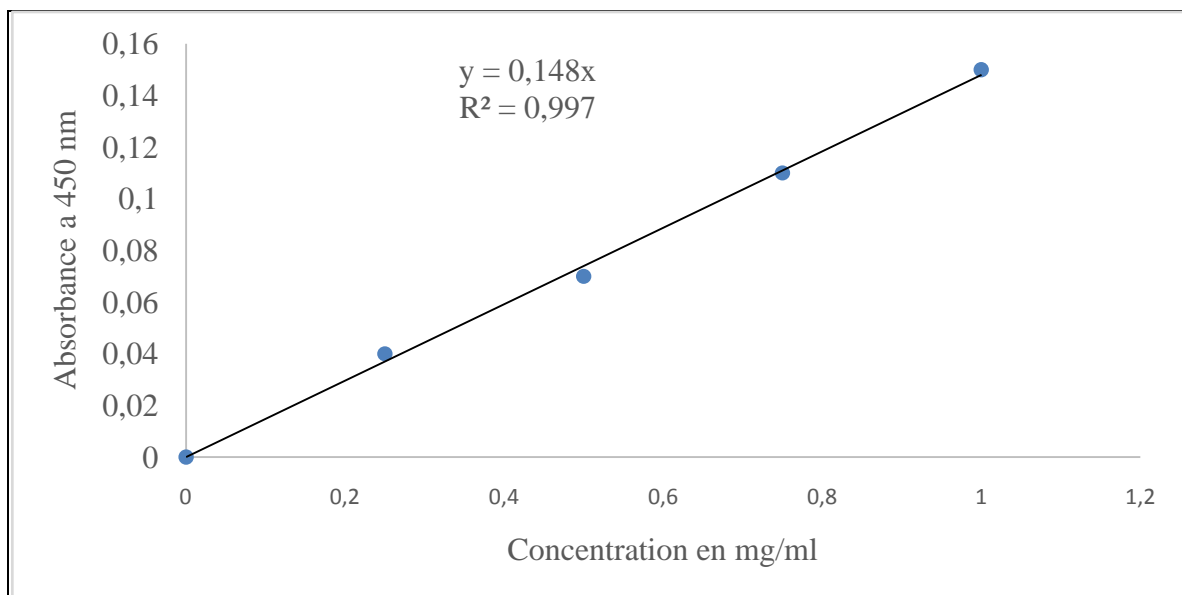


Figure 4 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des caroténoïdes en utilisant le β -carotène.

Annexe III : Courbes de corrélation des antioxydants et d'activité antioxydants

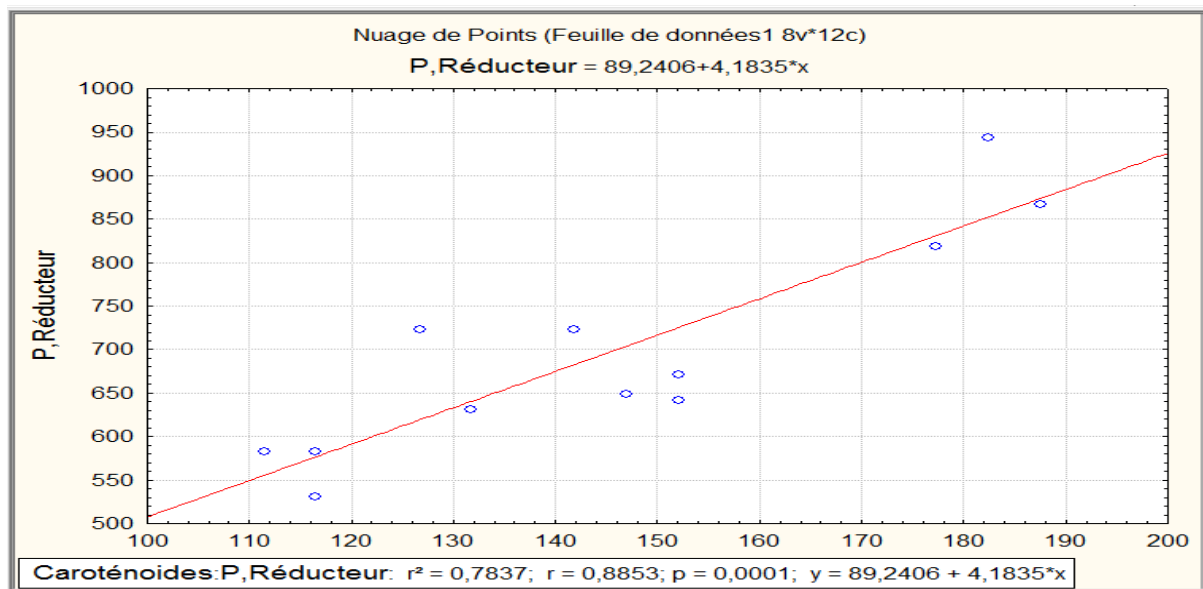


Figure 1 : Courbe de corrélation entre le pourcentage de réduction du FeCl₃ avec les teneurs en caroténoïdes des miels étudiés.

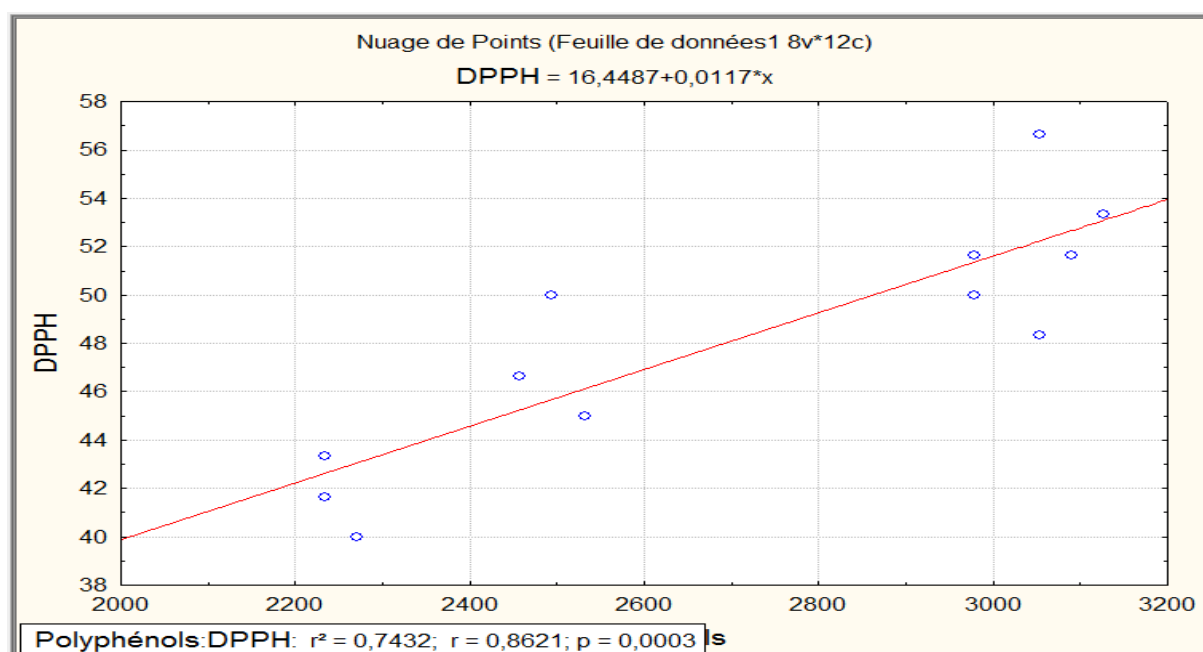


Figure 2: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH avec les teneurs en polyphénols des échantillons des miels étudiés.

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

Corrélations (Feuille de données1) Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=12 (Observations à VM ignorées)							
Variable	Polyphénols	Flavonoïdes	Anthocyanines	Acide ascorbique	Caroténoïdes	DPPH	P,Réducteur
Polyphénols	1,00	0,37	-0,18	0,06	0,75	0,86	0,45
Flavonoïdes	0,37	1,00	-0,10	-0,45	0,62	0,57	0,69
Anthocyanines	-0,18	-0,10	1,00	0,30	0,17	-0,45	0,25
Acide ascorbique	0,06	-0,45	0,30	1,00	0,11	-0,19	0,08
Caroténoïdes	0,75	0,62	0,17	0,11	1,00	0,69	0,89
DPPH	0,86	0,57	-0,45	-0,19	0,69	1,00	0,46
P,Réducteur	0,45	0,69	0,25	0,08	0,89	0,46	1,00

Corrélations (Feuille de données1) Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=12 (Observations à VM ignorées)							
Variable	Polyphénols	Flavonoïdes	Anthocyanines	Acide ascorbique	Caroténoïdes	DPPH	P,Réducteur
Polyphénols	1,00	0,37	-0,18	0,06	0,75	0,86	0,45
Flavonoïdes	0,37	1,00	-0,10	-0,45	0,62	0,57	0,69
Anthocyanines	-0,18	-0,10	1,00	0,30	0,17	-0,45	0,25
Acide ascorbique	0,06	-0,45	0,30	1,00	0,11	-0,19	0,08
Caroténoïdes	0,75	0,62	0,17	0,11	1,00	0,69	0,89
DPPH	0,86	0,57	-0,45	-0,19	0,69	1,00	0,46
P,Réducteur	0,45	0,69	0,25	0,08	0,89	0,46	1,00

Corrélations (Feuille de données1) Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=12 (Observations à VM ignorées)							
Variable	Polyphénols	Flavonoïdes	Anthocyanines	Acide ascorbique	Caroténoïdes	DPPH	P,Réducteur
Polyphénols	1,00	0,37	-0,18	0,06	0,75	0,86	0,45
Flavonoïdes	0,37	1,00	-0,10	-0,45	0,62	0,57	0,69
Anthocyanines	-0,18	-0,10	1,00	0,30	0,17	-0,45	0,25
Acide ascorbique	0,06	-0,45	0,30	1,00	0,11	-0,19	0,08
Caroténoïdes	0,75	0,62	0,17	0,11	1,00	0,69	0,89
DPPH	0,86	0,57	-0,45	-0,19	0,69	1,00	0,46
P,Réducteur	0,45	0,69	0,25	0,08	0,89	0,46	1,00

Test LSD ; variable Polyphénols (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000
 Erreur : MC Inter = 2657,4, dl = 8,0000

	Echantillons	Polyphénols	1	2	3
4	4	2246,453		****	
2	2	2494,680			****
1	1	3040,780	****		
3	3	3053,190	****		

Test LSD ; variable Flavonoïdes (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000
 Erreur : MC Inter = 26,381, dl = 8,0000

	Echantillons	Flavonoïdes	1	2	3	4
1	1	180,4900	****			
4	4	193,2633		****		
2	2	217,5067			****	
3	3	276,7967				****

Test LSD ; variable Anthocyanines (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000
 Erreur : MC Inter = 2,4382, dl = 8,0000

	Echantillons	Anthocyanines	1	2
2	2	5,843333	****	
3	3	7,513333	****	****
1	1	7,513333	****	****
4	4	9,183333		****

Test LSD ; variable Acide ascorbique (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000
 Erreur : MC Inter = 3703,6, dl = 8,0000

	Echantillons	Acide ascorbique	1	2
2	2	761,8433		****
3	3	814,0433	****	****
4	4	883,3867	****	
1	1	901,4900	****	

Test LSD ; variable Caroténoïdes (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000
 Erreur : MC Inter = 25,675, dl = 8,0000

	Echantillons	Caroténoïdes	1	2	3	4
2	2	114,8633	****			
4	4	133,4467		****		
1	1	150,3400			****	
3	3	182,4300				****

Test LSD ; variable DPPH (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur
 : MC Inter = 4,6273, dl = 8,0000

	Echantillons	DPPH	1	2	3
4	4	41,66333			****
2	2	47,22000	****		
1	1	49,99667	****	****	
3	3	53,88333		****	

Test LSD ; variable P,Réducteur (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur :
 MC Inter = 1981,8, dl = 8,0000

	Echantillons	P,Réducteur	1	2	3
2	2	565,3900		****	
1	1	653,8833	****		
4	4	692,1300	****		
3	3	876,4967			****

Annexe V: Matériel de laboratoire

➤ **Produits chimiques**

Eau physiologique (NaCl 0,9%), chloroforme, acide acétique, indométacine, tampon phosphate, Misoprostol (gélule de 20mg), acide chlorhydrique (HCl 36%), acide gallique, quercitine, acide ascorbique, 2,6 dichlorophenol-indophénol (DCPIP), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), beta carotène, chlorure ferrique (FeCl₃), thiobabaturique (TBA), acide acétique, trichloroacétique (TCA), Ferrocyanure de potassium, sulfate de sodium, Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium.

➤ **Autres matériels**

Plaque agitatrice(VELP), loupe binoculaire CARL ZEISS, vortex (VLEP), appareil photo Sony X16 pixels, balance de précision RADWA (min10mg-max22g), centrifugeuse SIGMA, pH mètre(Hanna), bain marie balance RADWA (min 0,02g-Max 600g), spectrophotomètre (SHIMADZU), sonde de gavage ; et kit de dissection ; micropipettes, cuve en quartz et différentes verrerie (bécher, mortier, pilon...etc.).

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de quelques propriétés phytochimiques (polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanines, caroténoïdes et en acide ascorbique) et des activités antioxydants (pouvoir réducteur, l'activité anti radicalaire avec le DPPH) de quatre échantillons du miel récoltés dans différentes régions de Bejaia. En outre, il est également effectué dans le but d'évaluer l'effet gastro protecteur du miel suite à un ulcère provoqué par l'indométacine. Les souris ont été traitées oralement par le misoprostol (200µg/kg) ou par le miel (25, 50 et 100 mg/kg) et ont été exposé à des lésions gastriques aiguës induite par l'indométacine. Une évaluation macroscopique en mesurant les lésions gastriques, telle que la surface des lésions, et la mesure de taux de malondialdéhydes (MDA) ont été réalisées. Les résultats phytochimiques montrent l'existence des différences d'un échantillon de miel à un autre, et ceci soit par la teneur en polyphénols totaux soit par les autres antioxydants telle que : les flavonoïdes, anthocyanines, caroténoïdes et vitamine C. L'étude montre l'existence de corrélation entre les teneurs en antioxydants et les activités estimé par la neutralisation de radicale DPPH*, et par la réduction de FeCl₃. Les résultats ont révélé que les souris des groupes teste ont significativement diminué ($p < 0,001$) le taux de MDA par le miel à 25, 50, 100 mg/kg en comparaison avec le groupe prétraités par l'indométacine.

Mots clés : miel, anti ulcère, indométacine, propriétés phytochimique, composé phénolique, activité antioxydante et gastro protectrice, malondialdéhydes.

Abstract

The present work is a contribution to the evaluation of four phytochemical properties (total polyphenols, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and ascorbic acid) and antioxidant activities (reducing power, anti-radical activity with DPPH) Honey collected in different regions of Bejaia. In addition, it is also carried out for the purpose of evaluating the gastro-protective effect of honey following an ulcer caused by indomethacin. Mice were orally treated with misoprostol (200 µg / kg) or honey (25, 50 and 100 mg / kg) and were exposed to indomethacin-induced acute gastric lesions. A macroscopic evaluation by measuring gastric lesions, such as surface lesions, and measurement of malondialdéhydes (MDA) were performed. The phytochemical results show the existence of differences from one sample of honey to another, either by the total polyphenol content or by other antioxidants such as: flavonoids, anthocyanins, carotenoids and vitamin C. The study shows the existence of correlation between antioxidant levels and activities estimated by radical neutralization of DPPH*, and by reduction of FeCl₃. The results revealed that the mice of the test groups significantly decreased the MDA rate by honey at 25, 50, 100 mg / kg ($p < 0.001$) as compared to the group pretreated with indomethacin.

Keywords: honey, anti-ulcer, indomethacin, phytochemical properties, phenolic compound, antioxidant and gastrointestinal activity, malondialdéhydes.