

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

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des sciences alimentaires
Filière : Biotechnologie, Agro-Ressources, Aliments et Nutrition
Option : Sciences des aliments



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Propriétés physicochimiques et
activités biologiques de
quelques miel**

Présenté par :

Amessis Nassima & Ait mansour Katia

Soutenu le : **10 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme Tafinine	MAA	President
Mme Ouchemoukh	MAA	Encadreur
Mme Issaadi	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Nous remerciant dieu le tous puissant et miséricordieux de nous avoir donné du courage et la patience qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promotrice M^{me} OUCHEMOUKH NADIA qui a mis toutes sa compétence à notre disposition pour ces conseils judicieux et son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nous voudrions aussi remercier vivement Mr OUCHEMOUKH SALIM pour l'assistance qu'il nous a témoigné, pour sa disponibilité, ces précieux conseils et gentillesse tout au long de notre travail.

Nos chaleureux remerciements s'adressent également au membre de Jury, en l'occurrence M^{me} TAFININE et M^{me} ISSAADI d'avoir accepté d'évaluer notre travail. Nous remerciant aussi le responsable du laboratoire d'Ecologie pour avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de la partie pratique, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

KATIA ET NASSIMA

Dédicaces

A l'aide de dieu, le plus puissant ce travail est achevé que je dédie tous d'abord à ceux qui ont donné un sens à mon existence, mes très chers parents qui ont sacrifiés les belles années de leur vie pour que rien n'empêche le déroulement de mes études, pour leur amour, confiance, soutien et encouragements tout au long de ma vie.

A celui qui partage ma vie au jour le jour, qui me supporte, m'épaule, sait trouver les mots pour me motiver et qui rend ma vie plus belle tous les jours. Merci mon très cher FARES et sa famille.

A mes grands mères IMMA TATA et JIDA MALAAZ, je leur souhaitent une longue vie.

A mon frère MOURAD.

A mes sœurs KAHINA et son mari YACINE, SIHAM et son mari LHAMID et ses enfants ADAM et ILYES, a TINHINANE et DIHIA.

A tout mes oncles et tantes, cousins et cousines et tout mes amis spécialement

SAIDA, SIHAM et ZAHWA.

A ma très chère sœur, collègue KATIA et sa famille.

Que dieu vous protège tous.

NASSIMA

Dédicaces

Arrivé au terme de mes études, j'ai le grand plaisir de dédier mon travail tous d'abord à la source de mon bonheur et liesse, mes chères et adorables parents, qui me donne toujours l'espoir de vivre, pour leur encouragement, soutien surtout leur amour et sacrifices afin que rien n'entrave le déroulement de mes études. A ma très chère grand-mère

A mes chères sœurs SOUAD et KENZA, à mon chère oncle ABDENOUR, sa femme KHADIDJA et ses enfants SABRINA, SIHEM, MOUHOU ET LAALA qui m'ont toujours soutenus et a toute la famille AIT MANSOUR et AOUCHICHE pour leurs encouragements.

A mes meilleurs amis chacun à son nom plus spécialement SAIDA, SIHEM, ZAHOUA et KAHINA.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.



KATIA

Sommaire

Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
Partie I : Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le miel	
I. Définition du miel	2
II. Origine et variétés	2
1. Miel de nectar	2
2. Miel de miellat	2
III. Production du miel par les abeilles	3
IV. Récolte du miel par l'apiculteur	3
V. Composition du miel	4
VI. Propriétés du miel	6
1. Propriétés biologiques	6
2. Propriétés physico-chimiques	7
VII. Conservation	9
VIII. Falsification	9
Chapitre II : les radicaux libres	
I. Définition des radicaux libres	10
II. Sources des radicaux libres	10
III. Dommages liés aux radicaux libres	10
IV. Stress oxydatif	11
V. Conséquences du stress oxydatif	11
VI. Antioxydants de miel	11
VII. Activités biologiques des antioxydants	13
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
I. Echantillons de miel	14
II. Analyse pollinique	15
III. Analyses physico-chimiques	15
1. Humidité et Brix	15
2. pH	16
3. Conductivité électrique	16
4. Pouvoir rotatoire	16
5. Couleur	16
6. Protéines	17
7. Proline	17
8. HMF	18
IV. Détermination des antioxydants	18
1. Composés phénoliques totaux	18
2. Flavonoïdes	19
3. Proanthocyanidines	19
V. Détermination des activités antioxydantes	19

1. Activités antiradicalaires	19
1.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH	19
1.2. Pouvoir scavenger du radical ABTS	20
1.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle	21
2. Pouvoirs réducteurs	21
2.1. Test de FRAP	21
2.2. Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.....	21
2.3. Méthode au phosphomolybdates	22
VI. Analyses statistiques	22
Chapitre II : Résultats et discussion	
I. Analyse pollinique	23
II. Analyses physico-chimiques	23
1. Humidité.....	23
2. Brix.....	24
3. pH.....	25
4. Conductivité électrique	26
5. Pouvoir rotatoire.....	27
6. Couleur.....	28
7. Protéines.....	29
8. Proline	30
9. HMF	31
III. Antioxydants et activités antioxydantes	31
1. Antioxydants	31
1.1. Composés phénoliques	31
1.2. Flavonoïdes	32
1.3. Proanthocyanidines	33
2. Activités antioxydantes	34
2.1. Activités antiradicalaires.....	34
2.1.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH	34
2.1.2. Pouvoir scavenger du radical ABTS	35
2.1.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle	36
2.2. Pouvoirs réducteurs	36
2.2.1. Test FRAP	36
2.2.2. Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.....	37
2.2.3. Test au phosphomolybdates	38
IV. Corrélation entre les paramètres biochimiques et l'activité antioxydante.....	39
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	42
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Echantillons de miels analysés	14
II	Protocole pour le dosage de la proline	17
III	pH des miels analysés	26
IV	Pouvoir rotatoire des miels analysés	28

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Photographies montrant les différentes étapes de la récolte du miel	4
2	Squelette de base des flavonoïdes	12
3	Photographie de quelques échantillons de miel analysés	15
4	Mécanisme de la réaction des chlorures d'aluminium et les flavonoïdes	19
5	Forme oxydée et réduite de DPPH	20
6	Forme oxydée et réduite de l'ABTS	20
7	Humidité des miels analysés	24
8	Brix des miels analysés	25
9	Conductivité électrique des miels analysés	27
10	Couleur des miels analysés	28
11	Teneurs en protéines des miels analysés.	29
12	Teneurs en proline des miels analysés	30
13	Teneurs en HMF des miels analysés	31
14	Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés	32
15	Teneurs en flavonoïdes des miels analysés	33
16	Teneurs des proanthocyanidines des miels analysés	34
17	Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés	35
18	Pouvoir scavenger du radical ABTS des miels analysés	35
19	Pouvoir scavenger du radical hydroxyle des miels analysés	36
20	Pouvoir réducteur par le test de FRAP des miels analysés	37
21	Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des miels analysés	38
22	Pouvoir réducteur au phosphomolybdates des miels analysés	38

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

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

CE : Conductivité Electrique

Cpt : Composés phénoliques totaux

DPPH : 2,2-diphényl -1- picrylhydrazyl

EAA : Equivalents d'Acide Ascorbique

EAG : Equivalents d'Acide Gallique

EBSA : Equivalents bovine sérum albumine

EC : Equivalents Catéchine

Ech : Echantillon

EQ : Equivalents Quercetine

Flav : Flavonoïdes

FRAP : Pouvoir Antioxydant de Réduction Ferrique.

HMF: HydroxyMéthylFurfural

PR : Pouvoir réducteur

Proanth : Proanthocyanidines

TPTZ : Tripyridyletriazine

INTRODUCTION

Introduction

L'utilisation du miel par l'homme remonte au temps le plus loin de l'histoire. Il est considéré comme un aliment privilégié, élaboré par les abeilles (*Apis Mellifera*) à partir du nectar ou de miellat. Elles les recueillent, transforment et emmagasinent dans les rayons de la ruche (Azeredo et *al.*, 2003). Le miel est un produit sucré constitué principalement des glucides (dont le fructose et le glucose sont les composants principaux), l'eau, les protéines, les composés phénoliques totaux, les acides aminés libres, et d'autres composés mineurs tels que les vitamines, lipides et les minéraux (Alqarni et *al.*, 2012).

Cet aliment précieux, possède plusieurs propriétés nutritionnelles, thérapeutiques, et est utilisé pour le traitement de nombreuses maladies. Les vertus thérapeutiques de ce produit sont principalement dues à ses activités antimicrobienne et antioxydante (Meda, 2005). Les principaux agents antioxydants du miel sont les composés phénoliques et les flavonoïdes qui ont comme rôle de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres présent dans l'organisme. Ces derniers interagissent avec toute une série de substrats biologiques induisant la dénaturation des protéines, l'inactivation des enzymes, l'oxydation du glucose et plusieurs autres dommages (Aljadi et *al.*, 2004).

Ainsi le présent travail vise à déterminer quelques propriétés physico-chimiques ainsi que certaines activités antioxydantes de vingt échantillons de miel.

Pour réaliser cela la présente étude est divisée en deux parties :

La première est une partie théorique qui vise à présenter le miel dans ces généralités (définition, origine, variétés, récolte, composition chimique) ainsi que ces propriétés biologiques et physico-chimiques.

La deuxième est une partie pratique qui porte sur la détermination de quelques caractéristiques physico-chimiques (pH, humidité, brix, conductivité électrique, pouvoir rotatoire, couleur, HMF), dosage de quelques composants (proline, protéines, composés phénoliques totaux, flavonoïdes, proanthocyanidines), analyse pollinique ainsi que la détermination de l'activité antioxydante en procédant par plusieurs méthodes (pouvoirs réducteurs aux ferricyanure de potassium, au phosphomolybdate et le FRAP ainsi que les activités antiradicalaires des échantillons de miel vis à vis des radicaux ABTS, DPPH et OH).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralités sur le miel

Chapitre I : Généralités sur le miel

I. Définition du miel

Selon le codex alimentarius (2001), le miel est défini comme : « substance sucrée naturelle, produite et traitée par des abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant des parties vivantes des plantes ou des excréments laissés par des insectes suceurs qu'elles butinent, transforment et combinent avec des matières spécifiques propres emmagasinées et laissées murir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée. »

II. Origines et variétés

L'origine du miel est importante vis-à-vis de l'évaluation de sa qualité par des consommateurs, car elle influence sur ces caractéristiques organoleptiques. Il en est de même pour l'origine géographique (Baroni *et al.*, 2009).

L'appétence naturelle des abeilles pour tout ce qui est sucré les amène à butiner différentes sources. Selon Hoyet (2005) le miel est élaboré par des abeilles à partir de substances sucrées végétales provenant soit :

- Des nectars de plantes (essentiellement des fleurs) ;
- des exsudats rejetés par des insectes piqueurs et suceurs ;
- des jus de fruits déjà attaqués par d'autres insectes ou par des petits animaux

1. Miel de nectar (miel à fleur)

Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales nommées nectaires. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'air, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant (Sanz *et al.*, 2005). Il est constitué de sucre (saccharose, glucose et fructose), d'acides organiques, de protéines dont des enzymes, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques. Tous ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (Hoyet, 2005).

2. Miel de miellat

Le miellat est un produit sucré élaboré par divers insectes piqueurs et suceurs généralement le puceron à partir de la sève des végétaux et dont se nourrissent certaines abeilles et fourmis (Hoyet, 2005). Il est constitué d'azote, de minéraux, d'acides organiques,

de glucose et de fructose ainsi que d'autres sucres tels que le mélézitose, le raffinose et l'isomaltose (Bogdanov, 2004).

III. Production du miel par les abeilles

Le miellat et/ou nectar recueillis par la trompe arrivent par l'œsophage dans le jabot de l'abeille butineuse. Celle-ci, une fois arrivée à la ruche, transforme ce produit en lui donnant son empreinte personnelle (Tojonirina, 2008).

Tout d'abord, elle mélange ces solutions sucrées à des sécrétions salivaires riches en enzymes et contenant notamment une invertase qui transforme le saccharose en glucose et fructose (Chouia, 2014).

Le nectar ainsi que le miellat qui peu à peu deviennent miel, subissent dans la ruche de nombreux transferts, phénomènes appelés trophallaxie (Hoyet, 2005). C'est ainsi que s'effectue la concentration du miel non mûre qui sera ensuite déposé dans les alvéoles des cadres de cire. Sous l'influence de la température de la ruche et de la ventilation assurée par les ouvrières, le miel mûr évapore son eau. Quand la teneur en eau du miel est inférieure à 19%, le miel est mûr et il sera operculé par une couche de cire (Huchet, 1996).

IV. Récolte du miel par l'apiculteur

L'apiculteur place la hausse, qui constitue la partie supérieure de la ruche, dès le printemps. Elle est composée de cadres destinés à recevoir le surplus de miel (c'est le miel qui n'est pas destiné à nourrir les jeunes larves).

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée quand les cadres des hausses sont remplis de miel operculé. L'apiculteur ramasse ces hausses et les ramène dans sa miellerie afin d'extraire le miel. Il retire, à l'aide d'un lève cadres, les cadres remplis de miel, désopercule les alvéoles gorgées de miel soit par un couteau à désoperculer ou une herse (méthode manuelle) ou machine Caillas (méthode mécanique). Les cadres sont ensuite mis dans un extracteur. C'est une sorte de centrifugeuse manuelle ou automatisée où ils vont tourner très rapidement. La force centrifuge fait alors sortir le miel des alvéoles. Projeté sur les parois, le miel coule au fond de l'appareil. À la sortie de l'extracteur, le miel est versé dans un maturateur qui contient un filtre destiné à retenir les impuretés qui pourraient y être contenues (fragments de cire,...). Enfin, l'apiculteur soutire le miel du maturateur et le conditionne dans des pots (Tojonirina, 2008).



Figure 1 : Photographies montrant les différentes étapes de la récolte du miel (Anonyme, 2015).

V. Composition du miel

Le miel est constitué de plus de 181 substances différentes (Al Mamary et *al.*, 2002). Sa composition varie d'un échantillon à un autre en fonction de : l'origine florale ; conditions météorologiques ; contribution de l'apiculteur et l'état physiologique de l'abeille. Les différents composants du miel sont représentés sur un tableau récapitulatif (Annexe I).

➤ Eau

La teneur en eau a un pourcentage optimum de 17 à 18% qui garantira une bonne conservation du miel, plus cette teneur est élevée plus ya risque de fermentation. Elle conditionne son poids spécifique et sa cristallisation. Elle dépend de plusieurs facteurs tels que: les conditions métrologiques lors de la production, de l'humidité dans la ruche, ainsi que des conditions de récolte (Delphine, 2010).

➤ Glucides

Les glucides sont présents en quantité de 78 à 80%. Les principaux glucides constitutifs du miel sont le fructose et le glucose avec une prédominance du fructose, une petite quantité d'oligosaccharides, disaccharides et trisaccharides (Delphine, 2010). Certains proviennent du nectar ou du miellat (d'origine végétale), d'autres apparaissent seulement comme des produits secondaires après transformation par les enzymes de l'abeille (Lequet, 2010).

➤ Protides

Les protides du miel sont soit des protéines ou acides aminés libres. Les teneurs en protéines des miels sont négligeables (0,2 à 0,6%) et proviennent du nectar et/ou du miellat, du pollen et des sécrétions de l'abeille ouvrière (Lequet, 2010). La proline est l'acide aminé

dominant dans le miel (50 à 85% de la teneur totale en acides aminés) qui est un indice de maturité et de non falsification du miel et qui doit dépasser 180 mg /kg (Ouchemoukh, 2012).

➤ **Acides organiques**

La provenance des acides organiques est diverse, certains du nectar des fleurs et d'autres des transformations opérés par l'abeille (réactions enzymatiques et de fermentation). L'acide gluconique est l'acide majoritaire et provient de la dégradation de glucose (Rossant, 2011).

➤ **Enzymes**

Les principales enzymes du miel sont : les α et β amylases et la saccharase. Elles facilitent la digestion des aliments. Elles sont de deux origines : végétale et animale, le nectar contient des enzymes produites par les nectaires de la plante, les abeilles y ajoutent des enzymes de leurs glandes salivaires. Ces enzymes sont détruites par la chaleur, et leur présence ou leur absence peut servir d'indication de surchauffage du miel (Rossant, 2011).

➤ **Pollen**

L'abeille récolte le pollen pour ses propres besoins tels que l'alimentation des larves, leur permettant la prolongation de leur durée de vie et favorise le développement du couvain (Gilles, 2011). Il est introduit involontairement dans le miel par les abeilles qui le porte sur leurs fourrures, leurs pièces buccales et sur leurs pattes. L'origine botanique du miel peut être identifiée par une observation microscopique des grains de pollen (Nair, 2014).

➤ **Hydroxyméthylfurfural**

L'Hydroxyméthylfurfural (HMF) est un dérivé de déshydratation des hexoses (principalement le fructose) qui se forme dans le miel au cours de son vieillissement ou qui a subi un chauffage. Il renseigne sur la fraîcheur et la qualité du miel. Sa teneur légale ne doit pas dépasser 40 mg/ kg, et un miel de bonne qualité ne devrait pas avoir un taux supérieur à 25 mg/ kg (Nair, 2014).

➤ **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les composés identifiés dans le miel : les acides phénoliques et les flavonoïdes qui sont responsables de l'activité antioxydante du miel (Nair, 2014).

➤ **Autres composés mineurs**

Le miel est constitué de plusieurs autres constituants qui sont sous forme de traces (avec des teneurs négligeables) tels que : les lipides, les vitamines (issue principalement du pollen que le miel contient), les sels minéraux, le glycérol (résultat d'une fermentation), les levures, les spores de champignons, les algues...etc. (Lequet, 2010).

VI. Propriétés du miel

1. Propriétés biologiques

1.1. Propriétés nutritionnelles

En raison de sa teneur élevée en glucides simples, le miel représente un aliment énergétique par excellence et assimilable par l'organisme. Il apporte pour l'organisme 3200 calories par Kg de matière sèche (Nair, 2014). Il favorise l'assimilation du calcium et l'absorption du magnésium qui sont des minéraux indispensables aux bons fonctionnements de l'organisme (Meda, 2005).

1.2. Propriétés antioxydantes

Les composés responsables de l'activité antioxydante du miel sont les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, et les produits de la réaction de Maillard.

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces des radicaux pyroxyles à cause de leur structure contenant un anneau aromatique et un groupement hydroxyle. (Ouchemoukh, 2012).

1.3. Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne du miel est attribuée à des facteurs physiques (pression osmotique et l'acidité) et chimique (peroxyde d'hydrogène et inhibines non peroxyde) (Molane et Russel, 1988 ; Weston *et al.*, 2000).

Le miel du fait de son osmolarité conséquente et de sa forte teneur en sucre crée un appauvrissement de l'eau disponible pour les bactéries mettant en péril leur vie. Par sa viscosité, le miel forme une barrière protectrices sur les plats qui prévient ainsi la formation du biofilm (agrégat complexe de nombreuses espèces bactériennes). Par son acidité il permet l'inhibition de nombreux pathogènes (Lavoine, 2012).

1.4. Propriétés thérapeutiques

Les vertus thérapeutiques du miel sont attribuées à son activité antioxydante et antibactérienne. Il est utilisé pour les traitements des brûlures, des désordres gastro-intestinaux, de l'asthme et des ulcères de peau (Al-mamary et *al.*, 2002 ; Ferreira et *al.*, 2009).

Le miel peut guérir ou soulager l'insomnie, les maux de gorge et certaines infections gastriques (Meda, 2005). Il est aussi utilisé dans le traitement des plaies infectées (stimulation des tissus de régénération, réduction de l'inflammation, nettoyage des plaies...) (Hoyet, 2005). Il augmente la sécrétion du glutathion, substance stimulante qui agit sur la division cellulaire, favorisant ainsi la cicatrisation ; comme il stimule les macrophages du fait que le miel est un produit sucré. Par ses capacités de défense immunitaire, il contribue à l'élévation du taux d'hémoglobines dans le sang et renforce ainsi la résistance de notre organisme dans sa lutte contre les agressions en générale (Nair, 2014).

2. Propriétés physicochimiques

2.1. Couleur

En fonction de l'origine florale, géographique et la composition, le miel présente différentes couleurs (Hoyet, 2005). Les diverses couleurs du miel sont généralement toutes des nuances de jaune brun, mais peuvent être aussi verdâtre (miellat), miel grisâtre (tournesol), rougeâtre et certains presque noir. Le chauffage et le vieillissement provoquent une intensification de la coloration du miel (Lequet, 2010).

2.2. Texture

La cristallisation est une modification de l'état physique d'un miel parfaitement naturelle provoquée par la forte concentration en sucre et particulièrement la saturation en glucose. (Meda, 2005).

Le miel peut se présenter sous de nombreux aspects qui sont dues aux glucides qui ont tendance à se cristalliser autour d'un cristal microscopique de glucose, d'une poussière ou d'un grain de pollen (Huchet, 1996). La vitesse de cristallisation varie avec la composition en sucre, la teneur en eau et la température de conservation (Hoyet, 2005). L'aptitude d'un miel à se cristalliser est fonction du rapport glucose/eau (Bogdanov et *al.*, 2005).

2.3. Densité et viscosité

La densité du miel varie entre 1,39 et 1,44 à 20°C (Ouchemoukh, 2012). La majorité des miels ont une viscosité moyenne, cependant il existe certains miels qui ont une viscosité plus élevée, ils sont dits thixotropes (Lequet, 2010). Ces deux propriétés dépendent fortement de la teneur en eau, de la température et à moindre degré de la composition du miel (Mossel et *al.*, 2003 ; Gidamis et *al.*, 2004).

2.4. pH et acidité

Le miel est acide ; son pH est généralement compris entre 3,2 et 5,5. Les miels de châtaigner font exception qui peut atteindre une valeur de 6. Le pH du miel est fonction de la quantité d'acide ionisable (H^+) qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale (Bogdanov et *al.*, 2004).

2.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) du miel est l'un des paramètres efficaces pour la distinction entre le miel de miellat et le miel de nectar. La CE de miel de miellat est supérieur à 0,8 ms/cm et celle de nectar est inférieure à 0,8 ms /cm. Elle est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée (Bogdanov, 2005).

2.6. Indice de réfraction

L'indice de réfraction du miel est inversement proportionnel à sa teneur en eau. Il varie entre 1,5041 et 1,4915 à 20°C pour une teneur en eau allant de 13 à 18 % pour la majorité des miels (Terrab, 2004).

2.7. Pouvoir rotatoire

Le miel présente la propriété de dévier le plan de la lumière polarisée. Le pouvoir rotatoire global dépend de la nature et des proportions relatives des sucres présents dans le miel. Cette propriété est très utilisée pour la détermination de l'origine botanique du miel (Nanda et *al.*, 2003).

VII. Conservation

Le miel est un produit périssable, il subit au cours du temps de nombreuses modifications entraînant la perte de ses qualités. Il doit être conservé dans des endroits secs et aérés et dans des emballages fermés hermétiquement pour éviter sa fermentation, loin des températures élevées pour éviter la dégradation des sucres et la formation de HMF (Huchet, 1996).

VIII. Falsification

Comme tout aliment, le miel est soumis à plusieurs pratiques illégales telles que la falsification qui permet d'obtenir des intérêts financiers et la confiance du consommateur. Plusieurs types de fraudes peuvent toucher le miel : fraudes sur les appellations, sur la qualité (ajout de substances sucrées), sur l'origine (mélange du miel) et utilisation de molécules non autorisées pour le traitement des ruches (Lequet, 2010). Un miel falsifié est reconnu par sa faible activité enzymatique, sa teneur élevée en saccharose et un taux de proline inférieure à 180 mg/kg, ainsi qu'il contient moins de pollen qu'un miel authentique (Bogdanov et al., 1995). En vue de déterminer ces falsifications, plusieurs méthodes sont mises en œuvre : l'analyse du taux de la proline, l'analyse du taux de l'HMF pour révéler si le miel est additionné de saccharose inverti, analyse microscopique pour détecter l'ajout de sucre de canne, analyses polliniques, physicochimiques et organoleptiques pour déterminer l'origine botanique du miel (Lequet, 2010).

Chapitre II

Radicaux libres et antioxydants

Chapitre II : Radicaux libres et antioxydants

I. Définition des radicaux libres

Un radical libre se définit comme toutes substances chimiques possédant un ou plusieurs électrons non appariés dits célibataires sur l'orbitale externe. Cette caractéristique rend les radicaux libres très électrophiles car ils vont tender de ré-apparier leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron. Leur durée de vie est ainsi très courte. L'espèce agressée est rendue à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaine (Ré et *al.*, 2005).

II. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits en permanence dans l'organisme dans des conditions physiologiques ou pathologiques (Ouchemoukh, 2012) :

- Des fuites d'électrons au niveau de la chaine respiratoire de la mitochondrie.
- Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées.
- La xanthine oxydase génère des radicaux libres en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique.
- D'exposition à des agressions de l'environnement comme des agents infectieux, la pollution, UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Belyagoubi, 2012).

III. Dommages liés aux radicaux libres

De part leur nature instable, les radicaux libres sont toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants et induisant la dénaturation des protéines, l'inactivation des enzymes et l'oxydation du glucose. Ils peuvent causer des altérations au niveau de l'ADN en augmentant les possibilités de mutation. Les processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaitre avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire. C'est ainsi que certains radicaux libres semblent jouer un rôle dans les phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydants irréversibles accumulés tout au long de l'existence (Pincemail et *al.*, 2002).

IV. Stress oxydatif

Dans une situation physiologique normale, la balance, antioxydants/prooxydants, est en équilibre, mais lorsque cet équilibre est corrompu en faveur de ces derniers, il y aura apparition du stress oxydatif, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles.

Un déficit en antioxydants (une alimentation pauvre en antioxydants, inactivation d'enzymes...etc.) et /ou une surproduction des radicaux libres (pollution, absorption d'alcool,...etc.) peuvent contribuer à l'apparition du stress oxydatif (Pincemail et *al.*, 2002).

V. Conséquences du stress oxydatif

Les radicaux libres ont la capacité de protéger l'organisme contre les dommages causés par les microorganismes, toutes fois leur production excessive provoque plusieurs complications biologiques comprenant les carcinogènes, mutagenèses, vieillissement...etc. (Al- mamary, 2002).

Le stress oxydant est aussi impliqué dans la genèse de plusieurs maladies plurifactorielles telles que le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. (Ouchemoukh, 2012).

VI. Antioxydants du miel

Les antioxydants sont des substances chimiques réagissant contre les radicaux libres. Ils sont présents dans les plantes médicinales, les fruits et légumes et étant donné que le miel est élaboré à partir des plantes, il est tout à fait normal qu'il contient ces substances antioxydantes.

Les principaux agents antioxydants du miel sont : les composés phénoliques, les flavonoïdes, les caroténoïdes, la vitamine C, proanthocyanidines et les oligo-éléments (Al-Mamary, 2002 ; Aljadi et *al.*, 2004).

1. Composés phénoliques

Les composées phénoliques appeler aussi polyphénols regroupent plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques qui présentent tous dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Boussahel, 2011).

Les composés phénoliques sont des substances provenant des sécrétions de bourgeons et des exsudats de divers organes des plantes, ils sont représentés essentiellement par les flavonoïdes et les acides phénoliques (Amiot et *al.*, 1989).

2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi des végétaux. Leur structure de base est constituée de deux noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 3). Ils possèdent en plus de la propriété antioxydante, des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes...etc. (Boussahel, 2011).

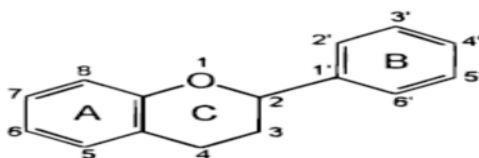


Figure 2 : Squelette de base des flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

3. Acides phénoliques et proanthocyanidines

Les acides phénoliques retrouvés dans le miel sont essentiellement : les acides galliques, benzoïques, caféïques, coumariques, feruliques et éllagiques (Méda, 2005).

Les proanthocyanidines sont appelés aussi les tannins condensés qui sont des polymères constitués d'unités flavanes reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Achat, 2013).

4. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels synthétisés par les plantes et les micro-organismes. Ils sont responsables de la couleur rouge, jaune et orange des variétés de fruits.

Les caroténoïdes sont de longues molécules à caractère lipophile possédant de très nombreuses doubles liaisons conjugués qui sont responsables de leur activité antioxydante. Ils sont divisés en carotène (β -carotène et lycopène) et en xanthophylle (lutéine, zaxantine et cryptoxantine) (Connell et *al.*, 2007).

5. Acide ascorbique

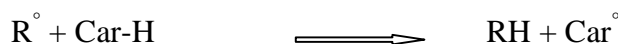
L'acide ascorbique ou vitamine C, est l'antioxydant hydrosoluble majeur. Elle est facilement oxydée par l'O₂ en milieu neutre ou alcalin, stable en milieu acide et très stable lorsqu'elle est séchée. Elle est thermosensible et subit une altération en contact avec les métaux et la lumière. En plus, elle se trouve en très faible quantité dans le miel (Lobreau et *al.*, 1999).

6. Oligo-éléments

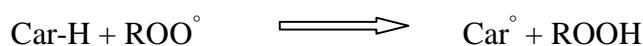
Les oligo-éléments sont des micronutriments présents en très petites quantités dans l'organisme (éléments traces) et sont indispensables à son bon fonctionnement. Ils doivent être apportés par la ration alimentaire quotidienne. Certains d'eux présentent une propriété antioxydante tel que : le sélénium, cuivre, manganèse et zinc (Ouchemoukh, 2012).

VII. Activités biologiques des antioxydants

- Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH), anion superoxyde (O₂⁻) et radicaux peroxylipidiques grâce à leurs groupements hydroxyle (C₃-OH) fortement réactifs (Pietta, 2000).
- Chélation des cations métalliques par les polyphénols inhibent la formation des radicaux libres (Puppo, 1992).
- Les composés phénoliques inhibent la peroxydation lipidique par capture directe des composés radicalaires et interrompent la propagation de la réaction en chaîne radicalaire (Havsteen, 2002).
- Les caroténoïdes neutralisent les radicaux libres par transfert d'hydrogène selon la réaction suivante (Dutta et *al.*, 2005) :



Ainsi ils sont capables d'inhiber le radical peroxyde (ROO^o) selon la réaction :



- Les caroténoïdes sont des piègeurs très efficaces contre l'oxygène singulet, ce dernier va transférer son énergie d'excitation vers le caroténoïde qui va revenir à son état initial par la dissipation de cette énergie sous forme de chaleur (Dutta et *al.*, 2005).
- La vitamine C peut capter directement l'O₂⁻ et l'OH, cette vitamine pourrait aussi avoir des propriétés prooxydantes (Servais, 2004).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre I

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Echantillons de miel

Vingt échantillons de miel sont obtenus auprès de plusieurs apiculteurs de différentes régions d'Algérie (Tableau I). La figure1 représente la photographie de ces différentes variétés de miel.

Tableau I : Echantillons de miels analysés.

Echantillons	Région	Origine florale
M01	Sidi aich	Fabaceae
M02	Sidi aich	<i>Eucalyptus</i>
M03	Akfadou	<i>Eucalyptus</i>
M04	Akbou	Multiflorals
M05	Akbou	<i>Erica</i>
M06	Akbou (bouhamza)	<i>Eucalyptus</i>
M07	Seddouk	Multiflorals
M08	Remila	<i>Erica</i>
M09	Sidi aiche	Multiflorals
M10	Remila	Multiflorals
M11	Adekar	Multiflorals
M12	Ibourassen	Fabaceae
M13	Ikdjen (Adekar)	Multiflorals
M14	Akbou (chellata)	Multiflorals
M15	Setif	Multiflorals
M16	Ighil meloulan	Caprifoliacées
M17	Sidi ali lebhar	<i>Eucalyptus</i>
M18	Seddouk oufela	Multiflorals
M19	Imoula	Multiflorals
M20	Adekar	Eucryphiacées

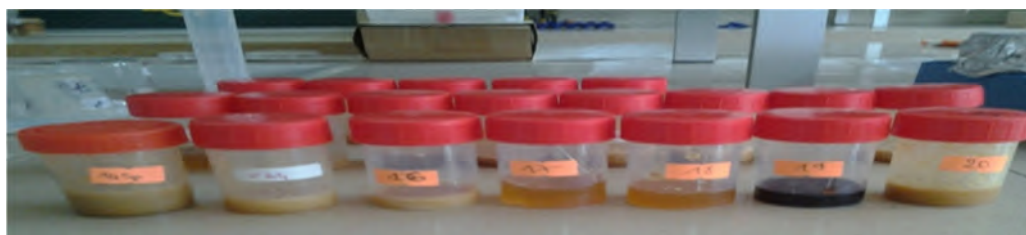


Figure 3 : Photographie de quelques échantillons de miel analysés

II. Analyse pollinique

Sept échantillons de miels sont analysés alors que les 13 qui restent, leurs origine botanique est déjà connue.

La méthode utilisée pour l'analyse pollinique est celle décrite par la commission internationale de botanique apicole (Louveaux et *al.*, 1978). 10 g de miel sont dissoutes dans 20 ml d'eau acidifiée avec l'acide sulfurique (H_2SO_4). La solution obtenue est centrifugée pendant 10 min à 3000 tours/min. Le surnageant obtenu est éliminé et le culot est additionné de 10 ml d'eau acidifiée puis centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions puis le surnageant est éliminé. Le culot est récupéré et étalé sur une lame en verre, puis recouvert d'une fine couche en gélatine glycinée. La lame est mise à l'étuve pour le séchage. Après le séchage, les lames sont examinées sous microscope photonique au grossissement x 40. Les grains de pollens sont identifiés en se référant à une banque de données de laboratoire de CETAM (France).

III. Analyses physico-chimiques

Diverses analyses physico-chimiques sont effectuées sur les vingt échantillons de miel (humidité, brix, pH, pouvoir rotatoire, couleur, protéines, proline, HMF).

1. Humidité et brix

Le taux d'humidité est mesuré à base de la méthode réfractométrique décrite par Bogdanov (1997). Environ 1g de miel est placé dans un bain marie à 50 °C, jusqu'à ce que tous les cristaux de glucides disparaissent. Quelques gouttes du miel sont ensuite déposées sur la surface du prisme du réfractomètre après étalonnage avec l'eau distillée.

L'indice de réfraction ainsi que le taux de brix sont révélés par le réfractomètre, et le taux d'humidité (pourcentage d'eau correspondant à cet indice) est donné par la table de CHATAWAY à 20 °C (Annexe III).

2. pH

Selon la méthode de Bogdanov (1997), le pH est mesuré sur une solution de miel à 10 %. Le pH est lu directement sur le pH-mètre à 20°C.

3. Conductivité électrique

La conductivité électrique est déterminée en suivant la méthode de Bogdanov (1997).

Une masse de miel est pesée telle que :

$$M = [(5 * 100) / (100 - \% \text{ d'humidité})] = [(5 * 100) / (MS)]$$

(où MS : matière sèche de miel). La prise d'essai est dissoute dans 25 ml d'eau distillée, à 20°C, qui a une faible conductivité électrique (0,0033-0,00481 ms/cm). La cellule du conductimètre est immergée dans la solution de miel, la conductivité est affichée sur l'appareil et le résultat est calculé comme suit :

$$CE = (\text{la valeur observée}) - (\text{la valeur observée} \times 0,096)$$

CE = Conductivité Electrique.

4. Pouvoir rotatoire

La méthode de Bogdanov (1997) est une méthode simple utilisée pour toutes les solutions du miel aqueuse et filtrée, à l'aide d'un polarimètre. Elle consiste à peser 12 g de miel et le faire dissoudre dans l'eau distillée. Un volume de 2 ml de Carrez I (d'hexacyanoferrate de potassium (15 %) et 2 ml de Carrez II (d'acétate de zinc (30 %) y sont additionnés. Le volume est ajusté jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée. Après 24 h, les solutions sont filtrées.

Le polarimètre contient un tube de 10 cm de longueur qui sera remplie par le filtrat et la valeur est affichée sur l'appareil à l'échelle de la solution de saccharose à 26 % à température de 20 °C.

5. Couleur

La coloration est une caractéristique physique importante des miels car elle est en rapport avec leur origine florale et avec leur composition. Elle est déterminée selon la méthode décrite par Bath et Singh (1999). 1 g de miel est dissout dans 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la lecture est faite à 450 nm.

6. Protéines

Les protéines sont dosées en suivant la méthode de Bradford (1976), qui est une méthode colorimétrique dans laquelle, le bleu de coomassie (G250) change de couleur du vert foncé dans le milieu acide vers le bleu lorsqu'il se fixe sur les acides aminés basiques de la protéine (groupement NH_3^+). 100 μl de la solution (0,5 g/ ml) est additionnée de 5 ml du réactif Bradford. Après 2 min, l'absorbance est lue à 595 nm (le blanc contient 100 μl d'eau distillée et 5 ml de réactif Bradford) (Azeredo et *al.*, 2003). La teneur en protéines est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec un standard qui est la sérum albumine bovine (BSA). Le résultat est exprimé en mg équivalent de BSA par 100 g de miel (mg EBSA/100g) (Annexe IV, figure3).

7. Proline

La teneur en proline du miel est déterminée selon la méthode rapportée par Bogdanov et *al.*, (1997). Les solutions utilisées et le protocole expérimental suivi sont résumés dans le tableau II

Tableau II : Protocole pour dosage de la proline.

	Solution d'échantillon	Solution du blanc	Solution de standard
Solution de miel	05 ml	-	-
Eau distillé	-	0,5 ml	-
Solution de proline (0,8mg/25ml)	-	-	0,5 ml
Acide formique	1 ml	1 ml	1 ml
Solution de la ninhydrine	1 ml	1 ml	1 ml
Agitation	15 min	15 min	15 min
Bain marie à 100°C	15 min	15 min	15 min
Transfert au bain marie à 70°C	10 min	10 min	10 min
Solution aqueuse de propanol-2	5 ml	5 ml	5 ml
Temps d'incubation	45 min	45 min	45 min
Absorbance	510 nm	510 nm	510 nm

Les concentrations en proline sont déterminées selon la formule suivant :

$$\text{Proline (mg /kg)} = \left[\left(\frac{E_s}{E_a} \right) * \left(\frac{E_1}{E_2} \right) \right] * 80$$

Es: Absorbance de l'échantillon de miel.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

E2 : Quantité de miel (kg)

80 : Facteur de dilution.

8. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

La détermination des teneurs en HMF est faite telle quelle est décrite par la méthode de Bogdanov *et al.*, (1997). Après avoir dissout 5 g de miel dans 25 ml d'eau distillée, 1ml de solution de carrez I (d'hexacyanoferrate II de potassium à 15 %) est ajouté puis 1ml de carrez II (acétate de zinc 30%). Après homogénéisation, le mélange est versé dans une fiole de 50 ml et le volume est ajusté avec l'eau distillée. Après 5 min environ, les dix premiers ml de la solution sont écartés et le reste est filtré.

Il y a deux tubes pour chaque échantillon : le premier contient 5 ml de la solution de miel filtré et 5 ml d'eau distillée, et le deuxième contient 5 ml de la solution de miel et 5 ml de sodium bisulfite (0,2 %), considéré comme blanc (référence). La lecture est faite une fois à 284 nm et une autre fois à 336 nm. La teneur en HMF est calculée suivant cette formule :

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

A_{284} : absorbance à 284 nm.

A_{336} : absorbance à 336 nm.

D : facteur de dilution.

W : masse en grammes de l'échantillon de miel

IV. Détermination des antioxydants

1. Composés phénoliques

Le mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu utilisé pour le dosage des composés phénoliques, est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques (Benazzouz, 2005).

En suivant la méthode de Naithanie *et al.*, (2006), 100 μl de la solution de miel (0,1 g / ml) sont additionnés de 100 μl de Folin-Ciocalteu (50 %) et de 2 ml de carbonate de sodium (2 %). Le blanc contient 100 μl d'eau distillée et 100 μl du Folin-Ciocalteu (50 %) et 2 ml de carbonate de sodium (2 %).

Les échantillons et le blanc sont mis à l'obscurité pendant 30 min puis la lecture est faite à 750 nm. Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage en utilisant le standard, acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100g) (Annexe IV, figure1).

2. Flavonoïdes

Le principe de la méthode de dosage des flavonoïdes se traduit par la formation d'un complexe flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium qui est utilisé sous sa forme de chlorure d'aluminium (AlCl_3) qui forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Figure 5) (Arvouet-Grand et *al.*, 1994).



Figure 4 : Mécanisme de la réaction des chlorures d'aluminium et les flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont déterminés en se basant sur la méthode d'AL et *al.*, (2009). 1 ml de la solution de miel (0,1g / ml) est additionné par 4 ml d'eau distillée et 300 μl de nitrate de sodium (5 %). Après 5 min, 300 μl de chlorure d'aluminium (10 %) sont additionnés. Après 6 min, 2 ml de NaOH (1Normal) sont ajoutés au mélange réactionnel. La lecture est faite à 510 nm. Les concentrations du miel en flavonoïdes sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg équivalents quercétine par 100 g de miel (mg EQ/100 g) (Annexe IV, figure2).

3. Proanthocyanidines

Les proanthocyanidines sont déterminés selon Brand-williams et *al.*, (1995). Un volume de 100 μl de la solution de miel (0,025 g/ ml) est additionné de 2 ml du réactif HCl/Butanol [volume (2/3)] (FeSO_4 dissout dans la solution HCl/Butanol) puis sont incubés à 95°C pendant 10 min. La lecture est faite à 530 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalents de catéchine par 100 g de miel (EC mg/100g) après avoir réalisé une courbe d'étalonnage avec la catéchine (Annexe IV, figure 4).

V. Détermination des activités antioxydantes

1. Activités anti radicalaires

1.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical stable lors du déplacement de son électron célibataire autour de la molécule.

L'activité antioxydante est basée sur la réduction de la coloration violette intense du DPPH qui réagit avec un antioxydant qui a la capacité de réduire le DPPH en DPPH₂ en cédant un atome d'hydrogène ou un électron (Figure 6). La diminution de l'intensité de la couleur violette est due à la présence des antioxydants (Gulcin *et al.*, 2003).

La mise en évidence de l'activité antioxydante de miel par le DPPH est faite selon la méthode décrite par Meda *et al.*, (2005). 1 ml de DPPH (6×10^{-5} M) est ajouté à 500 µl de la solution de miel (0,025g /ml). Après incubation pendant 15 min, la lecture est faite à 517 nm.



Figure 5 : Formes oxydée et réduite de DPPH.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction selon la formule suivante :

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

Abs_c : Absorbance du contrôle (1 ml de DPPH additionné de 500 µl de méthanol).

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

1.2. Pouvoir scavenger du radical ABTS :

Le test à l'ABTS est une méthode colorimétrique utilisée pour déterminer l'activité antioxydante. Il se base sur la capacité des antioxydants à neutraliser le cation radical ABTS, ce qui engendre l'oxydation de ce dernier en ABTS^{•+} (2,2'-azobis-(ethylbenzothiazoline-6-sulphonique)) qui se caractérise par une coloration bleu-vert. L'oxydation de l'ABTS se décrit par le déclin de l'intensité de la couleur (figure 10) (Erel, 2004).

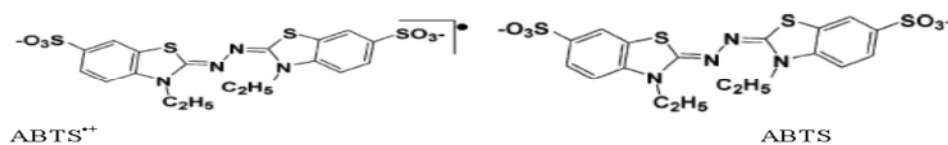


Figure 6 : Forme oxydée et réduite de l'ABTS

Un volume de 100 µl de la solution de miel (0,1 g/ ml) est ajouté à 1ml d'ABTS. De même pour le contrôle au lieu de la solution de miel on parle de 100 µl d'eau distillée et le

blanc ne comporte que d'eau distillée (100 %). Après incubation de tous les tubes pendant 7 min, la lecture est faite à 734 nm. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

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

Abs_C : Absorbance de contrôle.

Abs_E : Absorbance de l'échantillon

1.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle est un radical très réactif formé à partir de H₂O₂ en présence de métaux. Cette méthode est basée sur la formation du complexes salicylate-Fe qui permet la coloration du milieu. L'hydroxylation de salicylate se traduit par une décoloration du milieu (Freinbichler et *al.*, 2008).

Un volume de 1ml de la solution de miel (0,025 g/ml) sont ajoutés à 0,25 ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), 0,3 ml FeSO₄ et 1 ml d'acide salicylique. Après une incubation de 24 h à 37 °C la lecture est faite à 510 nm. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\text{OH(\%)} = \left(\frac{\text{abse} - \text{absc}}{\text{abse}} \right) * 100$$

abs_e: absorbance de l'échantillon

abs_c: absorbance du contrôle

2. Pouvoirs réducteurs

2.1. Test au FRAP

Le FRAP est utilisé pour la détermination de l'activité antioxydante, le principe de cette technique consiste à la réduction d'un complexe ferrique (Fe³⁺-TPTZ) à sa forme ferreuse (Fe²⁺-TPTZ) en présence des antioxydants. La solution TPTZ (tripirydyletriazine) a une couleur bleu intense (Alvarez-Suarez et *al.*, 2010). La solution de FRAP est préparée à base de trois constituants qui sont l'acétate de sodium, le TPTZ dissout dans HCl et le FeCl₃ dissout dans l'eau distillée.

Un volume de 500 µl de la solution de miel (0,025 g/ ml) est ajouté à 750 µl du réactif FRAP. Après 5 min d'incubation, la lecture est faite à 593 nm. La concentration des composés réducteurs présents dans l'extrait est exprimée en mg équivalents d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g), après avoir réalisé une courbe d'étalonnage avec l'acide gallique (Annexe IV, figure 5).

2.2. Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

La méthode du pouvoir réducteur est un test colorimétrique qui consiste à la réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'hexacyanoferrate de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), qui est un agent chromogène et en milieu acidifié grâce à l'acide trichloracétique (TCA) à 10%. Cette réduction développe une couleur verte, et l'intensité de cette couleur est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gülçin *et al.*, 2005).

Un volume de 100 μl de la solution de miel (0,05 g/ ml) est additionné de 500 μl d'hexacyanoferrate de potassium (1%) et 500 μl de tampon phosphate. Après homogénéisation durant 20 min au bain marie à 50 °C, la solution de TCA est ajoutée pour stopper la réaction. 500 μl de ce mélange sont additionnés de 800 μl d'eau distillée et 100 μl du chlorure ferrique (0,1%). La lecture est faite à 700 nm après 10 min (Beretta *et al.*, 2005). Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g) (Annexe IV, figure 6).

2.3. Méthode au phosphomolybdates

Les antioxydants ont la capacité de réduire le molybdate-IV (MoIV) en molybdate-V (MoV), par la formation d'un complexe stable vert (phosphate/ MoV) dans un milieu acide. Un mélange de 100 μl de la solution de miel (0,002 g/ ml) et d'1ml du réactif de phosphomolybdate [ammonium heptamolybdate, d'acide sulfurique et phosphate de sodium] est incubé durant 90 min à 90 °C. L'absorbance est lue à 695 nm (Mcanalley *et al.*, 2003). Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g) après avoir réalisé une courbe d'étalonnage avec l'acide gallique ($Y=3,6379 x$).

VI. Analyses statistiques

L'analyse statistique est réalisée afin de mettre en évidence la présence ou non de différences significatives entre les échantillons de miel (significatives, hautement significatives et très hautement significatives) en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 pour l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA).

Les résultats sont ordonnées d'une façon décroissante $a>b>c>d>e>f>g>h>i\dots$ Pour les échantillons qui ne présentent aucune différence significative, ils sont représentés par les mêmes lettres. Les corrélations entre les différents paramètres sont déterminées par l'emploi de la matrice de corrélation de statistica 5.5.

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussions

I. Analyses polliniques

L'analyse pollinique est une méthode qui permet de déterminer l'origine botanique et géographique du miel. L'identification du pollen se fait en comparant la morphologie observée par un microscope optique avec une banque de donnée. Les résultats observés sur les sept échantillons de miels étudiés ont révélé que quatre échantillons sont multiflorals (M14, M15, M18, M19), tandis que l'échantillon M16 est Caprifoliacées, M17 est *Eucalyptus* et M20 est Eucryphiacées.

Les différentes photographies des pollens des miels analysés sont représentées dans l'annexe II.

II. Analyses physico-chimiques

1. Humidité

Les valeurs d'humidité obtenues sont représentées sur la figure. Les valeurs obtenues varient de 11,56 (M14) à 19,5 % (M12) correspondant aux indices de réfraction 1,5080 et 1,4878, respectivement. Ces miels sont donc mûrs. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Silva et *al.*, (2009) (13,53 -19,70 %) sur les miels portugais ainsi que Liviu et *al.*, (2009) (15,40 -20 %) sur les miels Roumain. Ces différences peuvent être expliquées par la différence de climat.

Deux échantillons (M11, M12) parmi les échantillons analysés possèdent une teneur supérieure à 18 %, donc risque de poser des problèmes de fermentation. Tandis que deux échantillons (M1, M14) représentent des teneurs inférieures à 15 %, donc sont trop secs et visqueux et peuvent ralentir l'étape de diffusion des molécules de sucre et favorise la cristallisation. Ce qui a été confirmé d'ailleurs par Dailly (2008).

L'échantillon présentant la teneur la plus élevée est le miel de Fabaceae provenant d'Ibourassen (M12) et cela peut être dû du fait que cette région présente un taux d'humidité élevée. L'échantillon multiflorals (M14) présente la teneur la plus faible en eau. Ces deux échantillons présentent des différences significatives ($p < 0,05$) par rapport aux autres miels et cela peut être dû à la différence de l'origine botanique.

Les échantillons qui ne présentent pas de différences significatives en termes de teneurs en humidité sont : M8, M9, M7, M6. Ce résultat peut être expliqué par leurs régions de collecte qui sont proches.

Les échantillons de miel étudiés ont des teneurs en eau inférieures à la norme révélée par la commission européenne (2002) et le codex alimentaire (2001) qui est de 20 %.

La teneur en eau est un critère de qualité liée au degré de maturation du miel et aux conditions climatiques ainsi qu'à la saison de moisson (Terrab, 2004). C'est aussi un facteur important contribuant à la stabilité contre la fermentation et conditionne la cristallisation. Un miel de bonne qualité est un miel récolté à faible teneur en eau (Ouchemoukh, 2012).

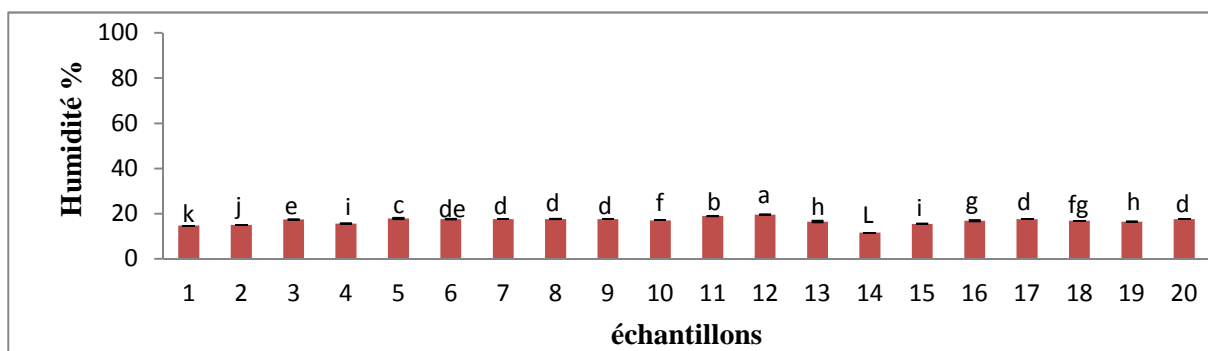


Figure 7 : Humidité des miels analysés.

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

Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissante a>b>c>d>e>f>g>h>i...

2. Brix

Les valeurs du Brix obtenues sont représentées sur la Figure. Le codex alimentaire 2001 fixe la teneur en degré de brix au minimum 65 %, et les échantillons étudiés ont des teneurs supérieures donc sont conformes à la norme.

La valeur maximale en brix des miels étudiés est celle de M14 (86,5 %) et la valeur la plus faible est attribuée à l'échantillon M12 (78,8 %). Les deux échantillons diffèrent significativement par rapport aux autres échantillons étudiés ($p < 0,05$). Tandis que les échantillons M3, M6, M9, M20 ; M6, M9, M20, M7, M8 ne présentent pas de différences significatives ($p < 0,05$).

Les degrés de brix obtenus sont différents de ceux obtenus par Silva *et al.*, 2009 sur les miels portugais (79 -82,2 %) ; Karaman *et al.*, (2011) (76 -81,5 %) et Anupama *et al.*, (2003) (75,3 -79,8 %) sur les miels turques ; et s'approchent de ceux obtenus par Dailly, (2008) (77-84 %).

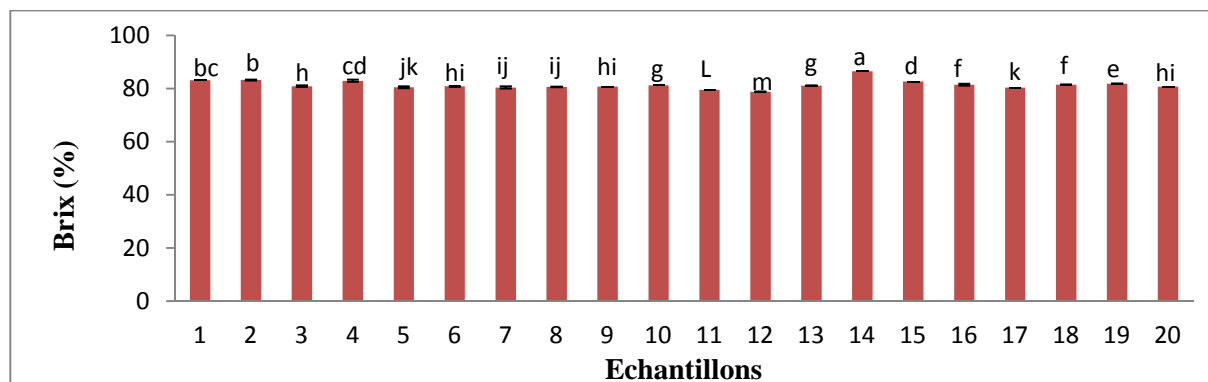


Figure 8 : Brix des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

3. pH

Les résultats de pH obtenus sont montrés sur le tableau III.

Tableau III: pH des miels analysés.

Echantillon	pH	Echantillon	pH	Echantillon	pH	Echantillon	pH
M01	3,91	M06	4,08	M11	4,15	M16	3,60
M02	3,98	M07	3,94	M12	3,51	M17	4,25
M03	3,79	M08	3,92	M13	3,96	M18	3,61
M04	3,92	M09	3,90	M14	4,88	M19	3,76
M05	4,07	M10	3,99	M15	4,38	M20	3,93

Selon Bogdanov, (1995) les miels des fleurs possèdent le plus souvent des valeurs de pH faibles (3,3-4,6) et les miels de miellats ont des pH plus élevés (4,2-5,5). Vu que les échantillons analysés ont des pH compris entre 3,51 et 4,88 cela confirme que se sont des miels des fleurs.

Selon Cavia et *al.*, (2007) le pH du miel est compris entre 3,2 et 5,5, et le pH des échantillons analysés sont dans la norme (3,51-4,88). Ces pH obtenus sont similaires à ceux trouvés par Alqarni et *al.*, (2012) (3,03-4,73) sur les miels saoudiens ; Bath et singh, (1999) sur les miels indiens (3,67-4,48) ; Ouchemoukh et *al.*, (2012) (3,62-4,10) sur les miels algériens ; ainsi que Silva et *al.*, (2009) (3,45-4,70) sur les miels portugais. Ces résultats suggèrent que le pH ne dépend pas du milieu géographique.

Le pH le plus élevé revient à l'échantillon M14 ($4,88 \pm 0,029$) et le plus faible est celui de M12 ($3,51 \pm 0,059$), ce qui indique que ce dernier est plus riche en acides organiques par rapport aux autres échantillons.

Les miels qui ne présentent pas de différences significatives au seuil de 5 % sont : M10, M2, M13, M7, M20 ; M13, M7, M20, M4, M8, M1 ; M7, M20, M4, M8, M1 et M9. Cela confirme que le pH ne dépend pas de l'origine géographique tel qu'il a été rapporté par Belay et *al.*, (2013).

Tous les miels ont des pH acides qui dépendent des acides organiques qu'ils contiennent. L'acidité élevée du miel est une indication de la fermentation des sucres (Belay et *al.*, 2013).

4. Conductivité électrique

La figure 9 représente les résultats de la conductivité électrique.

La conductivité électrique varie de $0,38 \pm 0,002$ ms/cm à $1,46 \pm 0,002$ ms/cm.

Le miel de miellat à une conductivité électrique plus élevée ($>0,8$ ms/cm). Cependant, la conductivité électrique seule ne suffit pas à une appellation florale (Amri, 2006).

Les miels M13, M12, M17, M18, M16 et M15 ont des conductivités électriques inférieurs à $0,8$ ms/cm, d'où ils peuvent être des miels de nectar, et le reste, peuvent être élaborés du miellat et/ou du nectar.

L'échantillon qui a enregistré la valeur la plus élevée est M5 ($1,46$ ms/cm) et la valeur la plus faible revient à l'échantillon M13 ($0,38$ ms/cm) en plus ils présentent des différences significatives par rapport aux autres échantillons ($p < 0,05$).

Selon Belay et *al.*, les différences entre les conductivités électriques des miels analysés peuvent être expliquées par la variabilité de l'origine botanique et de la composition chimique de ces miels.

Ces résultats obtenus dans le présent travail sont différents de ceux trouvés par Juanzhou et *al.*, 2012 sur les miels chinois ($0,35-0,63$ ms/cm), Yucel et *al.*, (2013) ($0,17-1,04$ ms/cm) sur les miels turques ; Yaiche et *al.*, (2014) sur les miels algériens ($0,21$ à $1,61$ ms/cm) ; Lazarevic et *al.*, (2012) sur les miels de serbia ($0,14-0,6$ ms/cm) et Belay et *al.*, (2013) sur les miels d'Ethiopie ($0,63-0,79$ ms/cm).

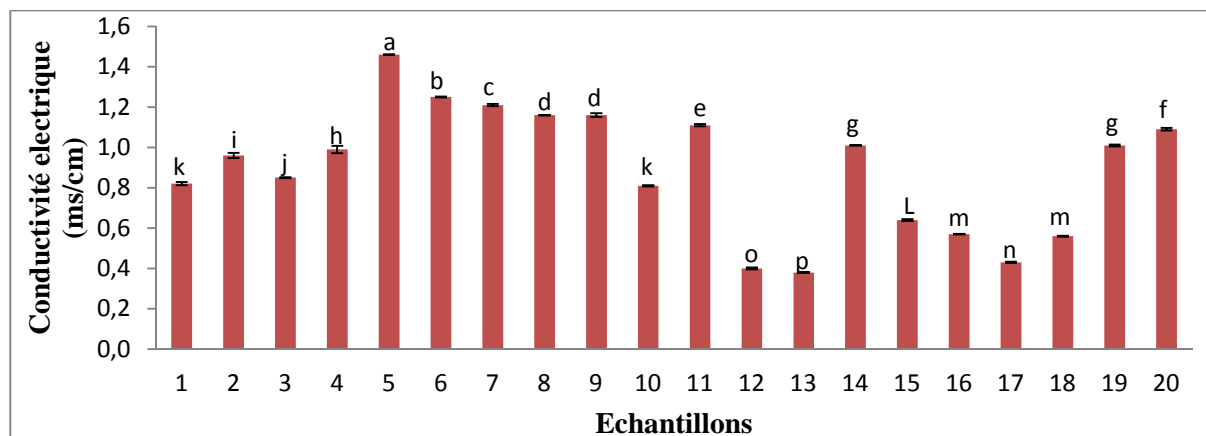


Figure 9 : Conductivité électrique des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnées d'une façon décroissants $a>b>c>d>e>f>g>h>i\dots$

5. Pouvoir rotatoire

Les résultats du pouvoir rotatoire sont montrés sur le Tableau IV.

Tableau IV : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillon	Pouvoir rotatoire	Echantillon	Pouvoir rotatoire	Echantillon	Pouvoir rotatoire	Echantillon	Pouvoir rotatoire
M01	-5,26 \pm 0,03	M06	-4,59 \pm 0,03	M11	-6,37 \pm 0,04	M16	-6,83 \pm 0,04
M02	-5,85 \pm 0,02	M07	-5,31 \pm 0,01	M12	-4,44 \pm 0,11	M17	-2,36 \pm 0,04
M03	-5,26 \pm 0,02	M08	-6,65 \pm 0,05	M13	-1,24 \pm 0,03	M18	-5,87 \pm 0,04
M04	-2,11 \pm 0,05	M09	-6,13 \pm 0,05	M14	-7,01 \pm 0,03	M19	-6,71 \pm 0,03
M05	-4,53 \pm 0,03	M10	-5,90 \pm 0,01	M15	-4,76 \pm 0,04	M20	-5,51 \pm 0,04

Les composés induisant une déviation du vecteur vers la droite sont qualifiés de « dextrogyre » avec une valeur positive (surtout le saccharose), tandis que les composés induisant une déviation du vecteur vers la gauche sont dits « lévogyres » avec une valeur négative (surtout le fructose) (Lequet, 2010), d'où tous les miels analysés sont lévogyres. Les valeurs obtenus oscillent de (-1,24 \pm 0,03) pour l'échantillon M13 à (-7,01 \pm 0,04) pour le miel M14. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Ouchemoukh (2012) sur les miels algériens (-0,8 à -8,04) mais sont distincts de ceux apportés par Nanda et *al.*, (2003) (-7,2 à -9,3).

Les miels M1 et M3 possèdent les mêmes pouvoirs rotatoires (-5,26 \pm 0,03) et (-5,26 \pm 0,02), respectivement. Les miels (M10, M18) et (M19, M8) ne présentent aucune différence significative ($p<0,05$). Ce paramètre est utilisé pour distinguer entre les miels de miellat et les

miels de nectar. La majorité des miels de miellat sont dextrogyres et miels de nectar sont lévogyres (Ouchemoukh, 2012) d'où tous les échantillons analysés peuvent être des miels de nectar.

6. Couleur

Les résultats obtenus sur la couleur sont représentés sur la figure 10.

Les miels analysés enregistrent des absorbances qui varient de $0,123 \pm 0,03$ (M12) à $1,383 \pm 0,03$ (M19) qui diffèrent significativement par rapport aux autres miels ($p < 0,05$). Cette différence de couleur pourrait être due à plusieurs facteurs : la teneur en minéraux, colorants (caroténoïdes, flavonoïdes), qui sont également connus pour avoir des propriétés antioxydante (Isla et al., 2011). Les valeurs obtenus se rapprochent de celles obtenus par Cimpoiu et al., (2013) (0,210 à 1,228) pour les miels romains, mais diffère des résultats obtenus par Khalil et al., (2012) (0,724 à 1,188) sur les miels algériens, et Serem et al., (2012) (0,320 à 2,160) sur les miels d'Afrique de sud, ainsi que Saxena et al., 2010 (0,524 à 1,678) pour les miels indiens.

Même si les miels M2, M4, M7 sont récoltés dans des régions différentes, ils ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

La couleur représente une caractéristique très importante du miel et ses mesures peuvent être employées dans l'identification de l'origine florale du miel parce que les différences en origine et composition de miel sont sensiblement exhibés dans leur couleur (Cimpoiu et al., 2013).

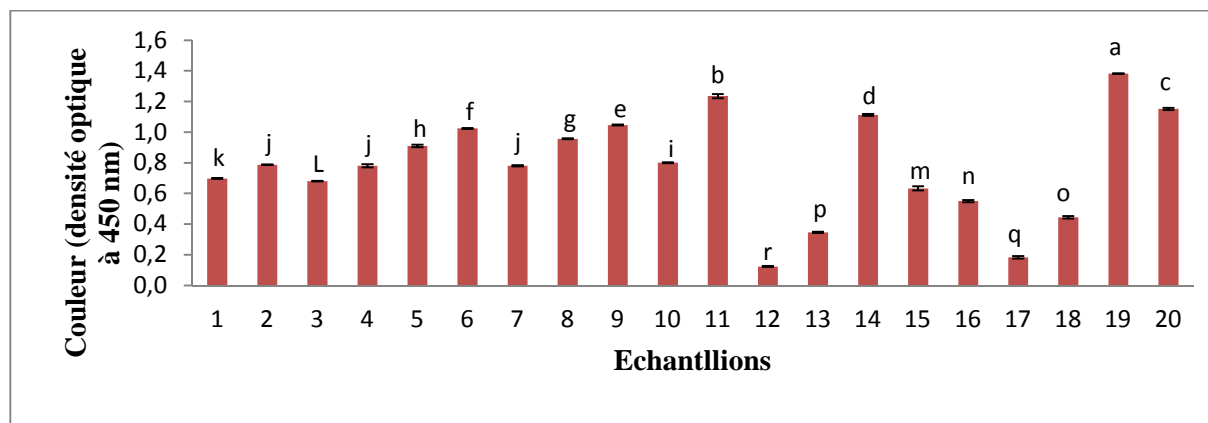


Figure 10 : Couleur des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants $a > b > c > d > e > f > g > h > i \dots$

7. Protéines

La figure 11 représente les résultats des protéines déterminés dans les miels étudiés.

Les teneurs en protéines des échantillons de miels étudiés oscillent de $23,99 \pm 1,71$ (M11) à $178,43 \pm 1,44$ mg EBSA/100 g (M20) et ces deux échantillons sont différents significativement des autres échantillons ($p < 0,05$). Les teneurs en protéines sont distinctes de celles rapportées par Ouchemoukh (2012) sur les miels algériens (45,26-251,27 mg EBSA/100 g), Alvarez-suarez et *al.*, (2010) sur le miel de Cuba (12-92,3 mg EBSA/100 g), Azeredo et *al.*, (2003) (19,9-223,6 mg EBSA/100 g) et Moniruzzaman et *al.*, (2013) sur le miel Malysien (20,4-48,3 mg EBSA/100 g). Ces différences peuvent être expliquées par le fait que ces composés proviennent des sécrétions des abeilles ou des plantes (Nectar, pollen) et diffèrent selon l'origine botanique du miel a comme expliqué Amri (2006).

Les miels multif floraux M19, M9 et M7 ne présentent pas de différences significatives entre eux ($p < 0,05$). Cela peut être expliqué par leur origine botanique.

La teneur élevée en protéines de l'échantillon M20 d'Adekar peut être expliquée par la présence d'une concentration élevée en pollen ou bien par son origine botanique. Cette richesse lui confère une valeur nutritionnelle élevée.

Le miel est généralement pauvre en protéines, mais lorsque le miel est pressé avec du couvain, il a une teneur élevée en protéines et autres constituants (Mutsaers et *al.*, 2005).

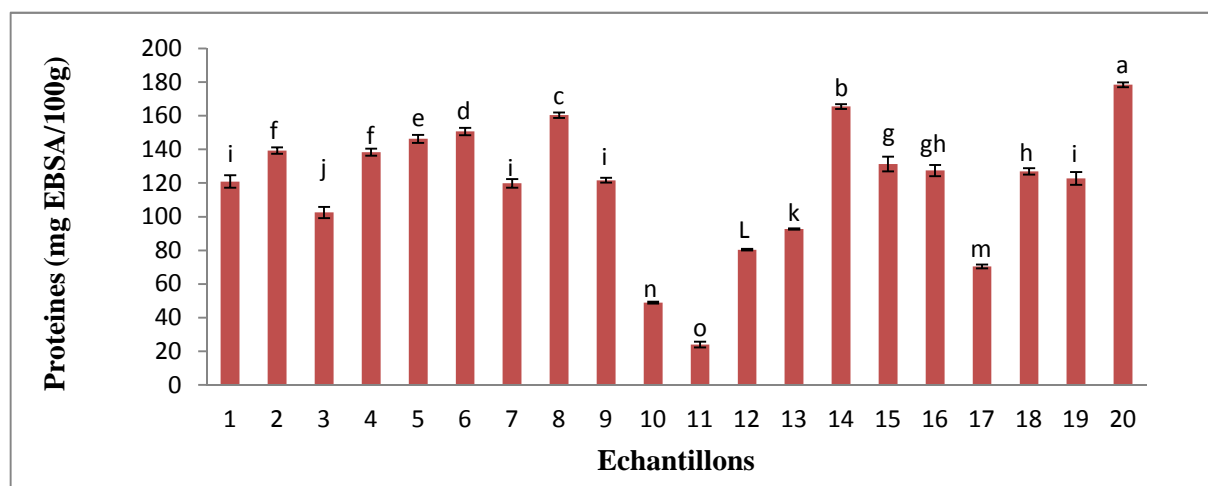


Figure 11 : Teneurs en protéines des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants $a > b > c > d > e > f > g > h > i \dots$

8. Proline

Les résultats de la proline sont montrés sur la figure12.

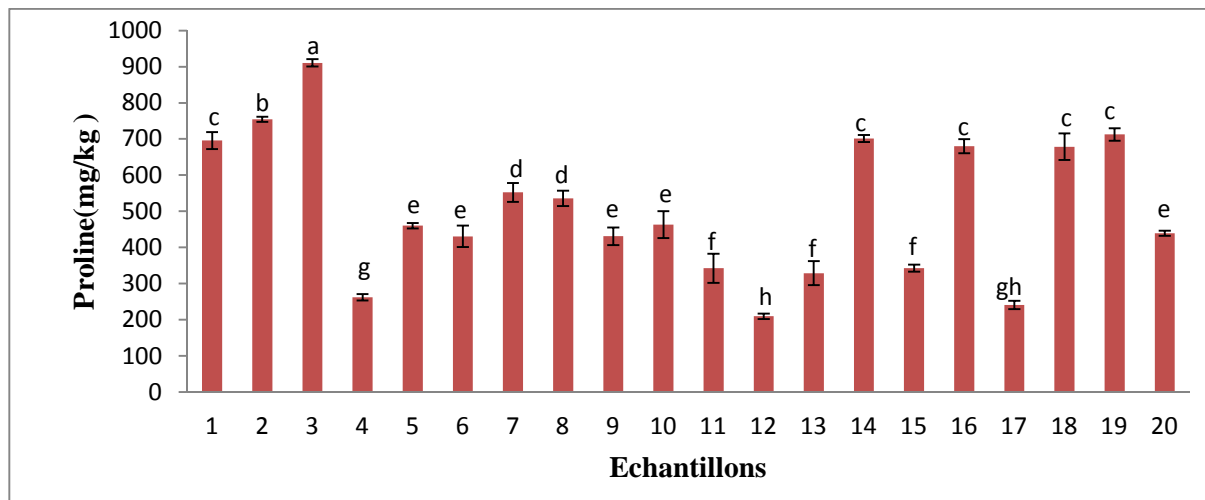


Figure 12 : Teneurs en proline des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

L'acide aminé le plus abondant dans le miel est la proline qui est sécrété principalement en salive d'abeilles pendant la conversion du nectar dans le miel après avoir consommé le pollen, (Ouchemoukh, 2012).

Tous les miels analysés possèdent des valeurs au-dessus de la valeur recommandée (180 mg/kg). Les teneurs en proline varient de $209,53 \pm 7,64$ mg/ kg pour M12 à $910,36 \pm 10,16$ mg/ kg pour M3, ce qui indique l'absence d'adultération et que ces miels sont mûrs.

Le miel M3 diffère significativement des autres miels au seuil de 5 %.

Les teneurs en proline obtenues diffèrent de celles obtenues par Meda et *al.*, (2005) (437,82 à 2169,37 mg/ kg) pour les miels de Burkina Faso et ceux de Serem et *al.*, (2012) (155,7 à 452,4 mg/ kg) sur les miels d'Afrique de Sud, Saxena et *al.*, (2010) (133 à 674 mg/kg) sur les miels indiens et Ouchemoukh (2012) (302,33 à 1420,07 mg/kg) sur les miels algériens.

9. HMF

Les résultats de HMF obtenus sont donnés sur la figure 13.

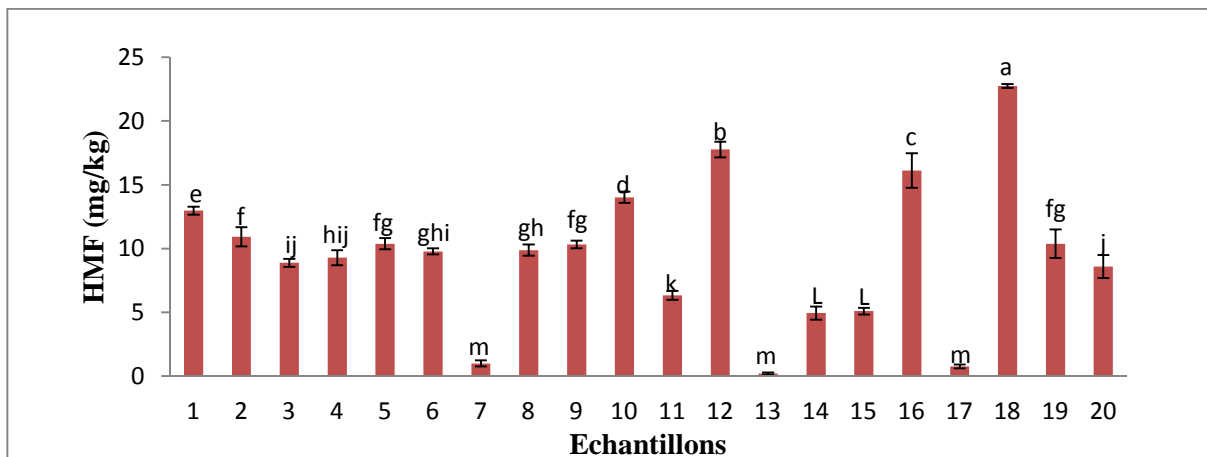


Figure 13: Teneurs en HMF des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

Les teneurs en HMF des miels analysés varient de $0,2 \pm 0,09$ (M13) à $22,75 \pm 0,15$ mg/kg (M18). Cet intervalle est inférieur à la norme recommandée (40 mg/ kg), donc ces miels sont frais ou n'ont pas subis de chauffage.

Le M18 présente une différence significative par rapports aux autres miels. Cependant, les miels M13, M17, M7; M6, M8, M9, M19, M5 ; M4, M3, M20 ne présentent pas de différences significatives ($p < 0,05$).

Les résultats obtenus diffèrent de ceux obtenus par Alvarez et *al.*, (2010) pour miels de cuba (3,3 à 15,9 mg /kg), et Khalil et *al.*, (2012) sur les miels Algériens (15,23 à 24,21 mg/kg), Tornuk et *al.*, 2013 (0,03 à 4,12mg/kg) sur les miels Turque et Terrab et *al.*, (2002) (3,2 à 52,6 mg/kg) pour les miels Marocains.

Le contenu en HMF est un indicateur de fraîcheur de miel, pendant le stockage à long terme ou le chauffage peu mener des sucres en HMF (Isla et *al.*, 2011).

III. Antioxydants et activité antioxydante

1. Antioxydants

1.1. Composés phénolique totaux

Le taux de polyphénols totaux, exprimé en mg EAG/100 g, est déterminé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. Les résultats des composés phénoliques obtenus sont représentés dans la figure 14.

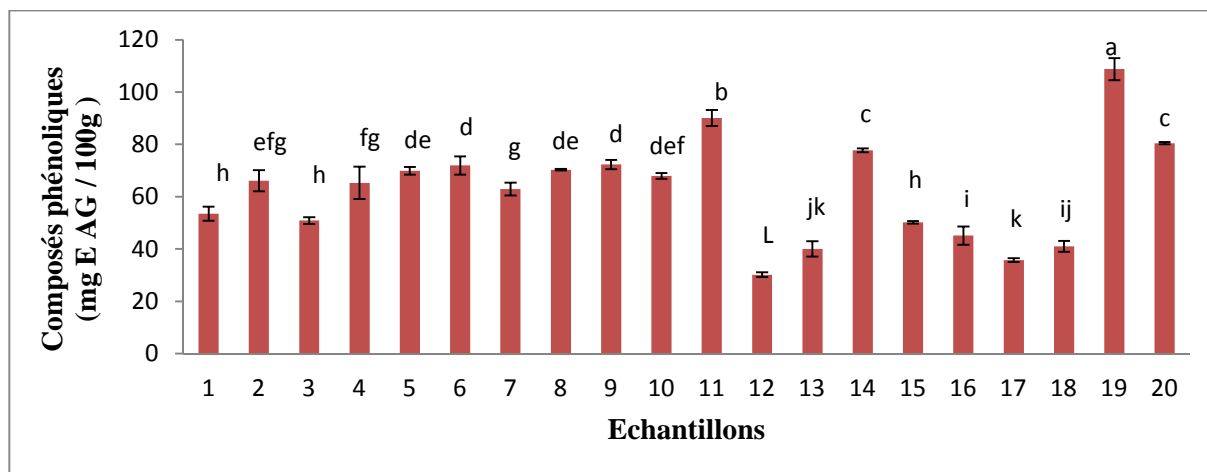


Figure 14 : Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

Les teneurs en composés phénoliques des miels analysés oscillent de $30,19 \pm 0,87$ mg EAG/100g (M12) à $108,75 \pm 4,19$ mg EAG/100g (M19). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Tania et *al.*, (2013) sur les miels de Jandaria (80,2-166,1 mg EAG/100 g) et Islam et *al.*, (2012) sur les miels de Bangladesh (15,24-68,85 mg EAG/100 g). La variation de ces teneurs en polyphénols pourrait être due à l'origine géographique du miel tel que montré par Anklan (1998).

Les échantillons M9, M10 et M8 de Sidi Aich et Remila ainsi que les miels M6, M5 d'Akbou, ne possèdent pas des différences significatives ($p < 0,05$). Cela revient à leurs origines géographiques qui sont proches.

Bien que les miels analysés possèdent des origines géographiques différentes de ceux de Meda, (2005) sur les miels de Burkina Faso (32,59-114,75 mg EAG/100 g), les résultats obtenus sont similaires et ceci peut être expliqué par leurs origine botanique.

1.2. Flavonoïdes

Les résultats des flavonoïdes obtenus sont représentés dans la figure 15.

L'étude des flavonoïdes semble être une technique prometteuse dans l'étude de l'origine botanique et géographique du miel (Elke, 1998). Les résultats obtenus sur les miels analysés varient de $6,48 \pm 0,81$ mg EQ/100 g, pour le miel M12 à $68,07 \pm 3,53$ mg EQ/100 g, pour le miel M19. Les teneurs en flavonoïdes des échantillons analysés sont différentes par rapport à celles trouvées par Meda (2005) sur les miels de Burkina Faso (0,17-8,35 mg EQ/100 g) ; Ferreira et *al.*, (2009) (12,4-58,7) ; Islam et *al.*, (2012) sur les miels de Bangladesh (3,63-15,5 mg EC/

100 g) ainsi que celles obtenues par Can et *al.*, (2015) sur les miels turque (0,65-8,10 mg EQ/100 g). Cette variation est due à la différence de l'origine géographique.

Les miels multif floraux M4, M15 (18,91 mg EQ/100 g) ainsi que les miels d'*Erica* M5, M8 (29,71 mg EQ/100 g) sont similaires ($p < 0.05$). Ceci peut être expliqué par leurs origines botaniques.

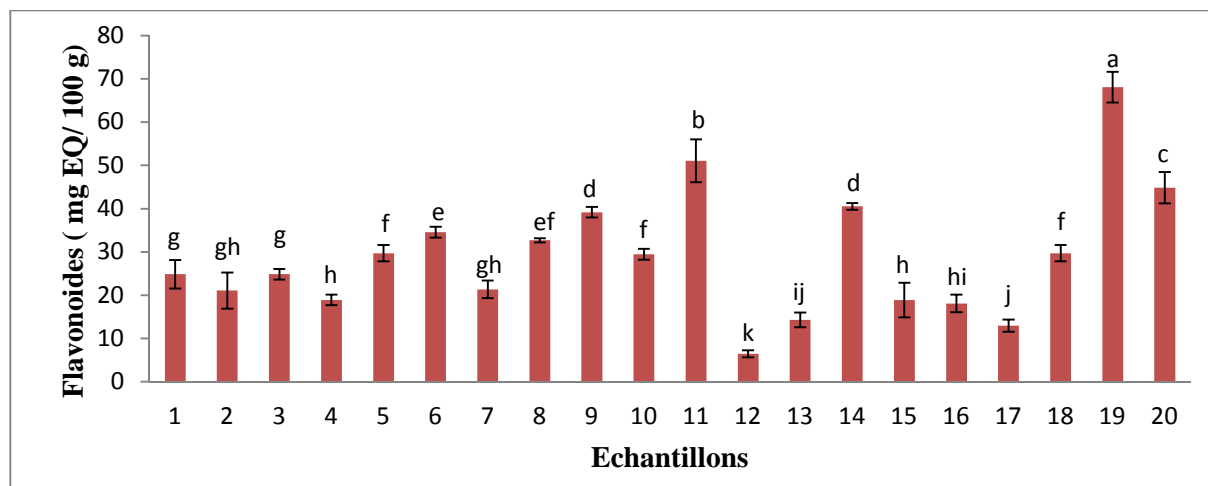


Figure 15 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants $a > b > c > d > e > f > g > h > i \dots$

1.3. Proanthocyanidines

Les résultats des proanthocyanidines obtenus sont représentés dans la figure 16.

Les concentrations en proanthocyanidines des miels analysés varient en moyenne de 522,67 (M12) à 7978,67 mg EC/100 g (M19).

M12, M19, M11, M20, M17 et M13 diffèrent significativement entre eux et par rapport aux autres miels ($p < 0,05$)

Les miels qui ne présentent pas de différences significatives en terme de teneurs en proanthocyanidines sont : M13, M16, M18, M7, M10 ; M18, M7, M10, M1, M3, M4 ; M7, M10, M10, M1, M3, M4 et M15.

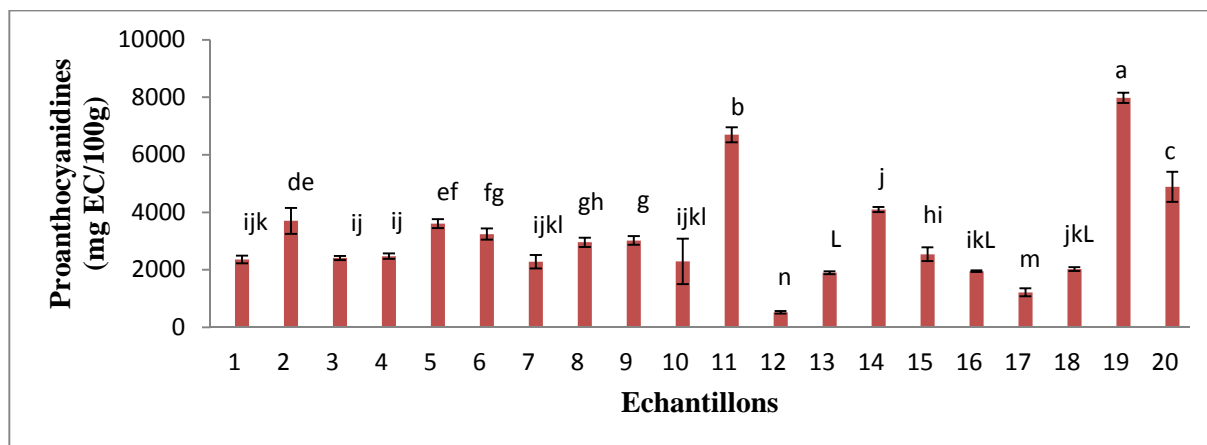


Figure 16 : Teneurs des proanthocyanidines des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

2. Activités antioxydantes

2.1. Activités antiradicalaires

2.1.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH

Les pouvoirs scavenger du radical DPPH obtenus sont résumés sur la figure 17.

Le radical de DPPH est l'une des molécules les plus utilisées pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical et simplicité d'analyse (Doukani et *al.*, 2014).

Les résultats obtenus qui varient de $28,52 \pm 1,12$ % pour le miel M12 ayant la teneur la plus faible en composés phénoliques totaux à $84,16 \pm 0,9$ % pour le miel M19 ayant la teneur la plus élevée en composés phénoliques totaux. Ces deux échantillons sont de point de vue statistique différents par rapport aux autres échantillons ($p < 0.05$).

Les miels M12 d'Ibourassen et M17 de sidi ali lebhar ne présentent pas de différences significatives au seuil de 5 %, ce qui peut être du à leurs origines géographiques qui sont proches.

Les résultats d'échantillons étudiés sont différents de ceux de Ferreira et *al.*, (2009) sur les miels Portugais (8,4% à 16,9%) ; Islam et *al.*, (2012) sur les miels de Bangladesh (33,6-97,5 %) ; Can et *al.*, (2015) sur les miels Turque (12,56%-152,40%) ainsi que Noor et *al.*, (2014) sur les miels de Pakistan (30,5%-77,43%). Cependant, ils sont proches de ceux déterminés par Alvarez-Suarez, (2012) (38,15-58,4%).

L'activité antioxydante du miel dépend en grande partie de la composition chimique (les polyphénols, flavonoïdes...Ets) aussi bien de leur origine (Noor et *al.*, 2014)

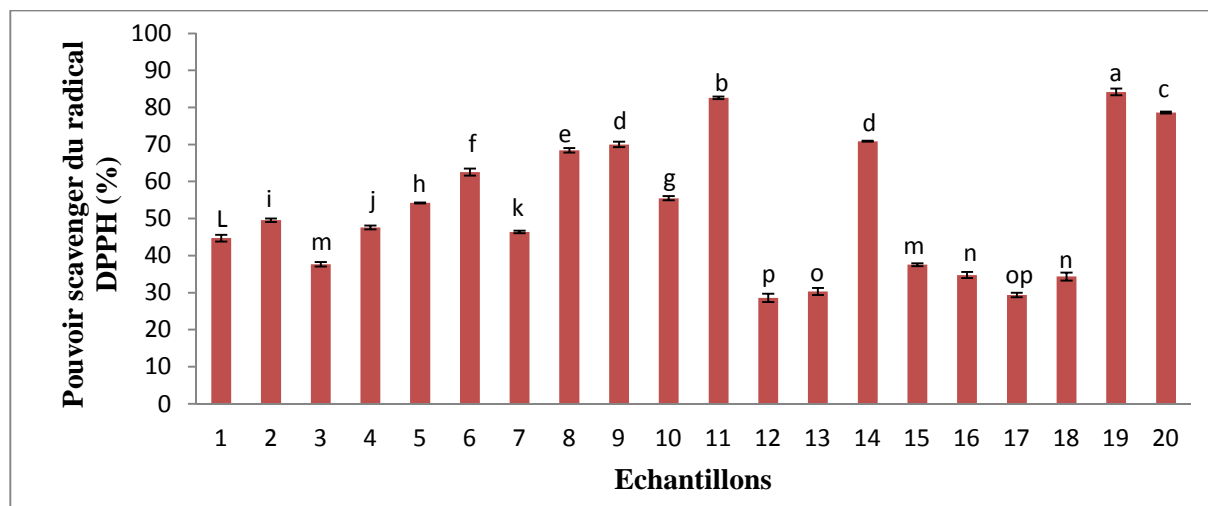


Figure 17 : Pouvoir scavenger du radical DPPH des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

2.1.2. Pouvoir scavenger du radical ABTS

D'après les résultats obtenus (figure 18), le pouvoir scavenger de l'ABTS exercé par les différents échantillons analysés varie de $2,10 \pm 1,54\%$ (M12) à $54,56 \pm 0,93\%$ (M19). Ces derniers échantillons diffèrent significativement par rapport aux autres miels ($p < 0,05$). Ces résultats obtenus diffèrent de ceux obtenus par Wilczynska et *al.*, (2014) sur les miels de Pologne (6 à 79%) et Habib et *al.*, (2014) (65,25 à 80,62%). Ces différences d'activités peuvent être interprétées par leurs origines ainsi leurs composition chimique en particulier les composés phénoliques et les flavonoïdes qui diffèrent d'un échantillon à un autre.

Les miels de Remila M10 et M8 ainsi que les miels d'Akbou M5 et M6 n'ont pas présenté de différences significatives ($p < 0,05$) et ceci peut être due au fait qu'ils sont récoltés dans la même région.

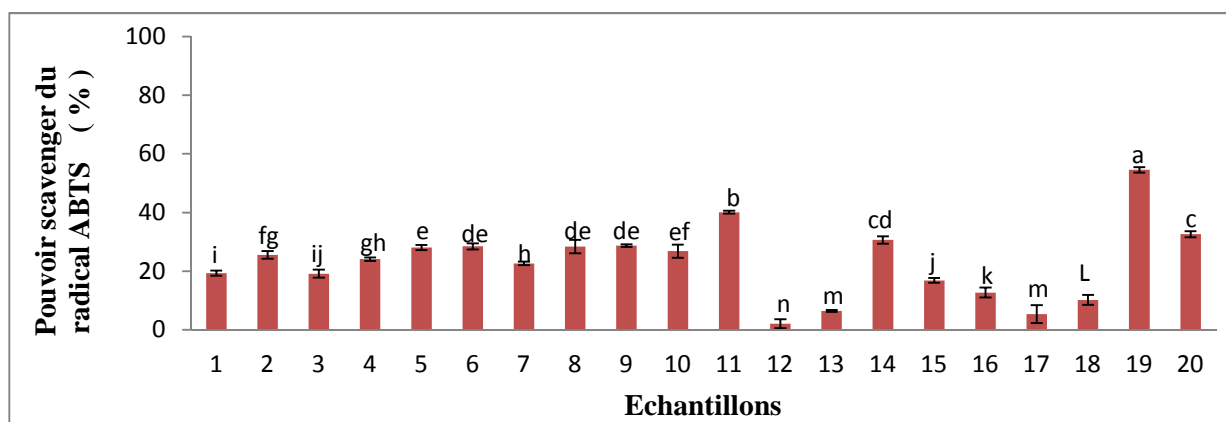


Figure 18 : Pouvoir scavenger du radical ABTS des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

2.1.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle (OH^\bullet)

Les résultats du pouvoir scavenger du radical hydroxyle sont présentés sur la figure 19.

Les miels analysés ont des capacités scavenging allant de $21,35 \pm 2,33$ % à $75,65 \pm 0,32$ %. Ces capacités d'inhibition sont plus élevées par rapport à celles rapportées par Brunet et *al.*, (2014).

L'échantillon M12 qui à la capacité d'inhibition de la production de OH^\bullet la plus faible ne possède pas de différence significative à $p < 0,05$ avec les miels M17 et M7, aussi le miel M19 qui à la capacité la plus élevée ne présente pas de différence significative à $p < 0,05$ avec M20.

Les miels M14, M10, M3, M8, M18, M2 et M5 ne présentent pas de différences significatives à ($p < 0,05$) par rapport aux autres échantillons analysés.

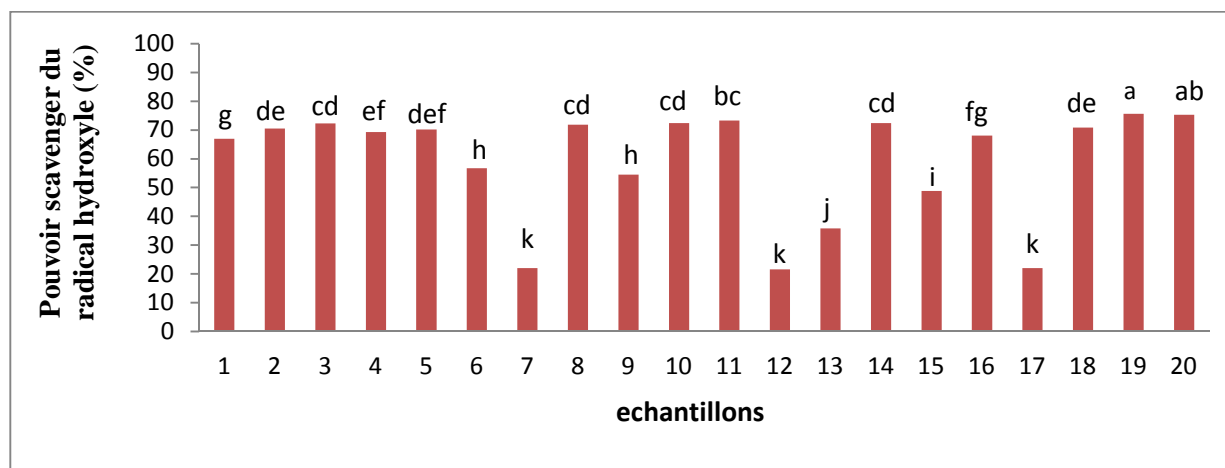


Figure 19 : Pouvoir scavenger du radical hydroxyle des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants $a > b > c > d > e > f > g > h > i \dots$

2.2. Pouvoirs réducteurs

2.2.1. Test FRAP

La pouvoir réducteur, exprimé en mg EAG/100 g, est déterminé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont résumés sur la figure 20.

L'analyse de FRAP mesure la réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) au fer ferreux (Fe^{+2}) en présence des antioxydants.

Le profil de réduction des antioxydants des miels analysés varie de $6,59 \pm 0,57$ mg EAG/100 g (M12) à $49,76 \pm 0,32$ mg EAG/100 g (M19). Cette diversité est due à la différence en origine et composition chimique de ses miels.

M12, M17 sont récoltés dans des régions proches (Ibourassen et sidi ali lebhar) ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

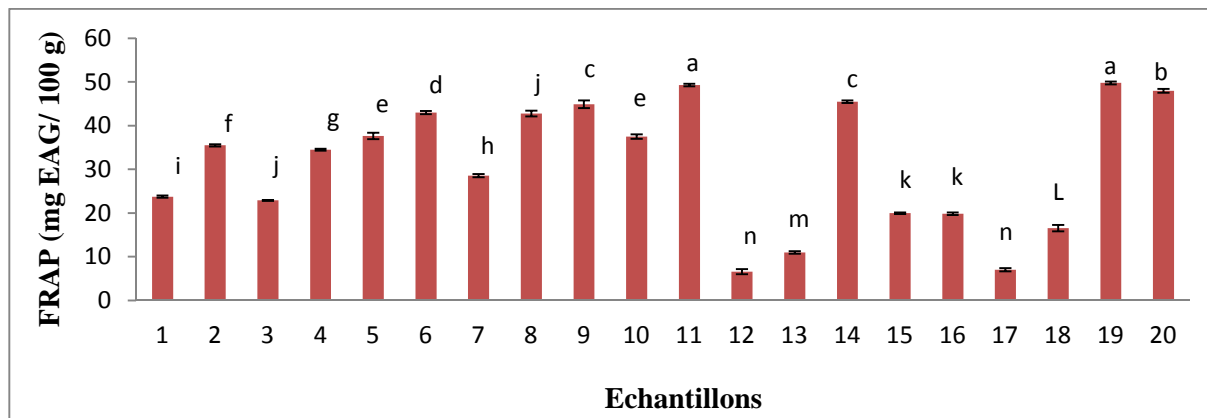


Figure 20 : Pouvoir réducteur par le test FRAP des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype ($n=3$). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants $a>b>c>d>e>f>g>h>i\dots$

2.2.2. Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

Les résultats obtenus du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium sont illustrés sur la figure 21.

Les miels analysés possèdent des pouvoirs réducteurs. La capacité réductrice varie de $1,07\pm 0,25$ mg EAG/100g pour le miel M12 à $30,86\pm 0,48$ mg EAG/100 g pour le miel M19. Ces résultats dévoilent que le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium présenté par les miels diffère d'une région à une autre.

Les échantillons M11 et M20 d'Adekar ne présentent pas de différences significatives à $p<0,05$ et confirment que le pouvoir réducteur dépend de l'origine géographique.

Le miel M19 est l'échantillon le plus puissant en terme de réduction et ceci peut être dû à sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et proline. En revanche les miels M12 et M17 sont pauvres en composés phénoliques, flavonoïdes ainsi la proline et par conséquent ont un faible pouvoir réducteur.

Selon Al-mamary et *al.*, 2002 l'action des composés phénoliques peut être liée à leurs capacités de réduire l'ion ferrique.

Le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Bougandoura et *al.*, 2012).

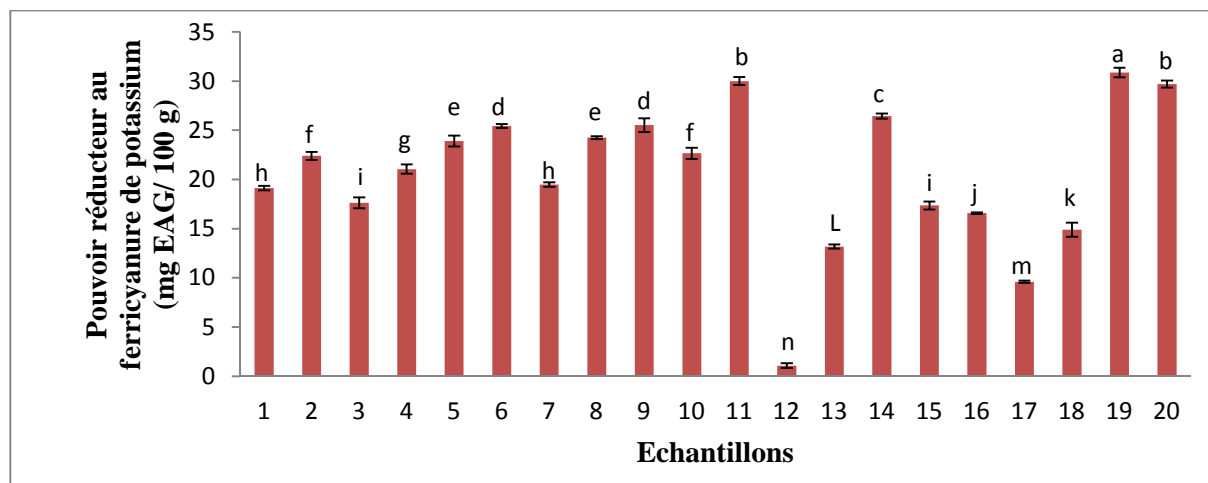


Figure 21: Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

2.2.3. Test au phosphomolybdates

Les résultats obtenus avec le test au phosphomolybdates sont indiqués sur la figure 22.

L'activité antioxydante au phosphomolybdates des miels analysés s'étant de 9488,08 mg EAG/100 g pour M12 à 13570,1 mg EAG/ 100 g pour M19. Les miels M12 et M17 diffèrent significativement par rapports aux autres miels ($p < 0,05$). Tandis que (M17, M13, M18, M16 et M15) ; (M8, M11, M5 et M10) ne diffèrent pas significativement entre eux.

Les capacités réductrices obtenues (9488,08 mg EAG/ 100 g à 13570,1 mg EAG/ 100 g) sont largement supérieures à celles obtenus par Silici et *al.*, (2010) (1276 à 8080 mg EAA / 100 g). La diversité de la capacité antioxydante est due à la qualité et la quantité des composés phénoliques et flavonoïdes mais aussi aux caroténoïdes, acides organiques, enzymes et peptides, ainsi que d'autres composés mineurs (Hegazi et *al.*, 2009).

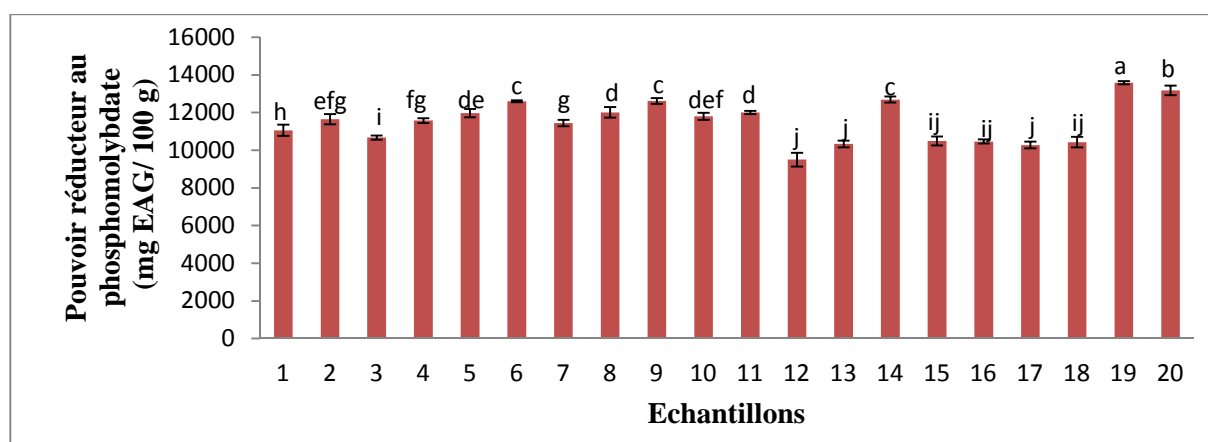


Figure 22 : Pouvoir réducteur au phosphomolybdates des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écartype (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives. Les résultats sont ordonnés d'une façon décroissants a>b>c>d>e>f>g>h>i...

IV. Corrélation entre les paramètres biochimiques et l'activité antioxydante

La matrice de corrélation indique une corrélation très hautement significative entre la couleur et les antioxydants à savoir les composés phénoliques, flavonoïdes, et les proanthocyanidines avec les coefficients de corrélation ($r = 0,98$), ($r = 0,83$) et ($r = 0,88$) respectivement (Annexe V, figure 2). Ces résultats sont affirmés par plusieurs auteurs tel que : Zalibera *et al.*, (2008) avec un coefficient de corrélation ($r = 0,7877$) pour les composés phénoliques. Il n'existe pas de corrélation entre le pH et conductivité électrique comme déjà trouvé par Yucel *et al.*, (2013).

Les antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes et proanthocyanidines) enregistrent des corrélations très hautement significatives avec l'activité antioxydante des échantillons des miels analysés (Annexe V, figure 3) avec les coefficients de corrélations par exemple ($r_{\text{cpt/DPPH}} = 0,91$), ($r_{\text{cpt/ABTS}} = 0,99$), ($r_{\text{cpt/FRAP}} = 0,91$), ($r_{\text{cpt/phos}} = 0,91$), ($r_{\text{cpt/oh}} = -0,71$), ($r_{\text{flav/DPPH}} = 0,90$), ($r_{\text{flav/ABTS}} = 0,90$), ($r_{\text{flav/FRAP}} = 0,81$), ($r_{\text{flav/PR}} = 0,81$), ($r_{\text{flav/phos}} = 0,81$), ($r_{\text{flav/oh}} = -0,81$), ($r_{\text{proanth/DPPH}} = 0,81$), ($r_{\text{proanth/ABTS}} = 0,90$), ($r_{\text{proanth/FRAP}} = 0,79$), ($r_{\text{proanth/PR}} = 0,81$), ($r_{\text{proanth/phos}} = 0,79$), ($r_{\text{proanth/oh}} = -0,88$). Ces résultats sont similaire avec ceux de Brunet *et al.*, (2014) ($r_{\text{flav/PR}} = 0,848$, $r_{\text{flav/DPPH}} = 0,873$, $r_{\text{cpt/DPPH}} = 0,845$, $r_{\text{cpt/PR}} = 0,832$), Zalibera *et al.*, (2008) ($r_{\text{cpt/oh}} = -0,1817$), Wilczyrska, (2014) ($r_{\text{cpt/ABTS}} = 0,88$), Silici *et al.*, (2010) ($r_{\text{cpt/phos}} = 0,866$), Suarez *et al.*, (2010) ($r_{\text{flav/ABTS}} = 0,8315$).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

La présente étude a permis de connaître l'origine botanique de 07 miels, l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques, la composition chimique ainsi que certaines activités antioxydantes de vingt échantillons de miel obtenus de différentes régions d'Algérie.

L'analyse pollinique a révélé que quatre miels sont multif floraux tandis que les trois autres sont monofloraux (Caprifoliacées, *Eucalyptus*, Eucryphiacées).

Les résultats physico-chimiques des miels analysés ont montré que :

l'humidité varie de 11,56 à 19,5 %. Le brix est compris entre 78,8 et 86,5 %. Les teneurs en pH oscillent de 3,51 à 4,88. La conductivité électrique est comprise entre 0,38 à 1,46 ms / cm. La couleur enregistre des valeurs allant de 0,123 à 1,382 nm. Les teneurs en protéines et en proline oscillent de 23,99 à 178,43 mg EBSA /100 g et 209,53 à 910,36 mg /kg, respectivement. Les miels analysés renferment des teneurs en HMF allant de 0,2 à 22,75 mg / kg et le pouvoir rotatoire est compris entre -7,01 à -1,24.

Concernant les antioxydants, les valeurs obtenues sont variables d'un échantillon à un autre. Les teneurs en composés phénoliques totaux sont comprises entre 30,19 et 108,75 mg EAG/100 g. Les taux en flavonoïdes oscillent de 6,48 à 68,07 mg EQ/100 g. Les concentrations en proanthocyanidines sont comprises entre 522,66 et 7978,66 mg EC/100 g. Le miel multifloral (M19) comporte la valeur la plus élevée en ses trois antioxydants.

Tous les miels analysés exercent des activités antioxydantes vis-à-vis des radicaux DPPH, ABTS et OH, et ont des pouvoirs réducteurs. Les échantillons de miel multifloraux (M19, M14, M11) présentent des teneurs élevées en antioxydants et exercent des activités antioxydantes élevées et cela confirme la corrélation qui existe entre ces deux paramètres.

Il existe plusieurs corrélations entre les différents paramètres étudiés:

- Entre la couleur et les composés phénoliques : $r = 0,98$;
- Entre l'activité antioxydante et les polyphénols : avec DPPH ($r = 0,91$) et ABTS

($r = 0,99$).

Tous les miels analysés sont conformes aux différentes normes et législation.

Afin d'améliorer la présente étude, quelques perspectives sont proposés :

- Réaliser différents tests *in vivo* afin d'étudier l'effet cicatrisant de miel.
- Effectuer des analyses polliniques avec des moyens plus sophistiqués en Algérie.
- Effectuer d'autres tests dans le but de détecter les différentes contaminations que le miel risque d'avoir.
- Caractériser par HPLC-MS et GC/MS les différents antioxydants des miels étudiés.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Achat S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat de Biologie en Sciences Alimentaires. Université Abderrahmane Mira. Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaïa, p.11.
- Ajlouni S et Sujirapinyokul P. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chem.* 119, 1000-1005.
- Al ML, Daniel D, Moise A, Bobis O, Laslo L et Bogdanov S. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chem.* 112, 863-867.
- Aljadi AM et Kamaruddin MY. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.* 85, 513-518.
- Al-Mamary M, Al-Meerri A et Al-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.* 22, 1041–1047.
- Alqarni AS, Owayss AA et Mohamed AA. (2012). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arab. J. Chem.* (In press).
- Alvarez-Suarez JM, Tulipani S, Diaz D, Estevez Y, Romandini S, Giampieri F, Damiani E, Astolfi P, Bompadre S et Battino M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2490-2499.
- Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., Gonzalez-Paramas A.M., Damiani E., Astolfi P., Martinez-Sanchez G., Bompadre S., Quiles J. L., Santos-Buelga C., Battino M. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food Chem. Toxicol.* 50, 1508-1516.
- Amiot M J, Auber S, Gonnet M et Tacchini M. (1989). Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie.* 20(2), 115–125.
- Amri A. (2006). Evaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de Magistère de Biologie en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Annaba, pp. 33-51.
- Anklam E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and Botanical origin of honey. *Food Chem.* 63 (4), 549–562.
- Anupama D, Bhat KK et Sapna VK. (2003). Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Res. Int.* 36, 183-191.
- Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A et Legret P. (1994). Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *J. Pharm. Belg.* 49(6), 462-468.
- Azeredo LDC, Azeredo M AA, De Souza SR et Dutra VM L. (2003). Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80, 249–254.

- Baroni MV, Arrua C, Nores ML, Fayé P, Díaz MDP, Chiabrando GA et Wunderlin DA. (2009). Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food Chem.* 114, 727-733.
- Bath P K et Singh N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chem.* 67, 389-397.
- Belay A, Solomon WK, Bultossa G, Adgaba N et Melaku S.(2013). Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chem.* 141, 3386–3392.
- Belyagoubi N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat de Biologie en Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Tlemcen, pp. 34-35.
- Benazzouz Leila. (2005). Etude des interactions protéines – polyphénols. Etude de cas : extrait de *Nigella sativa* L. avec la protéine Sérum Albumine Bovine. Mémoire de Magistère de Biologie en Biologie Physico-Chimique. Université Abderrahmane Mira Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Béjaïa, p.42.
- Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M et Facino RM. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta.* 553, 185-191.
- Bogdanov S, Bieri K, Figar M, Figueiredo V, Iff D, Känzig A, Stöckli H et Zürche K. (1995). Miel: définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. Centre Suisse de Recherches Apicoles. 1-26.
- Bogdanov S, Martin P, Lüllman C, Borneck R, Morlot M, Heritier J, Vorwohl G, Russmann H, Persano-Oddo L, Sabatini A G, Marcazzan G L, Marioleas P, Tsigouri A, Kerkvliet J, Ortiz A et Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of The European Honey Commission. *Apidologie* . 1–59.
- Bogdanov S, Bieri K, Kilchenmann V, Gallmann P, Pollenanalyse I F et Kehrsatz. (2005). Miels monofloraux suisses. Centre Suisse de recherches apicoles. 1-55.
- Bougandoura N et Bendimerad N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. *Nat. Technol.* 14-19.
- Boussahel S. (2011). Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magistère de Biologie et Physiologie végétale en Valorisation des ressources végétales. Université Ferhat Abbes Faculté des sciences, Sétif, pp.15-16.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72, 248-254.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME et Berset C. (1995). Use of a free radical method of evaluate antioxidant activity. *Academic Press Lmd.* 28, 25-30.
- Brunet JC, Cetkovi G, Saponjac VT, Stajcic S, Vulic J, Djilas S, Stajner D et Popovic B.(2014). Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Ind.Crop. Prod.* 62, 1-7.

- Cavia M M, Fernandez-Muino M A, Alonso-Torre SR, Huidobro J F et Sancho M T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chem.* 100, 1728–1733.
- Chouia A. (2014). Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire de Magistère de Biologie en Biochimie Appliquée. Université Mohamed Khider, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Biskra, pp.6-7.
- Cimpoi C, Hosu A, Miclaus V et Anitta Puscas. (2013). Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochim. Acta.* 100, 149–154.
- Codex Alimentarius (2001). Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, *Revue*, 1(1987) . 2, 1-7.
- Connell OF O, Ryan L et Brien N M O. (2007). Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables. *Nutr Res.* 27, 258-264.
- Cushnie T P Tim et Andrew J Lamb. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob Agents.* 26, 343–356.
- Dailly H. (2010). Cristallisation du miel, le savoir et le faire, revue « Technique ». 3, 24-28.
- Delphine I. (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées, p.6.
- Doukani K, Tabak S, Derriche A et Hacini Z.(2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Rev. Ecol. Environ.* 10, 37-46.
- Dutta D, Chaudhuri U R et Chakraborty R. (2005). Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *Afr. J. Biotechnol.* 4 (13), 1510-1520.
- Erel O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.* 37, 277-285.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Ferreira I C F R, Aires E, Barreira J C M et Estevinho L M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chem.* 114, 1438-1443.
- Flores M S R, Escuredo O, Seijo M C. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chem.* 166, 101-106.
- Gidamis A B, Chove B E, Shayo N B, Nnko S A et Bangu N T. (2004). Quality Evaluation of Honey Harvested From Selected Areas in Tanzania With Special Emphasis on Hydroxymethyl Furfural (HMF) Levels. *Plant Foods Hum. Nutr.* 59, 129–132.
- Gilles A. (2011). Botanique apicole, production du nectar et pollen. Ecole d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, 1-11.

- Gomes S, Dias L G, Moreira L L, Rodrigues P et Estevinho L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food Chem. Toxicol.* 48, 544-548.
- Gülçin İ, Oktay M, Kirreççi E et Küfrevioğlu Ö I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem.* 83, 371-382.
- Gülçin İ, Alici H A et Cesur M. (2005). Determination of *in Vitro* Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. *Chem. Pharma. Bull.* 53 (3), 281-285.
- Habib H M, Al Meqbali F T, Kamal H, Souka U D et Ibrahim W H. (2014). Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. *Food Chem.* 153, 28–34.
- Havsteen B H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.* 96, 67-202.
- Hegazi A G et El-Hady F K A. (2009). Influence of honey on the suppression of human low density lipoprotein (LDL) peroxidation *in vitro*. 6 (1), 113-121.
- Hennebelle T, Sahpaz S et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.* 1, 3-6.
- Hoyet C. (2005). Le miel: De la source à la thérapeutique. Thèse de pharmacie en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Poincaré de Nancy 1, pp.17-37.
- Huchet E, Coustel J et Guinot L. (1996). Les constituants chimiques du Miel. Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment. 2^{ème} Edition. OPIDA, pp.168-172.
- Isla M I, Craig A, Ordonez R, Zampini C, Sayago J, Bedascarrasbure E, Alvarez A, Salomon V et Maldonado L. (2011). Physico-chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Sci. Technol.* 44 (9), 1922-1930.
- Islam A, Khalil I, Islam N, Moniruzzaman M, Mottalib A, Sulaiman S A et Gan S H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complement. Altern. Med.* 12, 177.
- Karaman S, Yilmaz M T et Kayacier A. (2011). Simplex lattice mixture design approach on the rheological behavior of glucomannan based salep-honey drink mixtures: An optimization study based on the sensory properties. *Food Hydrocoll.* 25, 1319-1326.
- Khalil M I, Moniruzzaman M, Boukraâ L, Benhanifia M, Islam M A, Islam M N, Sulaiman SA et Gan S H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules.* 17(9), 11199–11215.
- Lavoine N, Desloges I, Dufresne L et Bras J. (2012). Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydr. Polym.* 90, 735–764.
- Lazarevic K B, Andric F, Trifkovic J, Tešic Z et Milojkovic'-Opsenica D. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chem.* 132, 2060-2064.
- Lequet L. (2010). Du Nectar au Miel de Qualité: Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université

Claude-Bernard Lyon I, France, pp.46-121.

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

Louveaux J, Maurizio A et Vorwohl G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*. 59, 139–157.

Makhloufi C, Schweitzer P, Azouzi B, Persano Oddo L, Choukri A, Laaredj H et D'Albore G R. (2007). Some properties of Algerian honeys. *Apiacta*. 42, 73–80.

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

Meda A. (2005). Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activités biologiques des miels du Burkina Faso. Thèse de Doctorat de Sciences Biologiques Appliquées. Faculté des Sciences de la vie et de la terre. Université d'Ouagadougou, pp.15-22.

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

Molan P C et Russel K. (1988). Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *J. Api. Res.* 27(1), 62-67.

Moniruzzaman M, Khalil M I, Sulaiman S A et Gan SH .(2012). Advances in the analytical methods for determining the antioxidant properties of honey : A review. *Afr. J. Tradit.* 9(1), 36-42.

Moniruzzaman M, Sulaiman S A, Khalil M I et Gan S H. (2013a). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem. Cent. J.* 7,138.

Moniruzzaman M, Sulaiman S A, Khalil M I et Gan S H. (2013b). Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis Mellifera*. *BMC Complement. Altern. Med.* 13, 43.

Moniruzzaman M, An C Y, Rao P V, Hawlader M N I, Azlan S A B, Sulaiman S A et Gan S H. (2014). Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography: Determination of Antioxidant Capacity. *BioMed. Res. Int.* 1-11.

Mutsaers M, Blitterswijk H V, Leven L V, Kerkvliet J et van de Waerd J. (2005). Produits de l'apiculture : propriétés, transformation et commercialisation. Série Agrodok N° 42.

Nair S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran, p. 28-43.

Naithani V, Nair S et Kakkar P. (2006). Decline in antioxidant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Res. Int.* 39, 176-181.

Nanda V, Sarkar B C, Sharma H K et Bawa A S. (2003). Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *J. Food Composit. Anal.* 16, 613–619.

- Noor N, Sarfraz R A, Ali S et Shahid M. (2014). Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys. *Food Chem.*143, 362–366.
- Ouchemoukh S. (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biocimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaia, pp.21-90.
- Pietta P G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035-1042.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K et Defraigne J O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr Clin. Métab.* 16, 233-239.
- Puppo A. (1992). Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by fenton-type reactions; influence of the iron chelator. *Phytochemistry.* 31(1), 85-88.
- Ré D B, Nafia I, Nieoullon A, Kerkerian Le Goff L et Had-Aissouni L. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implication sur la survie neuronale. *Ann.Fr. Anesth. Réanim.* 24, 502-509.
- Ribéreau-Gayon P. (1968). Propriétés chimiques des phénols. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Edition : Dunod. Paris, p. 254.
- Rosa A, Tuberoso C I G, Atzeri A, Melis M A, Bifulco E et Dessì M A. (2011). Antioxidant profile of strawberry tree honey and its marker homogentisic acid in several models of oxidative stress. *Food Chem.* 129, 1045–1053.
- Rossant A. (2011). Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université de Limoges, pp. 56-57.
- Sanz M L, Gonzalez M, Lorenzo C, Sanz J et Martinez-Castro I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem.* 91, 313- 317.
- Saxena S, Gautam S et Sharma A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem.* 118, 391-397.
- Schramm D D, Karim M, Schrader H R, Holt R R, Cardetti M et Keen CL. (2003). Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human Subjects. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1732- 1750.
- Serem J S et Bester M J. (2012). Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food Chem.* 133, 1544–1550.
- Servais S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : effets de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon-1, p.31.
- Silici S, Sagdic O et Ekici L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chem.* 121, 238-243.
- Silva L R, Videira R, Monteiro A P, Valentao P et Andrade PB. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral content. *Microchem.j.* 93, 73-77.

Silva T M S., Santos F P D, Evangelista-Rodrigues A, Silva E M S, Silva G S, Novais J S, Santos F A R et Camara C A. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of janda'ra (*Melipona subnitida*) honey. J.Food Compos. Anal. 29, 10–18.

Terrab A, Recamales A F, Hernanz D et Heredia F J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. Food Chem. 88, 537–542.

Tojonirina R R. (2008). Caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de quelques variétés de miel de Madagascar. Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie appliquée aux sciences de l'alimentation et de la nutrition. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, p.3.

Tornuk F, Karaman S, Ozturk I, Toker O S, Tastemur B, Sagdic O, Dogan M et Kayacier A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. Ind. Crop. Prod. 46, 124–131.

Weston R J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey. Food Chem. 71, 235-239.

Wilczynska A. (2014). Effect of filtration on color, antioxidant activity and total phenolics of honey. Food Sci Technol. 57, 767-774.

Yaiche A H et Khali M. (2014). Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. Afr. Sci. 10(2), 127 –136.

Yilmaz M T, Tatlisu N B, Toker O S, Karaman S, Dertli E, Sagdic O et Arici M. (2014). Steady, dynamic and creep rheological analysis as a novel approach to detect honey adulteration by fructose and saccharose syrups: Correlations with HPLC-RID results. Food Res. Int. 64, 634–646.

Yucel Y et Sultanoglu P. (2013). Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. Food Biosci. 1, 6 -25.

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

Can Z, Yildiz O, Sahin H, Turumtay E A, Silici S et Kolayli S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chem. 180, 133–141.

Zhou J, Li P, Cheng N, Gao H, Wang B, Wei Y et Cao W. Protective effects of buckwheat honey on DNA damage induced by hydroxyl radicals. Food Chem. Toxicol. 50, 2766–2773.

Référence électronique

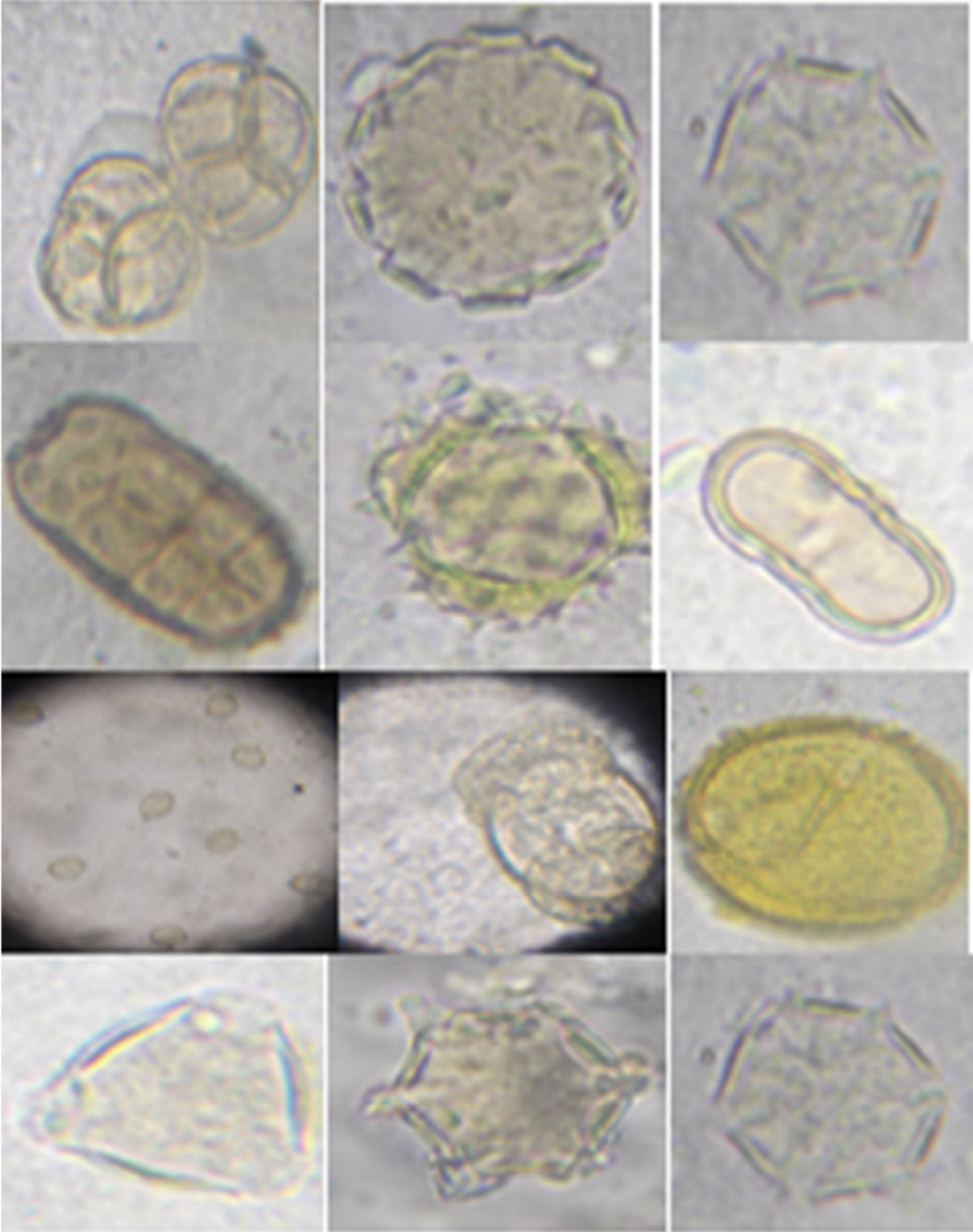
Anonyme, 2015. Accès Juin 2015.
<http://www.fiche récolte de miel.com>.

ANNEXES

Annexe I : Composition moyenne du miel (Huchet, 1996).

Constituants		Pourcentage %	Remarques
Eau		17	Exception : le colza
Glucides	Fructose	38,2	
	Glucose	31,3	
	Saccharose	1,3	
	Disaccharide réducteur	7,3	
	Sucre supérieur	1,5	
	Autres dérivés glucidiques (acide lactone)	0,6	
Acidité totale en acide gluconique		0,57	acide gluconique formé à partir du glucose par une glucose-oxydase
Cendres		0,17	Miels de miellat
Protides		Négligeables	
Présence d'enzymes			B et α amylase, saccharase
Vitamines		peu	Essentiellement les vitamines B
Minéraux, Lipides		Peu	

Annexe II : Photographies de quelques formes de pollens trouvés dans les sept miels analysés.



Annexe III : Table de CHATAWAY.

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

Annexe IV : Courbes d'étalonnages.

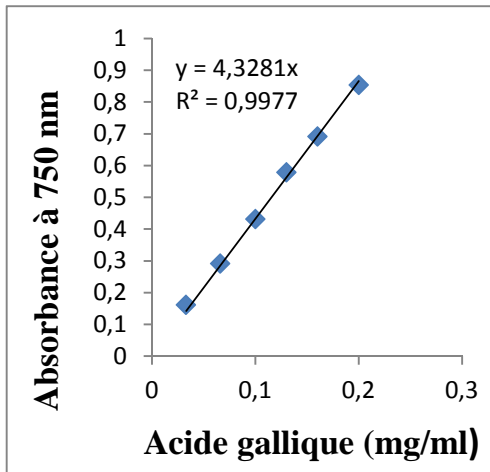


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

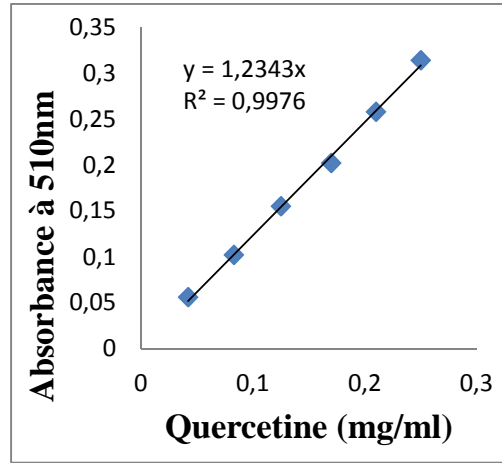


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

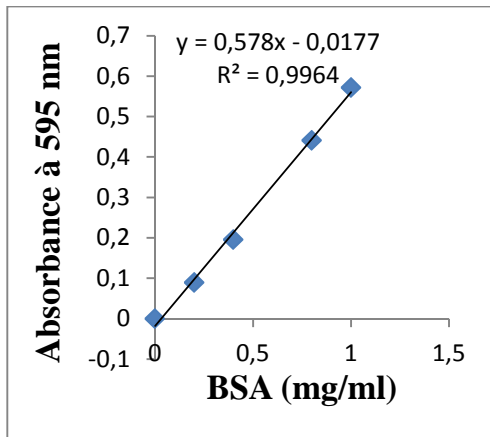


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des protéines.

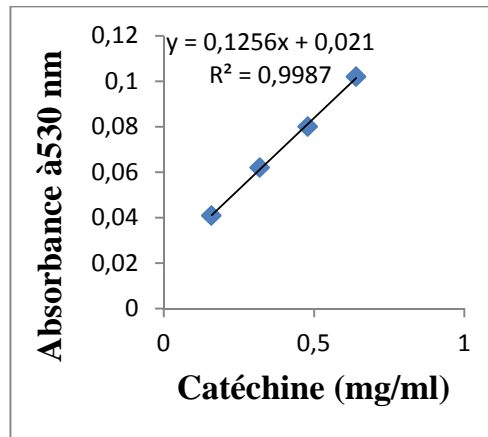


Figure 4 : Courbe d'étalonnage des Proanthocyanidines.

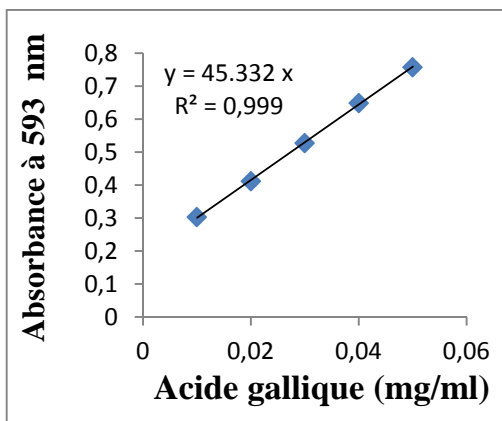


Figure 5 : Courge d'étalonnage pour le test FRAP.

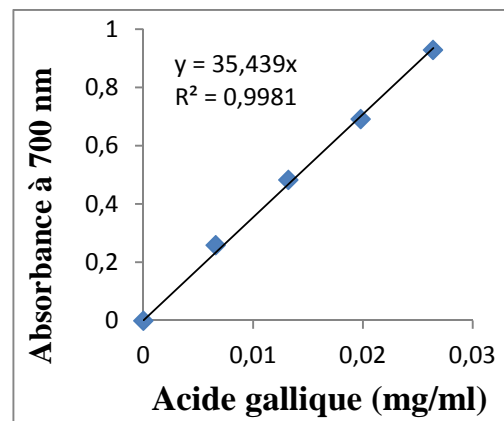


Figure 6 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.

Annexe V :Corrélations

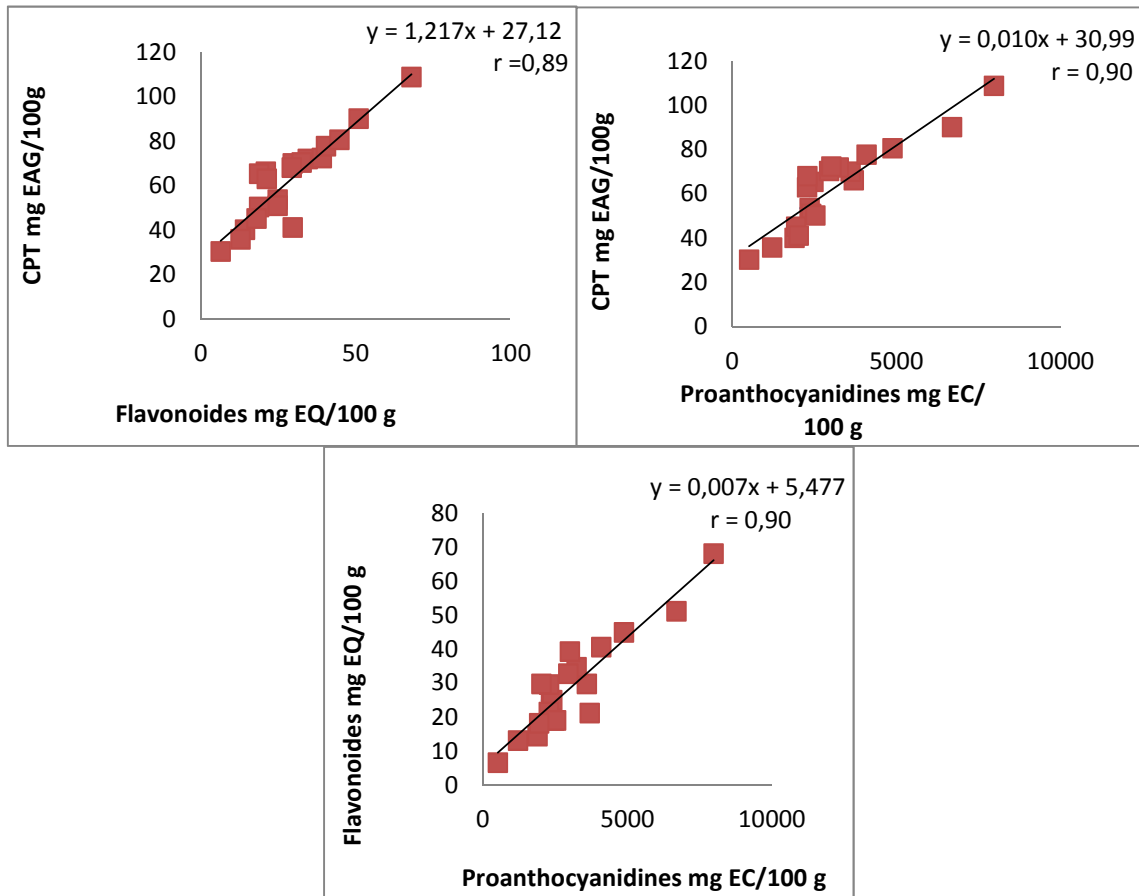


Figure 1 : Corrélation entre les antioxydants.

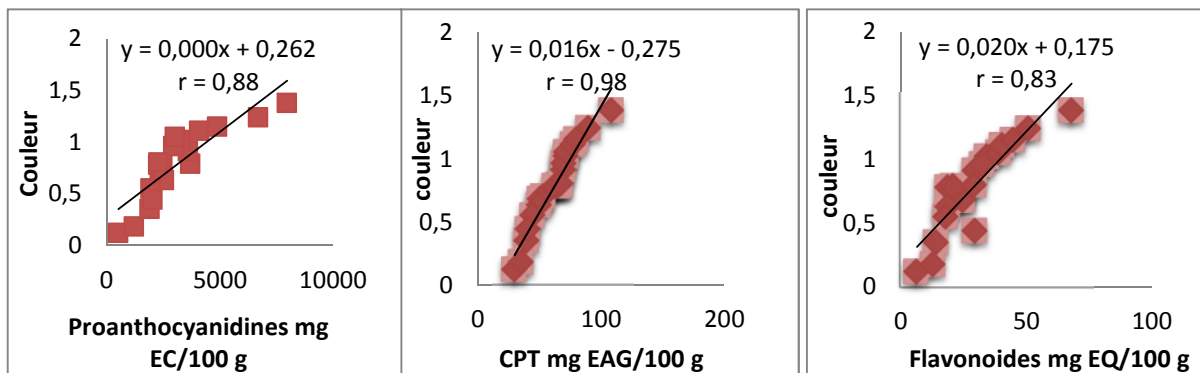


Figure 2 : Corrélation entre la couleur et les antioxydants.

Annexe V :Corrélations (suite)

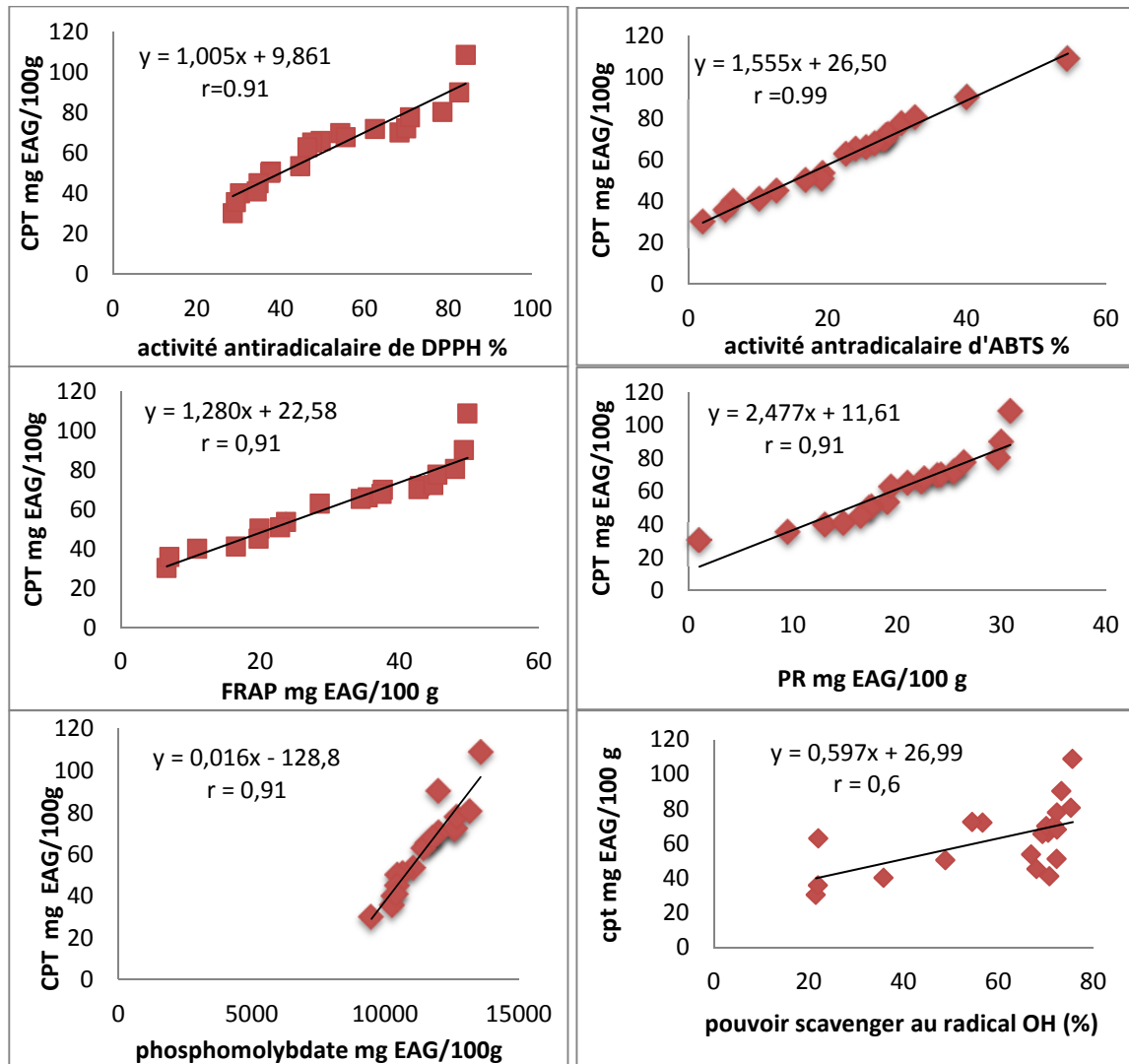


Figure 3 : Corrélations entre les polyphénols et l'activité antioxydante.

Annexe VI : Matrices de corrélation

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .05000$ N=60 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMID	BRIX	PH	CE	PO_RO	COULEUR	PROT	PROLINE	HMF	CPT	FLAV	PROAN	DPPH	ABTS	FRAP	PR	OH	PHOSPHO	
HUMID	1.0																		
BRIX		1.0																	
PH			1.0																
CE				1.0															
PO_RO					1.0														
COULEUR						1.0													
PROT							1.0												
PROLINE								1.0											
HMF									1.0										
CPT										1.0									
FLAV											1.0								
PROAN												1.0							
DPPH													1.0						
ABTS														1.0					
FRAP															1.0				
PR																1.0			
OH																	1.0		
PHOSPHO																			1.0

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

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .01000$ N=60 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMID	BRIX	PH	CE	PO_RO	COULEUR	PROT	PROLINE	HMF	CPT	FLAV	PROAN	DPPH	ABTS	FRAP	PR	OH	PHOSPHO	
HUMID	1.0																		
BRIX		1.0																	
PH			1.0																
CE				1.0															
PO_RO					1.0														
COULEUR						1.0													
PROT							1.0												
PROLINE								1.0											
HMF									1.0										
CPT										1.0									
FLAV											1.0								
PROAN												1.0							
DPPH													1.0						
ABTS														1.0					
FRAP															1.0				
PR																1.0			
OH																	1.0		
PHOSPHO																			1.0

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

Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < .00100$ N=60 (Suppression des observ. à VM)																		
Variable	HUMID	BRIX	PH	CE	PO_RO	COULEUR	PROT	PROLINE	HMF	CPT	FLAV	PROAN	DPPH	ABTS	FRAP	PR	OH	PHOSPHO	
HUMID	1.0																		
BRIX		1.0																	
PH			1.0																
CE				1.0															
PO_RO					1.0														
COULEUR						1.0													
PROT							1.0												
PROLINE								1.0											
HMF									1.0										
CPT										1.0									
FLAV											1.0								
PROAN												1.0							
DPPH													1.0						
ABTS														1.0					
FRAP															1.0				
PR																1.0			
OH																	1.0		
PHOSPHO																			1.0

Figure 3 : Corrélation significative marquées à $p < 0,001$.

Rouge : il existe une corrélation Noir : il n'existe pas de corrélation.

Résumé

Vingt échantillons de miel sont analysés pour déterminer leurs paramètres physico-chimiques (humidité, brix, pH, conductivité électrique, pouvoir rotatoire, couleur, protéines, proline et HMF) leurs origines botaniques, et leurs taux en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes et proanthocyanidines). La plus part des miels analysés sont multif floraux. L'évaluation de leur potentiel antioxydant est aussi effectué par six méthodes : pouvoir scavenger des radicaux DPPH[•], ABTS[•] et OH[•], et les pouvoirs réducteurs (test FRAP, réduction au ferricyanure de potassium, phosphomolybdate). L'humidité et le pH enregistrent des valeurs allant de 11,56 à 19,5 % et de 3,51 à 4,88, respectivement. Le taux en proline et HMF oscillent de 209,9 à 910,36 mg/ kg et 0,2 à 22,75 mg / kg respectivement. Les vingt échantillons sont lévogyres. Les teneurs en antioxydants varient de 30,19 à 108,75 mg EAG/ 100 g pour les polyphénols, de 6,48 à 68,07 mg EQ/ 100 g pour les flavonoïdes et de 522,66 à 7978,66 mg EC/ 100 g pour les proanthocyanidines. Ces différents miels présentent des activités antioxydantes considérables. Le pouvoir scavenger du DPPH[•] varie de 28,58 à 84,16 %, et celui de l'ABTS[•] de 2,1 à 54,56 %. Tous les miels ont présenté des pouvoirs réducteurs et le miel 19 à le meilleur pouvoir scavenger vis-à-vis le radical DPPH[•]. Les antioxydants présentent des corrélations très hautement significatives avec les activités antioxydantes. Ces résultats confirment le rôle antioxydant des miels.

Mots clés : Miel, Antioxydants, Activités antioxydantes, Propriétés physico-chimiques, Analyse pollinique.

Summary

Twenty honey samples were analyzed to determine their physicochemical parameters (Moisture, Brix, pH, electric conductivity, specific rotation, color, proteins, proline and HMF) their botanical origin, and their amounts of antioxidants (polyphenols, flavonoïds and proanthocyanidins). More the share of analyzed honeys are polyfloral. The evaluation of their antioxidant potential is also carried out by six methods: radical scavenging powers of DPPH[•], ABTS[•] and OH[•], and reduction powers (test FRAP, reduction with potassium ferricyanide, phosphomolybdate). Moisture and pH register values that are varying from 11, 56 to 19, 5% and from 3, 51 to 4,88, respectively. The amounts of proline and HMF oscillate from 209, 9 to 910, 36 mg /kg and from 0, 2 to 22,75 mg /kg respectively. The twenty samples are levogyre. The antioxidants contents are varying from 30,19 to 108,75 mg EAG/100 g for polyphenols, from 6,48 to 68,07 mg EQ/100 g for flavonoïds and from 522,66 to 7978,66 mg EC / 100 g for the proanthocyanidines. These various honey present considerable antioxidants activities. The DPPH[•] scavenging capacity varies from 28, 58 to 84, 16%, and for the ABTS, it varies from 2,1 to 54, 56%. All honeys presented reductions capacities and honey 19 with the best capacity scavenger opposite radical DPPH[•]. The antioxidants present highly significant correlations with the antioxidant activities. These results confirm the antioxidants role of honey.

Key words: Honey, Antioxidants, Antioxidants activities, Physicochemicals properties, Pollen analysis.