

UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de

Licence

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

Thème

Effet antimicrobien des extraits phénoliques du miel

Présenté par : ***BOUFAGHES Beida***

MHERIGUE Messaouda

Encadreur : *Dr MERAH Mostefa*

Année universitaire 2010/2011

Dédicaces

*Je dédie ce travail aux
être qui me sont les plus chers au monde, à ce qui m'ont encouragé et qui m'encouragent
toujours pour continuer mon chemin universitaire :
A mes très chers parents **NOUREDDINE** et **NADJET**
A mes chers frères **AMIR** et **ANIS**
A toute ma famille surtout mes oncles **Hichem**, **REDOUANE** et **SAMI**
A mes amies **RIMA**, **KARIMA**, **AMINA**, **CHAHINEZ** et **SARA**
A mes collègues de 3^{ème} année Biochimie
A tous ceux qui ont participé pour que je puisse terminer ce travail.*

Beida



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La prunelle de mes yeux, l'espoir de ma vie

*Celle qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse, a **ma chère mère***

Que dieu la garde

A celui qui m'a toujours appris comment

Réfléchir avant d'agir, à celui qui m'a soutenu tout au long de ma vie scolaire, à celui qui

*N'à jamais épargner un effort pour mon bien, **mon cher père***

(que dieu me le garde)

.Mes chers frères: Adnan, Ahmed lamine, Mouncef, Makram.

Mes chères sœur: Amina, Rawiya, Razika, Nawal, Sassia, sa marie Marwane et pouponne

Ahmed louaye.

Mes chères amies: Sara, Hadjar, Amina, Nadjla, Fatma, Narimane,

Hanna, Assena, Sihame, Sana, Nadjat, Radia.

Ceux que je respecte beaucoup mes Messieurs

Tous les étudiants de la promotion (3 LMD)

L'université Kasdi Merbah OUARGLA.

Et a tous ceux qui connaissent

Massaouda



Remerciements

Nous remercions **ALLAH** le tout puissant pour la force et la patience qui nous a donné à fin de pouvoir terminer notre étude.

Nous adressons nos plus vifs remerciements :

Au docteur **MERAH** qui nous a permis de réaliser ce travail sous sa direction.

A mesdemoiselles **HAMMOUDI Rokaia** et **BOUDERHEM Amel** pour leur aides et conseils et leur soutien moral pour nous.

A monsieur **BAHI** pour son aide.

Nous remercions également les techniciens du laboratoire qui nous ont facilité la tâche, et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour achever ce mémoire.



Résumé

Le miel entreposé dans les ruches provient d'une transformation et d'une concentration du nectar récolté sur les fleurs. Il contient de nombreux composés tels que : les sucres, les protides, les enzymes et les composés phénoliques. Grâce aux composés phénoliques et la nature acide, le miel joue un rôle d'inhibition sur les microbes.

Dans notre travail, nous avons testé l'effet antimicrobien de ces composés phénoliques extrait de deux échantillons différents de miel naturel récoltés de deux sites du territoire algérien (miel poly floraux) ; il s'agit de Batna et de Biskra et un échantillon du miel importé de la Chine (Raki).

La dilution des extraits phénoliques est effectuée par l'eau distillée stérile. La méthode des aromagrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques des miels.

Le pouvoir antimicrobien des extraits est testé sur deux souches bactériennes ; il s'agit de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les extraits du miel de Batna montrent la meilleure efficacité contre les souches testées que les deux autres, la souche *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à l'effet des extraits des trois échantillons de miel que la souche *Staphylococcus aureus*.

Les extraits phénoliques de 200 mg sont efficaces que ceux de 100 mg.

Le miel importé a montré également une activité antibactérienne.

Mots clés : effet antimicrobien, miel naturel, miel importé, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, composés phénoliques.

Abstract

Honey stored in hives from a processing and concentration of nectar collected on flowers. It contains many compounds such as sugars, proteins, enzymes and phenolic compounds. With phenolic compounds and acidic nature, honey acts as an inhibition on microorganisms.

In our work, we tested the antimicrobial effect of phenolic compounds extracted from two different samples of honey harvested from two sites of Algeria (poly flower honey), it is of Batna and Biskra and a sample of imported honey from China (Raki).

Dilution of phenolic extracts is performed by sterile distilled water. The method of aromatogram is the technique chosen to determine the antimicrobial activity of phenolic extracts of honey.

The antimicrobial potency of the extracts was tested on two bacterial strains; it is of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

The honey extracts of Batna show the best efficacy against the strains tested the other two, *Pseudomonas aeruginosa* is sensitive to the effect of extracts of three samples of honey that the strain *Staphylococcus aureus*.

The phenolic extracts it to 200 mg are effective as 100 mg.

Imported honey also showed antibacterial activity.

Key words: antimicrobial effect, natural honey, imported honey, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, phenolic compounds.

المخلص

العسل المخزن في الخلايا عبارة عن تحويل وتركيز رحيق الأزهار. يحتوي على العديد من المركبات مثل السكريات، البروتينات، الإنزيمات والمركبات الفينولية. مع المركبات الفينولية والطبيعة الحمضية، يعمل العسل على تثبيط الكائنات الحية الدقيقة.

في عملنا هذا، قمنا بلختبار الأثر التثبيطي للمركبات الفينولية المستخرجة من عينتين مختلفتين من العسل الطبيعي جمعنا من موقعين مختلفين من الجزائر: باتنة وبسكرة وعينة من العسل المستورد من الصين (الراقي).

تم تخفيف المركبات الفينولية بالماء المقطر المعقم بطريقة aromato gramme هو أسلوب اختير لتحديد الأثر التثبيطي للمركبات الفينولية المستخرجة من العسل على الميكروبات.

تم اختبار فاعلية المركبات الفينولية على سلالتين من البكتيريا تتمثل في: *Staphylococcus*

aureus و *Pseudomonas aeruginosa*.

المركبات الفينولية المستخلصة من عسل باتنة هي الأكثر فعالية ضد الميكروبات. السلالة

Pseudomonas aeruginosa حساسة لتأثير المركبات الفينولية المستخلصة من العينات الثلاث مقارنة

aureus *Staphylococcus*.

المركبات الفينولية المستخلصة من 200 ملغ من العسل أكثر فعالية من تلك المستخلصة من

100 ملغ.

أظهر العسل المستورد أيضا الأثر التثبيطي للبكتيريا.

الكلمات الدالة: الأثر التثبيطي، العسل الطبيعي، العسل المستورد، *Staphylococcus aureus*،

Pseudomonas aeruginosa، مركبات فينولية.

Liste des tableaux

| | | |
|---------------------|--|----|
| Tableau 01: | Les principales classes de composés phénoliques..... | 10 |
| Tableau 02: | Activités biologiques des composés polyphénoliques..... | 17 |
| Tableau 03 : | Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique a partir de 100 mg des échantillons étudiés avec la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> | 25 |
| Tableau 04 : | Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique a partir de 100 mg des échantillons étudiés avec la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| Tableau 05 : | Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique a partir de 200 mg des échantillons étudiés avec la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> | 25 |
| Tableau 06 : | Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique a partir de 200 mg des échantillons étudiés avec la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| Tableau 07 : | Résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques des différents échantillons du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> | 27 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Squelette moléculaire de base des Flavonoïdes avec la numérotation classique. | 11 |
| Figure 02 : Les grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques..... | 14 |
| Figure 03 : Squelette moléculaire des chalcones..... | 15 |
| Figure 04 : Squelette moléculaire des flavonones..... | 15 |
| Figure 05 : Squelette moléculaire des flavones..... | 15 |
| Figure 06 : Squelette moléculaire des flavonols..... | 15 |
| Figure 07 : Squelette moléculaire d'isoflavones..... | 16 |
| Figure 08 : Squelette moléculaire des anthocyanidines..... | 16 |

Liste des photos

| | |
|---|----|
| Photo N° 01 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Batna sur <i>Staphylococcus aureus</i> | 26 |
| Photo N° 02 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Biskra sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 26 |
| Photo N° 03 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Batna sur <i>Staphylococcus aureus</i> | 26 |
| Photo N° 04 : Effet des extraits phénoliques de 200 mg du miel de Batna sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 26 |
| Photo N° 05 : Effet des extraits phénoliques de 200 mg du miel de Biskra sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 26 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction | 01 |
| Partie I : Etude bibliographique | |
| 1. Historique..... | 02 |
| 2. Définition du miel..... | 03 |
| 3. Propriétés du miel | 03 |
| 3.1. Propriétés physiques..... | 03 |
| 3.1.1. Propriétés mécaniques..... | 03 |
| 3.1.1.1. Le poids spécifique..... | 03 |
| 3.1.1.2. La viscosité..... | 03 |
| 3.1.2. Propriétés calorifiques..... | 03 |
| 3.1.2.1. La chaleur spécifique..... | 03 |
| 3.1.2.2. La chaleur de dilution..... | 03 |
| 3.1.2.3. La conductibilité thermique..... | 04 |
| 3.1.2.4. L'abaissement du point de congélation..... | 04 |
| 3.1.2.5. La conductibilité électrique..... | 04 |
| 3.1.3. Propriétés optiques..... | 04 |
| 3.1.3.1. Indice de réfraction..... | 04 |
| 3.1.3.2. Pouvoir rotatoire..... | 04 |
| 3.1.3.3. Coloration..... | 05 |
| 3.1.3.4. Fluorescence..... | 05 |
| 3.1.3.5. La cristallisation du miel..... | 05 |
| 3.1.4. Propriétés chimiques..... | 06 |
| 3.1.4.1. pH..... | 06 |
| 3.1.4.2. L'hygroscopicité..... | 06 |
| 4. La composition du miel..... | 06 |
| * L'eau..... | 06 |

| | |
|---|----|
| * Les hydrates de Carbone..... | 06 |
| * Le miel contient aussi des acides..... | 07 |
| * Les matières minérales ou cendres..... | 07 |
| * Les protides..... | 07 |
| * Les lipides..... | 08 |
| * De nombreuses enzymes..... | 08 |
| * D'autres constituants interviennent..... | 08 |
| 1. Les vitamines..... | 08 |
| 2. Les substances aromatiques..... | 08 |
| * Matières pigmentaires..... | 08 |
| 5. Nature et diversité des composés phénoliques..... | 09 |
| 5.1. Généralité..... | 09 |
| 5.1.1. Composés phénoliques ou polyphénols..... | 09 |
| 5.1.2. Les principales classes de composés phénoliques..... | 10 |
| 5.1.2.1. Les acides phénols..... | 10 |
| * Acides hydroxybenzoïques..... | 10 |
| * Acides hydroxycinnamiques..... | 11 |
| 5.1.2.2. Les flavonoïdes de structure C6 – C3 – C6..... | 11 |
| 5.1.2.3. Les tanins..... | 12 |
| 5.2. Les Flavonoïdes..... | 12 |
| 5.2.1. Le concept phytochimique..... | 12 |
| 5.2.2. Biosynthèse, accumulation et classification..... | 13 |
| 5.2.3. Les différentes classes de flavonoïdes..... | 15 |
| * Les chalcones et aurones..... | 15 |
| * Les flavonones..... | 15 |
| * Les flavones..... | 15 |
| * Les flavonols..... | 15 |

| | |
|--|----|
| * Les isoflavones..... | 16 |
| * Les anthocyanes..... | 16 |
| 5.2.4. Rôles, intérêts et propriétés des polyphénols..... | 16 |
| 5.3. Les antioxydants phénoliques..... | 18 |
| 6. Propriétés antimicrobiennes du miel..... | 19 |
| 6.1. L'osmolarité..... | 19 |
| 6.2. L'effet du pH..... | 19 |
| 6.3. Le peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ | 20 |
| 7. le miel et le cancer..... | 20 |
| 8. Les miels toxiques..... | 21 |

Partie II : Etude expérimentale

| | |
|--|----|
| 1. Matériels et méthodes..... | 22 |
| 1.1. Matériel biologique..... | 22 |
| 1.1.1. Extraits phénoliques du miel..... | 22 |
| 1.1.2. Micro-organismes testés..... | 22 |
| 1.2. Méthode d'étude..... | 22 |
| 1.2.1. Isolement des souches bactériennes..... | 22 |
| 1.2.2. Etude du pouvoir antibactérien des extraits..... | 23 |
| 2. Résultats et discussion..... | 24 |
| 2.1. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits..... | 24 |
| 2.2. Discussion..... | 27 |
| Conclusion..... | 29 |
| Références bibliographiques..... | 30 |

Introduction

Introduction

Le miel est une substance sucrée fabriquée par les abeilles à l'aide du nectar des fleurs. Composé à plus de 80 % de glucides, c'est un aliment riche en énergie et relativement pur. En fait, on y retrouve principalement deux sucres : le fructose et le glucose, deux sucres simples qui ne nécessitent aucune digestion et qui sont facilement et directement assimilés par le corps. Le miel contient également une faible quantité de potassium et des traces de quelques autres nutriments.

Le miel est une source alimentaire d'antioxydants. La majorité de ces antioxydants sont des polyphénols. Ces derniers interagissent dans la neutralisation des radicaux libres du corps, permettant ainsi de prévenir l'apparition des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et de certaines maladies neurodégénératives. La quantité et le type de polyphénols trouvés dans le miel varient selon la source florale.

Ce présent travail repose essentiellement sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques de deux échantillons différents de miel naturel récoltés de Batna et Biskra et un échantillon artificiel de la Chine sur deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Partie I

Etude bibliographique

1. Historique

Depuis que les hommes élèvent des abeilles, ils se sont servis d'une manière empirique des produits de la ruche pour un grand nombre d'utilisations autres que leur nourriture : le miel par exemple est une substance antiseptique, antiputrescente ou antigerminative.

D'après Lochhead (1931), c'est l'acidité du miel et la présence d'une quantité importante de sucres qui confèreraient au miel sa valeur antiseptique.

Gundel et Blattner (1934) démontrent l'action cicatrisante du miel sur les plaies et dissocient cette activité d'une action possible de ses diastases (catalase et oxydase).

Franco et Sartori (1940) et Franco (1941), ont établi l'activité anti-bactériostatique et bactéricide du miel sur divers microbes. Ils ont proposé comme explication soit l'action de la teneur en sucres, soit la présence du pollen transformé, soit le rôle du pH.

Ces usages courants en médecine humaine et vétérinaire se sont d'ailleurs transmis jusqu'à nos jours et se retrouvent parfois dans la thérapeutique moderne, par exemple, pour la cicatrisation des plaies. Dans de très nombreux pays on considère encore le miel, à l'heure actuelle, plus comme un médicament que comme un aliment (**REMY CHAUVIN, 1968**).

2. Définition du miel

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

3. Propriétés du miel

Le miel est un produit biologique d'une grande complexité, présentant un certain nombre de propriétés physiques, chimiques et biologiques.

3.1. Propriétés physiques

3.1.1. Propriétés mécaniques

3.1.1.1. Le poids spécifique

Le poids spécifique du miel est fonction principalement de sa teneur en eau. La mesure du poids spécifique au moyen d'un densimètre. On a trouvé une valeur moyenne de 1.4225 à 20°C (DESCOTTES, 2004).

3.1.1.2. La viscosité

La viscosité des miels est une notion très importante. Les trois facteurs principaux qui déterminent la viscosité d'un miel sont la teneur en eau, la température et la composition chimique.

3.1.2. Propriétés calorifiques

3.1.2.1. La chaleur spécifique

Elle a été étudiée par Helvey à l'aide de dilutions de miel de plus en plus fortes. La courbe obtenue varie très peu d'un miel à l'autre, et correspond à 0.54 pour 17% d'eau.

3.1.2.2. La chaleur de dilution

Apparaît lorsqu'on ajoute de l'eau au miel : il y a alors production de chaleur. Par exemple, si un miel normal est dilué jusqu'à la concentration de 3%, chaque gramme aura

produit 5.5 calories. En revanche, un miel déshydraté que l'on dissout dans l'eau absorbe de la chaleur, soit 673 frigories par gramme (LOUVEAUX, 1985 ; PROST, 1987 ; LOUVEAUX, 1968).

3.1.2.3. La conductibilité thermique

La conductibilité thermique du miel s'exprime en calories par cm par seconde par degré (l = la conductibilité) : $L = 1.29 \cdot 10^{-4}$ à 20°C, pour un miel à 20% d'eau et finement cristallisé. Le miel contient d'autant mieux la chaleur qu'il est plus chaud. Très déshydraté il retrouve une bonne conductibilité thermique (HELVEY, 1954).

3.1.2.4. L'abaissement du point de congélation

Selon Stitz et Szigvart (1931) l'abaissement du point de congélation dépend de la proportion de glucose et de lévulose ainsi que de la teneur en saccharose et en dextrines. Sur 10 échantillons de miel, ils ont obtenu un abaissement de 1.42°C à 1.53°C en solution à 15%, et 2.75°C à 3.15°C en solution à 25%.

3.1.2.5. La conductibilité électrique

C'est la propriété du miel à conduire le courant électrique (BONIMOND, 1983). D'après (PROST, 1987) la conductibilité électrique est liée à la teneur du miel en matières minérales. La conductibilité électrique est donnée en $S \cdot cm^{-1}$ (S pour Siemens).

Les miellats ont une conductibilité électrique beaucoup plus élevée que les miels de fleurs, ce qui constitue une méthode de détection des miellats (Vorwohl, 1964a et b).

3.1.3. Propriétés optiques

3.1.3.1. Indice de réfraction

L'indice de réfraction du miel est en fonction de la teneur en eau et en température. Sa mesure au moyen du réfractomètre constitue la méthode la plus rapide et l'une des plus sûres pour évaluer la teneur en eau des miels (DONADIEU, 2004).

3.1.3.2. Pouvoir rotatoire

La majorité des miels sont lévogyres, mais il existe des miels naturels dextrogyres et qui sont parfaitement normaux.

3.1.3.3. Coloration

L'analyse spectrophométrique adoptée par la convention internationale de l'éclairage. Cette méthode permet d'effectuer le classement précis des miels très clairs ou très foncés, difficiles à différencier par les comparateurs visuels.

La couleur des miels est due aux matières minérales qu'il contient. La teneur en cendres des miels est inférieure à 1%, la moyenne étant 0.1%.

La variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit de miels très clairs; les plus foncés étant les plus minéralisés (**BONIMOND, 1983**).

La couleur des miels va du blanc au noir. Elle s'apprécie au moyen de colorimètre et varie selon l'espèce butinée et la rapidité de la sécrétion (Miel clair si sécrétion rapide) (**PROST, 1979**).

3.1.3.4. Fluorescence

Beaucoup de miels présentent une fluorescence plus ou moins importante sous l'action de l'ultraviolet.

Les couleurs de fluorescence des miels sont variables. On sait peu de chose de ce phénomène (**DESCOTTES, 2004**).

3.1.3.5. La cristallisation du miel

La cristallisation des miels est un phénomène très important car c'est de lui que dépend en partie la qualité du miel.

La vitesse de cristallisation des miels est très variable. Elle est en fonction de la composition en sucres, de la teneur en eau, et de la température de conservation (**CHAUVIN, 1986**).

Certains miels cristallisent dans les jours qui suivent la récolte; d'autres restent à l'état liquide pendant des années à la température ordinaire.

La cristallisation se fait à partir de cristaux primaires de glucose qui sont présents dès la récolte et faciles à mettre en évidence en lumière polarisée sous le microscope.

La croissance de ces cristaux aboutit à la formation de deux phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau, les deux phases ne se séparent pas et le miel cristallisé forme un feutrage dont la phase liquide occupe les interstices.

Par contre, si le miel avait au départ une teneur en eau supérieure à 18%, la phase solide se sépare de la phase liquide et forme une épaisse couche au fond du vase.

3.1.4. Propriétés chimiques

3.1.4.1. pH

Le pH du miel va de 3,2 à 5,5, il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellats (**PROST, 1987**).

3.1.4.2. L'hygroscopicité

Un miel à 18% d'eau se trouve en équilibre dans une atmosphère dont l'humidité relative est de 60% (**PROST, 1979**).

4. La composition du miel

Le miel est un produit dont la fabrication demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur sa composition chimique. En schématisant à l'extrême, on pourrait dire que la composition moyenne est la suivante :

- ❖ hydrates de Carbone : 79.5%
- ❖ eau : 17%
- ❖ divers : 3.5%

Il est évident qu'en réalité cette composition est beaucoup plus complexe et d'ailleurs on est loin d'en connaître tous les constituants. En 1962, White, Riethoff, Subers et Kushnir ont tenté de donner la composition moyenne du miel en analysant 490 échantillons en provenance de tous les Etats-Unis. Ils ont pu déterminer la proportion des principaux constituants du miel.

- **L'eau**

Est présente en quantité non négligeable puisque sa teneur moyenne est de 17.2%, mais comme le miel est un produit biologique, cette valeur peut varier. En fait, les abeilles operculent les alvéoles lorsque la teneur en eau avoisine les 18%. De plus, certains aspects de l'eau contenue dans le miel restent un mystère puisque Helvey a montré que la proportion en deuterium de l'eau du miel est sensiblement plus élevée que celle de l'eau ordinaire. On ne sait pas d'où provient cet enrichissement en deuterium.

- **Les hydrates de Carbone**

Constituent la partie la plus importante du miel, mais c'est aussi la plus difficile à analyser. Il s'agit essentiellement de sucres dont le dosage se fait par chromatographie. On trouve des monosaccharides (glucose et lévulose) qui représentent 85% à 95% des sucres du

miel mais c'est le lévulose qui est presque toujours dominant, avec une teneur de 38% du poids du miel, tandis que la teneur en glucose est de 31%.

On y trouve également du saccharose (1.5%) et du maltose (7.5%) ainsi que d'autres sucres présents à l'état de traces : isomaltose, nigérose, turanose, maltulose, isomaltulose, leucrose, kojibiose, néotréhalose, gentiobiose, laminaribiose, mélézitose, erlose, 1-kertose, dextrantriose, raffinose, isopanose, isomaltotétraose, 6-a-glucosylsaccharose, arabogalactomannane, maltotriose, isomaltopentaose, panose, isomaltotriose, 3-a-isomaltosylglucose, centose (**E. Crane, 1980**).

La présence de lévulose et de glucose provient en grande partie de l'action de l'invertase sur le saccharose. En effet, le saccharose est dextrogyre.

Lorsqu'il est hydrolysé, soit par les acides, soit par l'invertase intestinale, on obtient un mélange de quantités équimolaires de D (+) GLUCOSE et de D (-) FRUCTOSE: la lévoration du fructose est donc plus importante que la dextrorotation du glucose, de sorte que le mélange obtenu est lévogyre, ce qui lui a valu le nom de sucre interverti.

Quant à l'origine de la présence des autres sucres, elle est peu connue. Il semblerait que la nature et la quantité des sucres additionnels dépendent de la plante sur laquelle le miel a été récolté.

- **Le miel contient aussi des acides**

Le plus important est l'acide gluconique dont l'origine serait une bactérie appelée gluconobactérie, qui, lors de la maturation du miel, transformerait le glucose en acide gluconique. On y trouve également une vingtaine d'acides organiques comme l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide oxalique, l'acide butyrique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique. On y trouve des traces d'acide formique (un des constituants du venin), d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique.

D'autres composés, les lactones, dont la présence est constante, ont également une fonction acide.

- **Les matières minérales ou cendres**

Ont une teneur inférieure à 1% (elle est en général de l'ordre de 0.1%). On y trouve, dans l'ordre d'importance, du potassium, du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du phosphore, du soufre et du silicium ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent.

- **Les protides**

Sont présents en faible quantité (1.7 gramme par kilogramme de miel soit une

teneur de 0.26%) et la teneur en azote est négligeable (de l'ordre de 0.041%).

Essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléo-protéines qui proviennent soit de la plante, soit de l'abeille. Il y a également des acides aminés libres dont la proline, qui provient des sécrétions salivaires de l'abeille.

- **Les lipides**

Le miel est pauvre en lipides : ceux qu'on y trouve sont probablement des microparticules de cire qui échappent à la filtration (**HUCHET *et al.*, 1996** ; **LOUVEAUX, 1985**), identifie cependant, des glycérides et des acides gras tels que l'acide palmitique, les acides oléïques et linoléïques.

- **De nombreuses enzymes**

Se retrouvent dans le miel : l'invertase, l'a-amylase, la b-amylase, l'a-glucosidase et la glucose-oxydase capable de transformer le glucose en acide gluconique. Le miel contient aussi une catalase et une phosphatase. Ces diastases sont détruites par un chauffage exagéré du miel, qu'il y a donc lieu d'éviter si on veut bénéficier de leur action. Ainsi, leur dosage permet de détecter les fraudes liées au chauffage du miel.

- **D'autres constituants interviennent**

1. Les vitamines

Le miel en est très pauvre. Il s'agit essentiellement de vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9) qui seraient apportées par le pollen.

2. Les substances aromatiques

Ne sont pas importantes quant à leur poids. Les composés sont isolés par les méthodes de chromatographie en phase gazeuse. On dénombre plus de cinquante substances aromatiques qui peuvent permettre l'identification de l'origine des miels, car elles paraissent provenir presque exclusivement de la plante (**HUCHET *et al.*, 1996**).

DONADIEU (1984), ajoute que ces substances donnent l'arôme et le goût spécifique d'un miel déterminé, mais qui ont par ailleurs des vertus thérapeutiques.

- **Matières pigmentaires**

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

LOUVEAUX (1985), ajoute qu'elles sont probables qu'elles appartiennent aux groupes des caroténoïdes et des flavonoïdes.

La coloration est une caractéristique physique très importante des miels car elle est en relation avec l'origine florale et la composition, elle va de l'incolore au noir en passant par le

blanc, le jaune, le brun ambré et le brun vert, en général les miels d'agrumes sont plus clairs que ceux des forêts. (LOUVEAUX, 1985; WEISS, 1985 ; PROST, 1987 ; DJERD, 2008).

Le miel est considéré comme un produit pur. Mais il n'est pas exempt de produits polluants, présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants dans le miel est particulièrement intéressant puisqu'il constitue un bon indicateur de pollution de l'environnement.

5. Nature et diversité des composés phénoliques

5.1. Généralité

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (Macheix *et al.*, 2005).

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Herbert, 1989).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc (Marouf, 2000; Macheix *et al.*, 2005).

5.1.1. Composés phénoliques ou polyphénols

Ils constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthonés et de nouveaux composés sont identifiés continuellement (Marouf, 2000; Hopkins, 2003; Georgé *et al.*, 2005).

Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Alors les composés phénoliques sont une classe qui constitue 8000 composés.

Ils sont divisés en plusieurs catégories:

- les acides phénoliques;
- les flavonoïdes;
- les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes;
- les lignanes avec les isoflavones sont nommés phyto-oestrogènes (SFA, 2005).

5.1.2. Les principales classes de composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau 01) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (Herbert, 1989; Macheix *et al.*, 2005; Beta *et al.*, 2005).

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches.

Tableau 01: Les principales classes de composés phénoliques (Harborne, 1980; Macheix *et al.*, 1990)

| Squelette carboné | Classe | Exemple | origine |
|--|---|---|---|
| C ₆ | Phénols simples | Catéchol | |
| C ₆ - C ₁ | Acides hydroxybenzoïques | <i>p</i> -Hydroxybenzoïque | Epices, fraise |
| C ₆ - C ₃ | Acides hydroxycinnamiques Coumarines | Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine | Citrus Citrus |
| C ₆ - C ₄ | Naphtoquinones | Juglone | Noix |
| C ₆ - C ₂ - C ₆ | Stilbènes | Resvératrol | Vigne |
| C ₆ - C ₃ - C ₆ | Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes | Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine | Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois |
| (C ₆ - C ₃) ₂ | Lingnanes | Pinorésinol | Pin |
| (C ₆ - C ₃) _n | Lignines | | Bois, noyau des fruits |
| (C ₁₅) _n | Tannins | | Raisin rouge, Kaki |

5.1.2.1. Les acides phénols

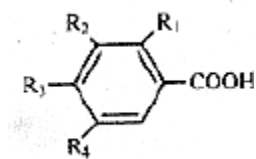
Ce sont des dérivés de benzoïque et acide cinnamique :

- **Acides hydroxybenzoïques**

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆ - C₁. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes.

Les acides hydroxybenzoïques (*p*-hydroxybenzoïques, protocatéchine, vanillique, gallique, syringique, salicyclique, gentisique, etc.) (Guignard, 1974; Guignard *et al.*, 1985).

Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (Bruneton, 1993; Macheix *et al.*, 2005).



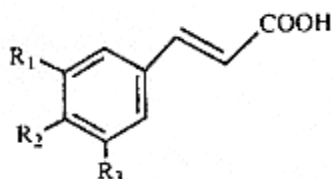
| | |
|--------------------------------|----------------------------------|
| $R_1=R_2=R_3=R_4=H$ | acide benzoïque (non phénolique) |
| $R_1=R_2=R_4=H, R_3=OH$ | acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque |
| $R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$ | acide protocatéchique |
| $R_1=R_4=H, R_2=OCH_3, R_3=OH$ | acide vanillique |
| $R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$ | acide gallique |
| $R_1=H, R_2=R_4=OCH_3, R_3=OH$ | acide syringique |
| $R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$ | acide salicylique |
| $R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$ | acide gentsique |

Acides hydroxybenzoïques

- **Acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆ - C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (Richeter, 1993; Guignard, 1974; Psotova *et al.*, 2003).

Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques l'acide *p*-coumarique (et ses isomères, les acides *o*- et *m*-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique (Macheix *et al.*, 2005).



| | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| $R_1=R_2=R_3=H$ | acide cinnamique (non phénolique) |
| $R_1=R_3=H, R_2=OH$ | acide <i>p</i> -coumarique |
| $R_1=R_2=OH, R_3=H$ | acide caféique |
| $R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$ | acide férulique |
| $R_1=R_3=OCH_3, R_2=OH$ | acide sinapique |

Acides hydroxycinnamiques « phénylpropanoïdes »

5.1.2.2. Les flavonoïdes de structure C₆ - C₃ - C₆

Ce sont à l'origine de la couleur de la nature.

L'ensemble des flavonoïdes de structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆) (Fig. 01) comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes (Harborne, 1980).

Ces composés existent sous forme d'hétérosides (Heller *et al.*, 1998) dont certains ont une très grande importance biologique et technologique: les anthocyanes pigments rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à

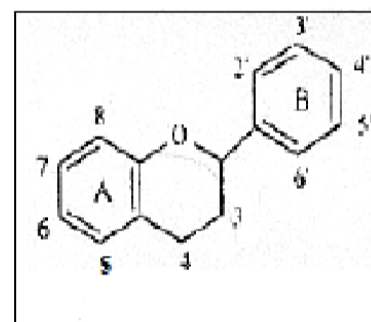


Figure 01 : Squelette moléculaire de base des Flavonoïdes avec la numérotation classique.

l'origine d'un groupe important de tanins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (**Macheix *et al.*, 2005; Medic-saric *et al.*, 2004**).

5.1.2.3. Les tanins

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**Haslam, 1989**).

□ les tanins hydrolysables: ce sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide l'acide éllagique (**Guignard, 2000**).

□ les tanins condensés: ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (**Harborne, 1980; Awika et Rooney, 2004**). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Guignard, 2000**).

5.2. Les Flavonoïdes

5.2.1. Le concept phytochimique

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmacologiques et la liste s'élargit constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques (**Marouf, 2000**).

Les flavonoïdes furent leur apparition chez les mousses, chez les fougères et les conifères, leur variété structurale est encore faible, elle est maximale dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, grains, bois (**Guignard, 2000**). Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties extrêmes des fruits, fleurs et feuilles.

Les Chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaune et orangé).

Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capable de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (**Dicko *et al.*, 2006**).

5.2.2. Biosynthèse, accumulation et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de 15 atomes du carbone constitués de deux cycles en C₆ A et B reliés par une chaîne en C₃.

Leur biosynthèse (Fig. 02) se fait à partir d'un squelette moléculaire de base la chalcone qui a une origine biosynthétique mixte: d'une part 3 molécule d'acétyl CoA (apporté sous forme de malonyl CoA) pour le cycle A et d'autre pour une molécule de p-coumaryl CoA pour le cycle B et l'hétérocycle C. l'enzyme clé est la chalcone synthase CHS qui provoque la condensation séquentielle en formant la naringénine-chalcone (**Hopkins, 2003; Herbert, 1989**).

Cette chalcone de couleur jaune est métabolisé sous l'action de l'enzyme chalcone isomérase en flavanone: naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la flavanone -3-hydroxylase pour donner les flavones: apigénine, dihydroflvonol, et (2R-3R)-dihydrokaempférol respectivement. Les deux enzymes citées fonctionnent différemment; la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C₃. Le dihydroflavonol-4-reductase, se métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3, 4-diol, leucoanthcyanidols.

Le pelargonidol, sous l'action de la 3-O-glycosyl-transférase se transforme en anthocyanosides: pelargonidol-3-glucoside (**Marfak, 2003**).

Les composées de chaque groupes se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupement hydroxyles, méthoxyles...) sur les deux cycles aromatiques et la chaîne en C₃ intermédiaire.

A l'état naturel, on trouve souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est dite: aglycone (**Marfak, 2003**).

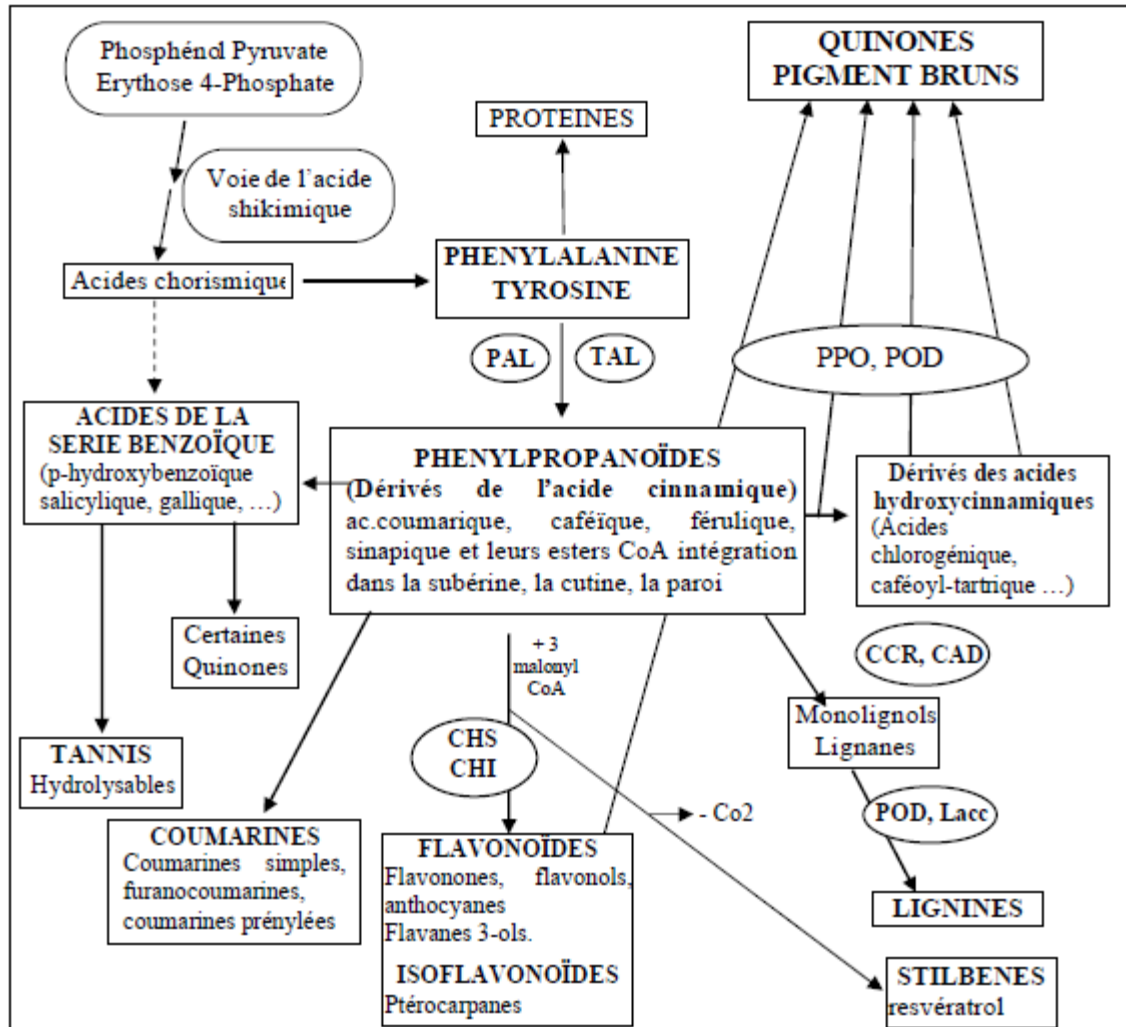
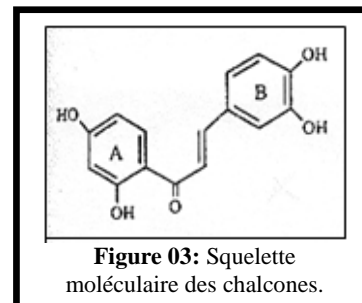


Figure 02: Les grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

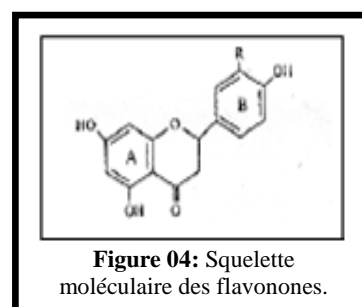
Abréviation des principales enzymes: PAL: phénylalanine ammonialyase; TAL: tyrosine ammonialyase; CCR: cinnamate CoA réductase; CAD: Cinnamyl alcool déshydrogénase; CHS: chalcone synthase; CHI: chalcone flavanone isomérase; PPO: polyphénoloxydases; POD: peroxydases; Lacc: laccases.

5.2.3. Les différentes classes de flavonoïdes

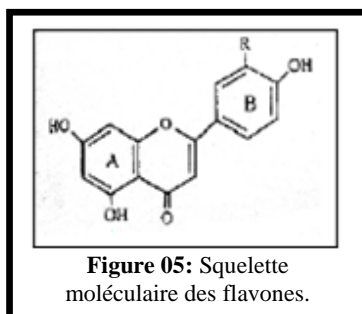
- **Les chalcones et aurones:** gardent la structure de la tétra ou trihydroxychalcone, le noyau central de la molécule n'est pas totalement cyclisé ou se présente sous forme d'un cycle ne présentant que cinq sommets (**Heller et al., 1998**). Les aurones sont caractérisés par un structure de 2- benzylidène coumarone (**Bruneton, 1999; Marfak, 2003**).



- **Les flavonones:** dérivent des précédentes par une cyclisation au centre du squelette, d'où un hétérocycle. Ils se caractérisent par l'absence de la double liaison entre C₂ et C₃ par la présence des centres d'asymétrie (**Bruneton, 1999**).

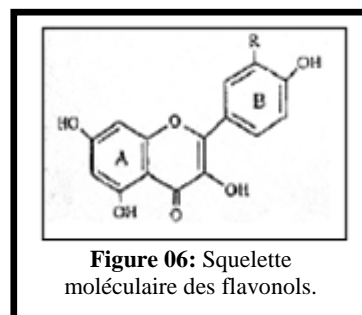


- **Les flavones:** dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle (**Heller et al., 1998**). Dans plus de 90%, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C₅ et C₇ (**Bruneton, 1999**).

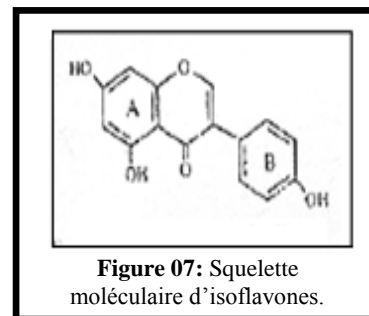


- **Les flavonols:** se différencient des flavones par la présence d'un OH en C₃ (**Heller et al., 1998; Richer, 1993**). Chez les flavonols la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée, fréquemment la position 7 mais jamais la position 5 du cycle A (**Harborne, 1980**).

Exemple: chez l'orge Chrysoeriol (**Mazza et Gao, 2005**).

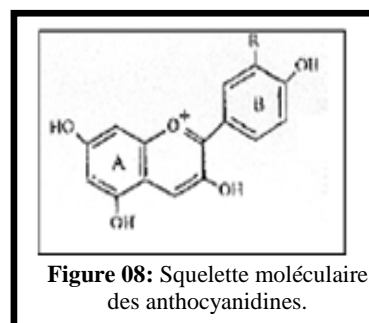


- **Les isoflavones:** dérivent aussi des flavanones mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C2 au C4 de l'hétérocycle (**Heller *et al.*, 1998; Bruneton, 1999**).



- **Les anthocyanes:** le terme « anthocyanes » a une valeur générale désignant, soit les formes naturelles glycosylées, soit les molécules non glycosylées (**Macheix, 2005**).

Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a aussi préférentiellement la position 5 est glycosylée.



La partie phénolique seule est désigné sous le nom d'anthocyanidine, alors que l'hétéroside (molécule phénolique + sucre associé) est appelé anthocyanine (**Bruneton, 1999, Macheix, 2005**).

5.2.4. Rôles, intérêts et propriétés des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux.

Ils peuvent en effet intervenir dans:

La fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine (**Guignard *et al* 1985; Maury et Legrand 2000; Brouillard *et al.*, 1997; Macheix *et al.*, 2005**)

Des travaux plus anciens (**Nitsch, 1961**) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les cellules végétales répondent au stimuli environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression (**Misirli *et al.*, 2001**) lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections ; (**Fleuriet et Macheix, 1990; Macheix *et al.*, 2005; Brouillard *et al.*, 1997**).

Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation ; (**Macheix *et al.*, 2005; Dicko *et al.*, 2006**).

Et selon **Sarni Machando et Cheynier (2006)** les polyphénols exercent un effet majeur sur les caractères organoleptiques des produits;

Dans la variation de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des besoins fermenté ...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini;

(**Amiot *et al.*, 1997; Fleuriet et Macheix, 1990; Lattanzio *et al.*, 1994; Macheix *et al.*, 1990**)

D'autre part, et d'après **Bensegueni (1989)** les techniques modernes d'isolement de molécules et d'exploration médicales montrent que beaucoup de propriétés thérapeutiques reposent sur les produits du métabolisme secondaires, et qu'il existe une relation directe entre les propriétés physicochimiques de ces composés et leur activité biologique et/ou pharmacologique.

Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau 02.

Tableau 02: Activités biologiques des composés polyphénoliques (Frankel *et al.*, 1995).

| Polyphénols | Activités | Auteurs |
|--|---|---|
| Acides phénols (cinnamique et benzoïque) | Antibactériens Antifongiques Antioxydants | [Didry <i>et al.</i> , 1982] [Ravn <i>et al.</i> , 1984] [Hayase et Kato, 1984] |
| Coumarines | Vasoprotectrices et antioedémateuses | [Mabry et Ulubelen, 1980] |
| Flavonoïdes | Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants | [Stavric et Matula, 1992] [Das <i>et al.</i> , 1994] [Bidet <i>et al.</i> , 1987] [Bruneton, 1993] [Aruoma <i>et al.</i> , 1995] |
| Anthocyanes | Protection des veines et capillaires | [Bruneton, 1993] |
| Proanthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires | [Masquelier <i>et al.</i> , 1979] [Bahorun <i>et al.</i> , 1996] [DE Oliveira <i>et al.</i> , 1972] [Brownlee <i>et al.</i> , 1992] [Kreofsky <i>et al.</i> , 1992] |
| Tanins galliques et catéchiques | Antioxydants | [Okuda <i>et al.</i> , 1983] [Okamura <i>et al.</i> , 1993] |

De nos jours, les propriétés antioxydantes ou anti-inflammatoires des polyphénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives, l'ostéoporose ; **(Wang et Mazza, 2002; Macheix *et al* 2005, Sarni Machando et Cheynier, 2006; Visioliet *al.*, 1999)**. Ils diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires renforçant leur résistance, ils agissent contre les radicaux libres **(Lahouel, 2004; Nissiotis et Tasioula-Margari, 2002)**.

5.3. Les antioxydants phénoliques

Parmi les antioxydants naturels, les composés phénoliques, et plus particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes, suscitent un intérêt grandissant.

Ce sont des composées, naturels, qui permet de ralentir le phénomène d'oxydation qui favorisent le vieillissement cellulaire on interrompant le passage du stress oxydatif et interceptant le « message » de l'apoptose (mort cellulaire programmé) **(Macheix *et al.*,2005)**.

D'un point de vue chimique, un antioxydant n'est qu'un composé réducteur : il va donc pouvoir réagir avec un oxydant pour le neutraliser. Les antioxydants vont ainsi réduire les radicaux libres si dangereux pour l'organisme en raison de leur pouvoir oxydant très élevé. Cependant, ce n'est qu'avec l'identification des vitamines A, C et E qu'est apparue l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants.

L'oxydation constitue probablement l'un des paramètres majeurs à l'origine de l'altération des produits alimentaires et cosmétiques. Les dégradations oxydatives qui en résultent affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des produits et peuvent avoir des répercussions sur la santé humaine. Dans ce contexte, différents moyens de prévention sont disponibles pour limiter ces phénomènes. Parmi eux, la valorisation d'antioxydants d'origine végétale à des fins alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques représente un enjeu majeur pour la recherche et l'industrie.

L'homme n'est pas capable d'assurer la biosynthèse de la plus part des antioxydants, en particulier ceux de nature phénolique. Il doit les trouvé dans la ration journalière est alors un facteur nutritionnel considéré comme positif par les nutritionnistes et bénéfique à notre santé **(Bravo, 1998)**.

Les différents constituants végétaux de notre ration alimentaire quotidienne sont généralement riches en polyphénols à forte activité antioxydante et, selon les habitudes alimentaires, nous pouvons en ingérer de 100mg par jour. Cela est particulier vrai dans les

régimes dits « méditerranéens » où la consommation de fruits, de légumes, de céréales et d'huile d'olive est importante (**Besançon, 2000**).

6. Propriétés antimicrobiennes du miel

Les propriétés antimicrobiennes du miel ont été exploitées par les hommes, on sait aujourd'hui que le miel provenant d'une ruche saine ne contient pas de bactéries, sous forme végétative. Comme explication de l'activité anti bactériostatique et bactéricide du miel, on avait donné sa teneur en sucre ou bien, la présence de pollen transformé ou encore son pH (**LIBIS, 1971**). Selon le même auteur la valeur antibiotique du miel est attribuée à l'inhibée, qui est une enzyme très fragile à la chaleur et à la lumière ; il affirme que pour conserver l'activité de cette enzyme il ne faut pas dépasser 80°C pendant de 30 minutes

Selon **DESCOTTES (2004)**, quatre facteurs sont mis en avant à savoir :

6.1. L'osmolarité

L'effet osmotique est la conséquence de la forte teneur en sucre 84% étant un mélange de fructose et glucose dans le miel. Ce dernier agit comme une solution hypertonique et l'eau contenue représente habituellement 15 à 21% du poids. La forte interaction de ces molécules de sucres avec les molécules d'eau laisse très peu de molécules d'eau disponible pour les micro-organismes et conduit à une déshydratation qui absorbe l'eau vitale de ces derniers.

L'effet osmotique joue un rôle fondamental dans l'action anti bactérienne du miel, toutefois un certain nombre de bactéries n'étant pas inhibées dans des milieux à faible coefficient hydrique, il est clair que d'autres mécanismes interviennent.

6.2. L'effet du pH

Le pH du miel est relativement acide, il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone.

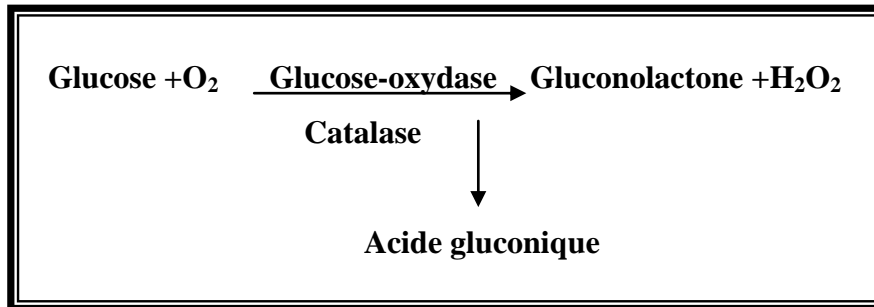
D'autres études retrouvent la persistance d'une activité antibactérienne marquée lorsque le miel a été neutralisé. Malgré ces observations cela ne signifie pas que l'acidité ne contribue pas à l'activité antibactérienne du miel.

Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces pathogènes.

6.3. Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂

L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène (BRUDZYNSKI, 2006).

L'eau oxygénée aussi appelée peroxyde d'hydrogène est considérée comme la principale inhibitive du miel. Elle est produite par réaction enzymatique ; c'est la glucose-oxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



La réaction montre que la production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. La catalase réduit l'eau oxygénée, ainsi la concentration en peroxyde dépend donc de l'activité de ces deux enzymes.

7. Le miel et le cancer

Peu d'études se sont penchées sur l'impact de la consommation de miel en relation avec le [cancer](#). Des chercheurs ont toutefois démontré, à la suite d'une étude réalisée sur des cellules, que la consommation de miel fournirait une protection contre le [cancer du sein](#). Cette protection serait attribuable au pouvoir antioxydant du miel, donc à sa teneur en flavonoïdes. Les miels foncés seraient donc plus efficaces que les miels pâles. Malgré ces résultats très encourageants, de tels effets n'ont pas encore été démontrés chez l'humain. Il faut toutefois noter qu'une étude observatoire menée auprès de plus de 5 000 femmes révèle l'existence d'un lien direct entre une diète riche en aliments sucrés et en sucre (incluant le miel) et l'augmentation des risques de cancer du sein. Il convient par contre de souligner que cette étude ne permettait pas de différencier l'impact de chacune des sources de glucides, ce qui empêche de tirer des conclusions sur le rôle du miel seul. Les flavonoïdes contenus dans le miel ont également fait l'objet d'études. Ces antioxydants sont reconnus comme étant très efficaces pour désactiver les molécules oxydées naturellement dans l'organisme, par exemple les radicaux libres. Ces molécules étant impliquées dans les processus d'endommagement de l'[ADN](#) et dans la croissance des tumeurs cancéreuses, leur inactivation ralentirait ces phénomènes et donc la prolifération des cellules cancéreuses. D'ailleurs, une étude de cohorte

menée en Finlande auprès de 10 000 hommes et femmes durant plus de 20 ans a démontré qu'une consommation élevée de flavonoïdes permettrait de réduire l'incidence du [cancer du poumon](#).

8. Les miels toxiques

C'est dans la Grèce antique que l'on trouve la première référence historique à des miels toxiques : Xénophon raconte qu'alors qu'il était en Colchide ses troupes furent victimes d'une grave intoxication après avoir mangé du miel d'*Azalea pontica* dont le pollen est extrêmement toxique.

Outre l'*Azalea pontica*, d'autres plantes produisent du miel et du pollen toxique : troène, ailante, buis, aconit, ciguë, belladone, digitale. Heureusement, seule une présence massive de ces espèces végétales rend le miel toxique ; autrement, même si les abeilles butinent ces plantes, le produit final ne comporte pas la moindre contre-indication **(RAVAZZI G, 2007)**.

Partie II

Etude expérimentale

- **Objectif**

Notre travail repose essentiellement sur l'effet antimicrobien de deux variétés de l'extrait phénolique des miels locaux et un échantillon de l'extrait phénolique du miel importé, vis-à-vis d'une gamme des souches microbiennes.

L'expérimentation s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université KASDI MERBAH OUARGLA.

1. Matériels et méthode

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Extraits phénoliques du miel

L'étude est reposée sur deux échantillons d'extraits phénoliques du miel naturel récoltés de deux régions du territoire national et un échantillon importé, ces extraits sont préparés par les étudiantes KEDAD Samiha et MEDOUR Amina (Licence en Biochimie) qui ont effectué l'extraction des composés polyphénoliques de ces échantillons.

Les extrais phénoliques des échantillons du miel sont:

E1 : les extraits phénoliques du miel de Batna.

E2 : les extraits phénoliques du miel de Biskra.

E3 : les extraits phénoliques du miel artificiel de la Chine (Rakia).

1.1.2. Micro-organismes testés

Les souches utilisées dans le présent travail sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Ces souches microbiennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université KASDI MERBAH OUARGLA.

Il s'agit de :

- une souche bactérienne à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa*.

- une souche à Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

1.2. Méthodes d'étude

1.2.1. Isolement des souches bactériennes

On a isolé les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* dans les milieux de culture sélectifs Chapman et Hectoen respectivement.

On a les mit dans l'étuve à 37°.

1.2.2. Etude du pouvoir antibactérien des extraits

La méthode d'évaluation du pouvoir antimicrobien de miel a porté sur une technique simple, rapide et économique.

La méthode d'aromatogramme est une technique d'exploration, de mesure de l'activité antibiotique, bactéricide et antiseptique, elle a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie et de microbiologie du département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits à l'intérieur d'une boîte de Pétri dans un milieu nutritif solide.

Le milieu de culture utilisé est la gélose **Muller-Hinton** (5 mm d'épaisseur) en surfusion est coulé dans des boîtes de Pétri.

➤ Préparation de l'inoculum

On a prélevé à l'aide d'une anse de platine deux à trois colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée stérile.

➤ Ensemencement

Sur des boîtes contenant le milieu gélosé **Muller-Hinton** sur une épaisseur de 5 mm bien séchées, on introduit l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe. L'excès du liquide est aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel et les boîtes sont mises à sécher pendant 15 minutes.

➤ Dilution des extraits

Les disques d'aromatogrammes dont le diamètre est de 0.5 cm sont imprégnés dans des dilutions (A, B, C, et D). Chaque disque est imprégné d'une quantité variable (25 μ l à 100 μ l) de l'extrait sélectionné (les extraits de 100 mg et de 200 mg de chaque échantillon du miel).

Les dilutions (A, B, C, et D) sont respectivement (25%, 50%, 75% et 100%).

25% = (25 μ l d'extrait et 75 μ l de l'eau distillée).

50% = (50 μ l d'extrait et 50 μ l de l'eau distillée).

75% = (75 μ l d'extrait et 25 μ l de l'eau distillée).

100% = extrait pur.

➤ Application des disques

Les disques d'aromatogrammes imprègnent dans les dilutions et disposés à la surface des boîtes en appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile.

Les boîtes sont ensuite fermées et incubées dans l'étuve à 37° 12 à 18 heures. Après l'incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à celui de la gélose stérile. On a utilisé 4 dilutions et 2 extraits.

➤ **Lecture**

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques d'aromatogramme à l'aide d'une règle graduée. Une bactérie est considérée sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 0.5 cm (**Hamoudi, 2008**). Cette sensibilité augmente en fonction du diamètre de cette zone d'inhibition.

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation de degré de la sensibilité de la souche bactérienne contre les extraits testés. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition, l'effet de l'extrait utilisé est considéré comme **bactéricide**.

L'apparition tardive d'un tapis léger de nouvelles colonies indique que cet extrait est considéré comme **bactériostatique**.

Les résultats des tests d'activité antibactérienne des différents extraits sont illustrés dans les tableaux (03, 04, 05 et 06) et la photo (01, 02, 03, 04 et 05).

Tableau 03 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de 100 mg des échantillons étudiés avec la bactérie *Staphylococcus aureus*.

| Les dilutions (%) | Le diamètre de la zone d'inhibition (cm) | | |
|-------------------|--|----|----|
| | E1 | E2 | E3 |
| A | - | - | - |
| B | - | - | - |
| C | - | - | - |
| D | - | - | - |

Tableau 04 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de 100 mg des échantillons étudiés avec la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

| Les dilutions (%) | Le diamètre de la zone d'inhibition (cm) | | |
|-------------------|--|-----|----|
| | E1 | E2 | E3 |
| A | 0,6 | 0,6 | - |
| B | 0,7 | 0,6 | - |
| C | 0,7 | 0,7 | - |
| D | 0,8 | 0,7 | - |

Tableau 05 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de 200 mg des échantillons étudiés avec la bactérie *Staphylococcus aureus*.

| Les dilutions (%) | Le diamètre de la zone d'inhibition (cm) | | |
|-------------------|--|----|----|
| | E1 | E2 | E3 |
| A | - | - | - |
| B | - | - | - |
| C | - | - | - |
| D | - | - | - |

Tableau 06 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de 200 mg des échantillons étudiés avec la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

| Les dilutions (%) | Le diamètre de la zone d'inhibition (cm) | | |
|-------------------|--|-----|------|
| | E1 | E2 | E3 |
| A | 0,7 | - | 0,55 |
| B | 0,8 | - | 0,6 |
| C | 0,8 | 0,8 | 0,6 |
| D | 0,9 | 0,9 | 0,7 |

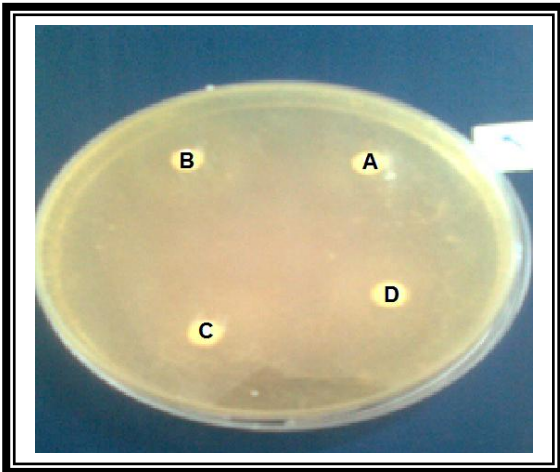


Photo N° 01 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Batna sur *Staphylococcus aureus*.

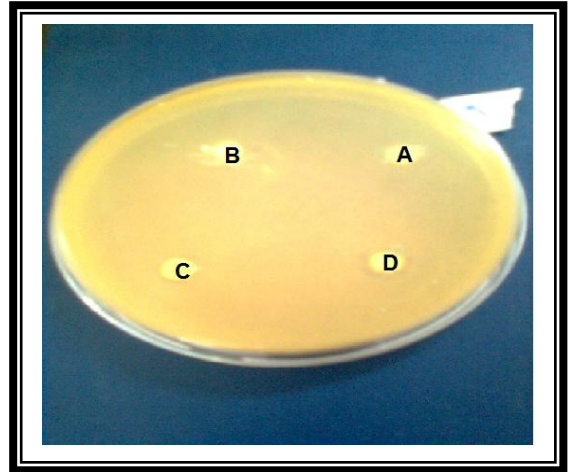


Photo N° 02 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Biskra sur *Pseudomonas aeruginosa*.

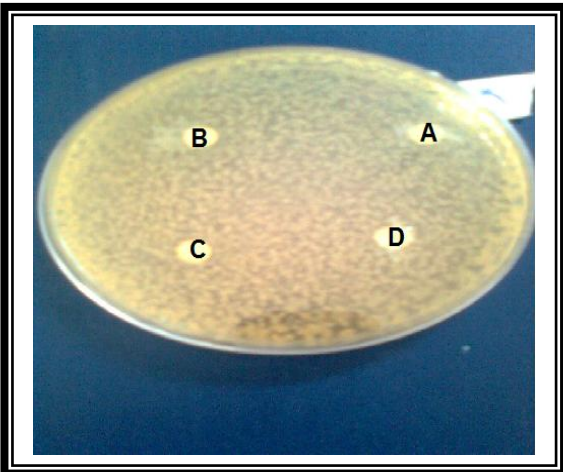


Photo N° 03 : Effet des extraits phénoliques de 100 mg du miel de Batna sur *Staphylococcus aureus*.



Photo N° 04 : Effet des extraits phénoliques de 200 mg du miel de Batna sur *Pseudomonas aeruginosa*.

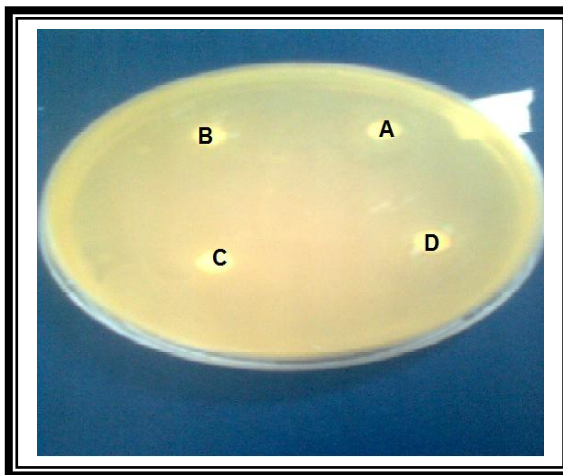


Photo N° 05 : Effet des extraits phénoliques de 200 mg du miel de Biskra sur *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2. Discussion

D'après les résultats illustrés sur les tableaux (03, 04, 05 et 06) on peut constater que :

- Extraits de 100 mg de miel

Sur *Pseudomonas aeruginosa*, l'extrait E₃ n'a aucun effet mais les extraits E₁ et E₂ ont un effet bactéricide. Par contre sur *Staphylococcus aureus*, les trois extraits n'ont aucun effet.

- Extraits de 200 mg de miel

Les extraits E₁, E₂ et E₃ n'ont aucun effet sur *Staphylococcus aureus*.

Sur *Pseudomonas aeruginosa* l'effet des extraits E₁ et E₂ est bactéricide alors que l'effet de l'extrait E₃ est bactériostatique

- L'effet des extraits de 200 mg est plus efficace que celui de 100 mg (ce ci est claire selon les diamètres des zones d'inhibition) cela peut expliquer par la quantité élevée des polyphénols dans les extraits a partir de 200 mg

Ces résultats sont résumés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Résumé des activités antibactériennes des extraits phénoliques des différents échantillons du miel sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

| | Extraits de 100 mg | | | Extraits de 200 mg | | |
|-------------------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|------------------|
| | E ₁ | E ₂ | E ₃ | E ₁ | E ₂ | E ₃ |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Bactéricide | Bactéricide | – | Bactéricide | Bactéricide | Bactériostatique |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | – | – |

- L'activité antimicrobienne des extraits phénoliques du miel diffère selon le type de souche testée. Concernant *Pseudomonas aeruginosa* est sensible aux trois types d'extraits du miel étudiés (E1, E2 et E3) avec des différences d'un type à un autre, alors que *Staphylococcus aureus* est résistante

- Il y a une efficacité remarquable des extraits du miel E₁ et E₂ (locaux) que celui de l'échantillon importé E₃

- On marque les meilleurs résultats de l'activité antibactérienne des extraits obtenus pour E1 (miel de Batna) cela dépend peut être à l'origine florale ou les conditions de conservation de cette région

- On a constaté aussi que l'effet antibactérien des extraits phénoliques dépend des concentrations des échantillons étudiés (ce ci est claire selon les diamètres des zones d'inhibition)
- le miel importé de la chine (E₃) montre une efficacité comparable à celle des deux autres échantillons avec 200 mg, voire une efficacité bactériostatique (absente chez les deux autres échantillons).

Conclusion

Conclusion

Dans le but d'étudier l'effet antimicrobien des extraits phénoliques du miel, nous avons effectué un travail permettant d'essayer l'efficacité antibactérienne de ce métabolite secondaire.

D'après l'étude expérimentale *invitro* les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel sur la sensibilité microbienne, cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

Nous avons retenu deux catégories de germes selon leur degré de sensibilité, à savoir :

- Souche sensible: *Pseudomonas aeruginosa*.
- Souche résistante: *Staphylococcus aureus*.

Cette étude a confirmé le travail de **Helleu (1956)** qui a étudié l'action du miel sur *Escherichia coli*, *Eberthella typhosa* et *Staphylococcus aureus*, il a trouvé que le miel n'est pas actif sur ces souches. L'activité inhibitrice sur *Pseudomonas aeruginosa* est faible, mais si l'on opère en dessous de la dilution limite nécessaire à cette inhibition, on met en évidence une action retardatrice du développement de la souche (**REMY CHAUVIN, 1968**).

Ces résultats pouvaient trouver une application possible dans le traitement des différentes maladies causées par les germes pathogènes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

➤ Les ouvrages

Besançon, P., 2000. Effets bénéfiques pour la santé des fruits et des légumes. Alimentation méditerranéenne et santé : actualité et perspectives. Montpellier, John Libbey. Pp99-108.

Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., et Sapirstein, H.D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of Pearled wheat and Roller-Milled. Fractions. Cereal chem.82 (4), Pp 390- 393.

Bonimond JP., La fleur et l'abeille, Union Nationale de l'Apiculture Française. Paris-1983. p76-7.

Bravo, I. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism and nutritional significance, Nutr.Rev.56, Pp317-333. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., et Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne.

Brouillard, R., Figvire, P., El habiri, M., and Dangles, O. 1997. Molecular interaction of phenolic compounds in relation to the color of fruit and vegetables. In : les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.

Brouillard R., 1982. Anthocyanins as food colors. Marcaris P. Academic press. New York. 1- 40 p.

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

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales, Paris, France: Lavoisier. Pp 278-279.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier, Paris. p1120.

Chauvin R., 1968. L'abeille et la fleur in traité de biologie de l'abeille (T3).Edition Masson et Cie. P 95, 286-7, 293-4-9, 304-6-7.

Chauvin R., 1968. Traité de biologie de l'abeille. Edition Masson et Cie. P 67, 69, 71, 279-286.

Codex alimentarius., 2001. Commission du Codex Alimentarius. Edition FAO.O.M.S.

Crane. E., 1980.

Dicko, M.H., Gruppen, H., Traoré, A.S., Alphons, G.J., Willem, J.H., and Berkel, V., 2006. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* Vol. 1 (1), Pp. 21-38, April.

Descottcs B., 2004. Le miel comme agent cicatrisant, Thèse de doctorat en médecine, université Toulouse III-Paul SABATIER, Limoges. p 24-6-7-8-9, 32-3, 42- 8 ,52.

Djerd. A., 2008. Contrôle de qualité des miels de la région de Djelfa, comparaison avec des miels nationaux et des miels importés. Thèse d'Ingéniorat en biologie, Université de Djelfa.

Fleuriet, Macheix., 1990. le brunissement enzymatique et la qualité des fruits. In la maîtrise de la qualité des fruits frais; 9ème colloque sur les recherches fruitées. INRA, 249-258.

In: Les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006. Tec et Doc. Lavoisier-Paris.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., and Amiot, M.J., 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived product, *J.Agric.Food Chem*, 53: 1370-1373.

Guignard, J.L., Cosson, L., et Henry, M., 1985. Abérgé de phytochimie, Masson. Paris, P 138.

Guignard, J.L., 1974. Abergé de Biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie: Masson. Paris. Pp 146-155.

Guignard, J.L., 2000. Biochimie végétal 2ème édition Dunod. 188 p.

Haborne, J.B., 1980. Plant phenolics in *Encyclopedia of plant physiology*, vol 8, Bell EA, Charlwood BV, ed Spinger-Verlag, Berlin; Pp 329-402. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., and Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne.

Haslam, E., 1989. Plant polyphenols, vegetale tannins revisited cambridge University Press, Combridge, P 230. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., et Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne.

Heller, R., Esnault, R., et Delance, C., 1998. physiologie végétale 1-nutrition 6ème edition. Dunod. Paris, Pp 289-288.

Herbert, R.B., 1989. The Biosynthesis of secondary metabolites. 2ème edition Chapman and Halle p 2, 11-115.

Hopkins, W.G. 2003. Physiologie végétale. Edition Debock et lancier. p 276.

- Huchet. E, Coustel. J, Guinot. L., 1996.** Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France. P 5, p16.
- Lahouel, M., 2005.** Interaction flavonoïdes-mitochondrie et role de la propolis dans la prevention de l'apopose induite par certains medicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
- Lattanzio V, Cardinah A, Palmier S .1994.** The role of phenolics in the post harvest physiology of fruits and vegetables: browniong reaction and fingal disease Ital J Food sci, 6: 3-22.
- Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006.**les polyphenols en agroalimentaire, Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- Libis E., 1971.**L'apiculture pour tous. Paris. Edition Flammarion. pl20-l-7,130- 3,141.
- Louveaux. J.,1985.** Les abeilles et leur élevage .2ème Edition OPIDA. p237
- Louveaux. J., 1968.** Composition propriété et technologie du miel. Les produits de la ruche, in Traité de biologie de l'abeille. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.
- Louveaux. J., 1985.** Les abeilles et leur élevage. Edition Opida. Pp : 165-181.
- Maarouf A .2000.** Dictionnaire botanique Pp 129.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A et Christian, A .,2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A et Billot, J .,1990.** Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- Marfak A., 2003.** Radiolyse gamma des flavonoides, Etude de leur reactive avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges. Spécialité : biphysique. 187 p.
- Maury, S ; Legrand, M. 2000.** Etude des O-méthyltransferases de la voie des phémylpropanoïdes dans le tabac et modulation de leur expression dans les tabac transgénique: conséquences sur la synthèse de la lignine et d'autre composés phénoliques et sur la résistance aux agents pathogènes : INIST-CNRS, cote INVIST: T 127548 Université de strasbourg, France.
- Mazza, G; Gao, L .2005.** Blue and purple grains, Pp 313-350. In: Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. Dykel.3Le seigle: Secale cereale Ls L & Rooney W L. (2007).Texas A&M University, CFW-52-3-0105.

Medic Saric, M., Jasprica, I., Smoleic-Bubalo, An et Mornar, A. 2004. Optimisation of chromatographic condition in thin layer chromatography of flavonoïdes and phenolic acids. *Croatian achemica acta*.77- (1-2), 361-366.

Nissiotis, M. et Tasioula-Margari, M., 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food chemistry*, 77, Pp. 371-376.. Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. IN Nassif, D.2004. Mémoire (DEA).INRA.FRANCE.

Prost P., 1979. Apiculture. Paris .Edition J-B.Baillièrè. P140-1,270-2-3,303-15.

Prost p., 1987. Connaître l'abeille, conduire le rucher. Paris Edition J.P.Baillièrè. p 146, 310-1-4-5-6-, 356.

Psotova J, Lasovsky J et Vicar J., 2003. Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed*. Pp 174-153.

Richter, R. 1993. Metabolisme des végétaux physiologie et biochimie. PPUR. Lausanne Pp 319-322.

Sarni-Manchado, P ; Cheynier, V.2006. les polyphenols en agroalimentaire, Tec et Doc Lavoisier-Paris.

Visioli, F., Romani, A., Mulinacci, N., Zarini, S., Conte, D., Vincieri, F et Galli, C. 1999 . Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters. *J.Agric.Food Chem*, p 47, Pp 3397-3401.

Wang, J ; Mazza, G. 2002. Effect of Anthcyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7.Macrophages.*J.Agric.Food.Chem*.50.4183-4189.

➤ **Les sites et pages Web :**

http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=miel_nu consultée le 20 /05/2011.