



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biodiversité et Conservation des Écosystèmes

Thème

**Etude du potentiel antioxydant de l'huile d'olive et
du miel ainsi que leur préparation combiné**

Présenté par : **LALAOUI Naima**
SOUALMI Rahima

Devant le jury :

Président :	M ^r MEKHALFI Hamoudi	MAA	(Univ de Bordj Bou Arreridj)
Encadrant :	M ^r TOUATI Nouredine	MAB	(Univ de Bordj Bou Arreridj)
Examineur 1 :	M ^r BELLIK Yuva	MCB	(Univ de Bordj Bou Arreridj)
Examineur 2 :	M ^r GUISSOUS Mokhtar	MAA	(Univ de Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

Nous remercions avant tout ALLAH tous jouissants, de nous avoir guidé toute la vie et les années d'étude et sa bénédiction et d'avoir donné à l'être humain ce pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers.

Avant de présenter les résultats de ce modeste travail, Nous remercions sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

En premier lieu, Nous remercions Mr MEKHALFI Hamoudi d'avoir accepté de présider le jury. Qu'il trouve ici notre respectueuse considération.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadreur. Mr TOUATI Noureddine Maître Assistant Chargé de Cours à l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimi, pour l'aide à réaliser ce travail et de bien vouloir accepter de le diriger avec beaucoup de compréhension.

Il est agréable au moment de présenter ce travail d'adresser nos remerciements à notre examinateur pour avoir accepté d'examiner Mr BELLIK Yuva et de juger ce travail, qu'il trouve ici notre respectueuse considération.

Nous exprimons également nos remerciements aux Mme Hihate Soraya et Mr Mekhoukfi Nasraddine de ses aides et ses gentillesse.

Nous remercierais également tous nos enseignants, nos collègues de spécialité : Biodiversité et conservation des écosystèmes et les personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers.

*En fin, juste un petit mot pour te dire *Merci**

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et la patience d'aller jusqu'au bout de rêve et le bonheur de lever mes main vers le ciel et de dire

« Ya Kayoum »

♥Je dédie ce modeste travail♥

♥A mes chers parents ma mère et mon père, Pour votre soutien tout au long de mes études. Je ne serai jamais arrivée jusque-là sans vous. Vous avez toujours été là et m'avez toujours soutenue dans les moments difficiles.

♥A mes très chers frères « ALI, DJALAL, ISMAIL, BOUGEURA et mon belle petit poussin YOUSSEF avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès. »

♥A mes très chères sœurs « YAMINA, CHADIA, KAMIR, ZOËRA ET NARIMENE avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès. »

♥A tous les poussins de mes familles « Roàya, Sérine, Iftissane et le petit Abdrahmane »

♥A mon mari RABEH et toute son famille « beziou »

♥A mon adorables sœurs qui donnent la force et le courage afin d'accomplir ce travail et l'aident me à marcher dans cette vie et attendent avec impatience mon succès

« DJAHIDA »

♥A tous ma grande Famille LALAOUI.♥À tous mes collègues

♥À tous mes enseignants.

♥A tous ceux qui m'aiment

♥A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à notre formation

Naima

Dédicace

A mon très cher père « Omar ».

Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur tout l'amour, le respect, l'attachement et la reconnaissance que je te porte. Tu m'as enseigné la droiture, le respect et la conscience du devoir. Puisse Dieu, le tout puissant, te procurer santé, bonheur et longue vie...

A ma très chère mère « NAANAA ».

A la plus merveilleuse des mères. J'espère réaliser, en ce jour, l'un de tes rêves. Aucun mot ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour que je te porte. Puisse Dieu le tout puissant te donner santé et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour...

A ma chère sœur « MERYEM » et son mari « FARES ».

A mes chers frères « BILAL, HAMZA, OKBA, OUSSAMA et particulièrement AHMED »

A notre fraternité qui m'est très chère. Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de santé et de réussite.

Atous les poussins de mes familles « ANES, TYED, YOSRA, SAMI, ISLEM et le petit ange ISAM »

A mes grandes parentes, mes oncles et mes tantes et leurs familles

Je vous souhaite une longue et heureuse vie.

Atous mes cousins et mes cousines

A tous mes amies qui se reconnaîtront spécialement « RYM »

En souvenir des moments passés ensemble, je vous dédie ce travail en témoignage de mon amitié sincère et durable. Je vous souhaite un avenir radieux et plein de réussite.

A tous ceux qui me sont chers

Rahima

Liste des figures

Figure 1 : Procédés général d'extraction de l'huile d'olive	8
Figure 2 : Composition chimique de l'huile d'olive	9
Figure 3 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant.....	12
Figure 4 : Huile d'olive	17
Figure 5 : Préparation de solution de l'huile d'olive.....	17
Figure 6 : Miel d'abeilles.	18
Figure 7 : Préparation de la solution miel	18
Figure 8 : Teneur en polyphénols totaux de l'huile d'olive et du miel analysés.....	22
Figure 9 : Teneur en caroténoïdes totaux de l'huile d'olive et du miel analysés	24
Figure 10 : Représentation graphique du flavonoïde en mg/g d'échantillons analysés	24
Figure 11 : Activité anti-DPPH de l'huile d'olive, du miel ainsi que leur mélange	25
Figure 12 : Pouvoir réducteur de l'huile d'olive, du miel ainsi que leur mélange	26

Liste des tableaux

Tableau I : Composition physicochimique moyenne des miels	3
Tableau II : Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive	8
Tableau III : Quelques exemples d'utilisation réglementé des antioxydant.....	15
Tableau IV : Principaux modes d'action de quelques antioxydants	15

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DPPH : 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl

FeCl₃ : Chlorure de fer

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

HO : radicaux hydroxyle

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

pH : potentiel d'hydrogène

RLO : Radicaux libre oxygénés

TCA : Acide trichloro acétique

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie bibliographique	
I. Généralité sur le miel	2
I.1. Définition	2
I.2. Production du miel	2
I.3. Différent types de miel	2
I.4. La composition du miel	3
I.5. les caractéristiques du miel	4
I.5.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	4
I.5.2. Caractéristiques nutritionnelles.....	6
I.6. les propriétés thérapeutiques.....	6
I.7. Conservation	7
II. Généralité sur l'huile d'olive.....	7
II.1. Définition.....	7
II.2. Technique d'extraction de l'huile d'olive.....	7
II.3. Caractérisation de l'huile d'olive	8
II.4. Composition chimique de l'huile d'olive	8
II.5. Stockage de l'huile d'olive	9
II.6. Propriétés biologiques de l'huile d'olive.....	9
III : Notion de stress oxydatif et de l'activité antioxydant.....	10
III.1. Les radicaux libres	10
III.1.1. Définition des radicaux libre	10
III.1.2. Rôles des Radicaux libres oxygénés (RLO) dans la physiologie	11
III.1.3. Mécanisme d'action des radicaux libres	11
III.2. Stress oxydant	12
III.2.1. Conséquence des stress oxydant.....	13
III.3. Antioxydant.....	13
III.3.1. Définition	13
III.3.2. Classification des antioxydants	13

III.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants.....	15
III.3.4. Efficacité des antioxydants.....	16
III.3.5. Evaluation de la capacité antioxydante par des tests <i>invitro</i>	16

Partie expérimentale

I. Matériel et Méthodes	17
I.1. Préparation des échantillons	17
I.1.1. Huile d'olive	17
I.1.2. Le miel	18
I.1.3. le mélange huile d'olive-miel	18
I.2. Dosage des antioxydants.....	19
I.2.1. Polyphénols totaux.....	19
I.2.2. Flavonoïdes totaux	19
I.2.3. Caroténoïdes totaux	19
I.3. Détermination de l'activité antioxydante.....	20
I.3.1. Activité anti-DPPH	20
I.3.2. Pouvoir réducteur.....	20
II. Analyse statistique.....	21
III. Résultats et discussion.....	22
III.1. Dosage des substances bioactives	22
III.1.1. Polyphénol totaux.....	22
III.2.2. Caroténoïdes totaux.....	23
III.3. Activité antioxydants.....	24
III.3.1. Activité anti-DPPH	24
III.3.2. Pouvoir réducteur	26
Conclusion.....	27
Références Bibliographiques	28
Annexes	34

Introduction

Introduction

L'huile d'olive ainsi que le miel peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels et qui peuvent être utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Ces aliments ont une grande résistance à la détérioration oxydative d'une part et possèdent des actions thérapeutiques d'autre part. Ces propriétés sont dues à la composition triacylglycérole pauvre en acide gras polyinsaturé et à la présence d'un groupe d'antioxydants phénoliques qui comprend des polyphénols et des tocophérols (**Doukani *et al.*, 2014 ; Bouhadjra., 2011**).

L'activité (potentialisation synergique) en termes d'endo-interactions (interactions au sein d'une plante qui peut modifier ses effets pharmacologiques) et exo-interactions (interactions entre les composants végétaux non apparenté et/ou les médicaments) a été rapporté par **Lila et Raskin (2005)**. La synergie exo-interaction des antioxydants a reçu une certaine attention. A ce titre, **Yang et Liu (2009)** ont rapporté que la combinaison d'extrait de pomme et de quercétine 3-b-D-glucoside exhibe un effet synergique vis-à-vis l'activité anti-proliférative des cellules cancéreuses des poumons.

Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer le potentiel antioxydant du miel et de l'huile d'olive ainsi que leur préparation combinée.

Le présent mémoire est scinder en deux parties, bibliographique et expérimentale. La première partie, bibliographique, englobe les généralités sur le l'huile d'olive, le miel ainsi que les connaissances de base sur le stress oxydatif et les systèmes antioxydants. La deuxième partie, expérimentale, renferment le matériel et méthodes utilisés ainsi que la discussion des résultats qui en découlent et en fin une conclusion.

Partie bibliographique

I. Généralité sur le miel

I.1. Définition

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles « *Apis mellifera* » à partir du nectar des fleurs ou des exsudats d'arbres et des plantes donnant des miels de nectar ou de miellat respectivement (**Liu et al., 2013**) ou d'excrétions d'insectes butineurs, Selon la plante, le sucre peut être différent par sa composition en glucose, fructose, disaccharide et saccharose. D'autre élément du nectar vont donner au miel sa couleur et son goût unique : les vitamines, les pigments, les arômes (**Arnaudon, 2011**).

Les abeilles butinent le nectar pour le transforme en les combinant avec les substances spécifiques qu'elles sécrètent, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**Oudjet, 2012**), Cette denrée peut-être fluide, épaisse ou cristallisée (**Blanc, 2010**).

I.2. Production du miel

Au sein de la ruche, chaque abeille a un rôle bien défini qui évolue au cours de sa vie (**Irlande, 2010**). Les abeilles butinent de fleur en fleur en remplissant leurs jabots de substances sucrées. C'est donc dans leur jabot que l'insecte conserve le nectar en attendant d'être arrivé à la ruche. Là les butineuses donnent leur récolte à d'autres abeilles en charge d'enrichir le tout en enzymes. Ces enzymes vont changer la composition de la miellée en agissant sur le sucre. Ensuite des ouvrières vont faire sécher ce miel qui contient encore plus de 50% d'eau. Elles régurgitent d'abord plusieurs fois le miel. Elles l'étaient en couche avec leur langue. Elles entreposent tout cela dans les cellules et mûrir. Les abeilles ventileuses font ensuite rentrer l'air extérieur. Enfin la colonie fait monter la température à plus de 30°C. Ce processus va faire réduire jusqu'à 18% la teneur en eau du miel et cela en 4 jours (en moyenne). La cellule une fois pleine de miel, elle est recouverte de cire pour la protéger. (**Arnaudon, 2011**).

I.3. Différent types du miel

Le miel est classé en fonction de plusieurs critères :

- **origine floraux** : La majorité des miels proviennent d'une flore bien diversifiée ; Les miels mono floraux sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale (par exemple : le miel d'acacia, d'oranger et de lavande) ; les miels poly

floraux qui sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales (Chouia, 2014).

- **Origine géographique :** Certains miels polyfloraux ont acquis une réputation particulière qui est liée à leur origine géographique, qu'il s'agisse d'une petite région, d'une province d'un continent ; par contre, il n'est pas impossible qu'une origine florale soit associée avec une région (Chouia, 2014).

I.4. La composition du miel

La composition du miel dépend essentiellement des sources florales et de certains facteurs externes, environnementaux, tel que la nature de la flore butinée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie... (Terrab et al., 2003 ; Irlande, 2010). La composition du miel est résumée dans le **tableau I**.

Tableau I : Composition physicochimique moyenne des miels (Hoyet, 2005)

Composition	Pourcentage total	Type de composés	Principaux composants
Eau	15 à 20 % (moyenne 17 %)		
Hydrates de carbone	75 à 80 %	Monosaccharides	Glucose (33%) Fructose (39%)
		Disaccharides	Maltose (0,9 %). Isomaltose. Saccharose (2 ;3 %)
		Polysaccharides	Erlose.Raffinose.(mélézitose).(Kojibiose). (dextrantriose). (mélibiase)
Substance diverses	1 à 5 %	Acides (0,1 à 0,5 %)	(Gluconique 0,1 à 0,4%).(maléique).(succinique).(oxalique).(glutamique). (Pyroglutamique).(citrique).(glucuronique).ormique(0,01 à 0,05%).
		Protéines et acides aminés(0,2 à 2%)	Matiérealbuminoïdes.matière azotés.(proline).(tyrosine). (leucine).(histidine).(alanine).(glucine).(méthionine).(acide aspartique).
		Vitamines	B.C.(A.D.K)
		Enzyme provenant des glandes hypopharyngiennes	Amylase a et B.gluco-invertase.glucoxydase.
		Enzymes provenant du nectar	(catalase).(amylase).(phosphatases acides).
		Minéraux	K.Ca.Na.Mg. Mn.Fe.Cu.(Co.B.Si.Cr.Ni.Au.Ag.B a.P.Cs)
Aromes		Esters	Méthylantranylates.acétates.méthyléthylcétone...
		Aldehydes et Acétones	Formaldehydes.acétaldehydes.....
		Alcools	Méthanol.éthanol.Isobutanol.2 phényléthanol....
Flavones			Flavanol.catéchine.querucitine.
Lipides	Traces	Acides gras	(Acide palmitiques.butyrique.caprique.caproïque.valériquie.

Les substances indiquées entre parenthèses sont à l'état de traces : les % sont donnés par rapport au poids total du miel

I.5. les caractéristiques du miel

Le miel a des caractéristiques sensorielles et physico-chimiques très variables due aux conditions climatiques et environnementales et à la diversité des origines des plantes à partir desquelles elles sont récoltées.

I.5.1. Caractéristiques physico-chimiques

➤ **Densité**

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. On peut admettre une moyenne de 1.4225 à 20°C (**Chouia, 2014**).

➤ **Viscosité**

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé ; par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, agitation, composition chimique), entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (**Chouia, 2014**).

➤ **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 à 1.53 °C en solution à 15%., et 2.75°C à 3.15°C en solution aqueuse à 25% (**Boufaghes et Mherigue, 2011**).

➤ **Conductivité électrique**

C'est la propriété du miel à conduire le courant électrique. D'après (**Pros, 1987**) la conductibilité électrique est liée à la teneur du miel en matières minérales. La conductibilité électrique est donnée en S.cm⁻¹ (S pour Siemens) (**Boufaghes et Mherigue, 2011**). Elle permet de distinguer aisément des miels de miellat des fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel ; plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée. Récemment, des données complètes relatives à la conductivité de milliers de miels commercialisés ont été publiées, les miels de nectar (à l'exception *Banksia*, *Erika*, *Eucalyptus*, *Eucryphia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Tilia*) et les mélanges du miel de nectar

et miel de miellat aient une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et que le miel de miellat et le miel de châtaignier sont supérieurs à 0,8 mS/cm. (Chouia, 2014).

➤ **Indice de réfraction**

Il est couramment utilisé par les techniciens qui se servent de réfractomètres de petite taille, très pratiques. L'indice permet de calculer une variable très importante, la teneur en matière sèche, bien plus rapidement que pour les autres méthodes (Chouia, 2014 ; Boufaghes et Mherigue, 2011).

➤ **pH**

Le pH du miel varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin = max 5,3). Les miels à pH bas (type lavande = min 3,3) se dégradent plus facilement : il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation (Chouia, 2014).

➤ **L'hygroscopicité**

Un miel à 18% d'eau se trouve en équilibre dans une atmosphère dont l'humidité relative est de 60% (Boufaghes et Mherigue, 2011).

➤ **Cristallisation**

La cristallisation du miel est un processus naturel, sa vitesse dépend surtout de la teneur en glucose du miel. 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 2 phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau. La cristallisation est la plus rapide à la température de 14°C. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78 °C (Chouia, 2014).

➤ **Couleur**

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair moins il est riche en minéraux et inversement (Blanc, 2010). La couleur du miel est un autre paramètre de qualité.

Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs(Chouia, 2014), elle va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) en passant par toute la gamme des

jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts ; mais le plus souvent le miel est blond (**Boufaghes et Mherigue, 2011**). Elle 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 du miel très clair ; les plus foncés étant les plus minéralisés. (**Chouia, 2014**). Cette variabilité en couleur présenter sous l'effet de plusieurs facteurs tels que :

- ✓ L'origine botanique.
- ✓ La composition : Le miel foncé est plus riche en matières minérales (manganèse, fer, cuivre et l'azote).
- ✓ La cristallisation qui provoque une modification de la teinte originale du miel.
- ✓ Les altérations comme l'oxydation et la caramélisation (**Oudjet, 2012**).

I.5.2. Caractéristiques nutritionnelles

Le miel est apprécié partout comme aliment sucré et au goût agréable. En temps de pénurie alimentaire, c'est une source précieuse de glucides qui contient des oligo-éléments et apporte une diversité nutritionnelle dans les régimes alimentaires trop pauvre. Le miel occupe souvent une place importante dans la préparation des plats traditionnels (**Chouia, 2014**), De plus, il peut prétendre à de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques (**Blanc, 2010**). Il contient :

- Des glucides qui représentent 95 à 99% de la matière sèche. La plupart sont des sucres simples dont le fructose (environ 40%) et le glucose (environ 30 à 40%).
- Des acides aminés.
- Des vitamines et minéraux : vitamine C, vitamine B, potassium, calcium, cuivre, fer, zinc, manganèse, phosphore... (**Chouia, 2014**).

I.6. les propriétés thérapeutiques

A cause de sa forte concentration en sucre, le miel est une source d'énergie par excellence. Le miel représente un apport énergétique de l'ordre de 300 k cal pour 100 g. les sucres contenus dans le miel sont rapidement utilisés. Pour exercer un même pouvoir sucrant, il faudra seulement 7,5 gramme de miel contre 10 grammes de sucre soit 22 calories pour le miel contre 40 calories pour le sucre, c'est à dire presque la moitié. (**Arnaudon, 2011**).

Chaque miel a des effets différents : calmant, sédatif, antiseptique, diurétique, antalgique, stimulant... : Il est utilisé en cas de troubles digestifs, d'ulcères gastriques, d'asthénies (états de fatigue physique, psychique ou intellectuelle), d'anorexie (manque

d'appétit) ; de plus c'est un antibactérien efficace, Appliqué sur les brûlures, ulcères, plaies ou cicatrices infectées, il se révèle d'une rapide et réelle efficacité. (Michel, 2012).

Par sa teneur en flavonoïdes, c'est un antioxydant, sa consommation régulière semble apporter une protection contre certains cancers. Le miel est précieux pour le traitement des maladies cardiovasculaires, le cancer, la cataracte, et plusieurs maladies inflammatoires (Boufague et Mherique, 2011).

Le miel est connu pour être riche en antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, notamment la glucose-oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les acides organiques, les produits de la réaction de Maillard, les acides aminés, et les protéines (Cheldof *et al.*, 2002).

I.7. Conservation

Le miel est un produit périssable qui subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. La conservation du miel nécessite le contrôle de l'humidité, de la chaleur et de la lumière. La température élevée provoque la dégradation des sucres, une perte d'arôme et une augmentation de l'acidité. (Chouia, 2014).

II. Généralité sur l'huile d'olive

II.1. Définition

L'huile d'olive, extraite du fruit de l'olivier par des procédés mécaniques, est le produit méditerranéen par excellence. Elle peut être consommée directement après extraction dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent son altération (Djadoun, 2010 ; Veillet, 2010). Il existe trois types de l'huile d'olive propres à la consommation : à savoir l'huile d'olive vierge extra (acidité inférieure ou égale à 0,8%), l'huile d'olive vierge (acidité inférieure ou égale à 2%) et l'huile d'olive vierge courante (acidité inférieure ou égale à 3,3%) (Ouaouch et Chimi, 2007).

II.2. Technique d'extraction de l'huile d'olive

L'extraction de l'huile d'olive a toujours été le principale objectif de la culture de l'olivier, les méthodes d'extraction ont évolué mais le processus d'extraction de l'huile d'olive reste toujours le même, il inclut : le triage, le broyage, le malaxage et la séparation des phases liquides (Djadoun, 2010).

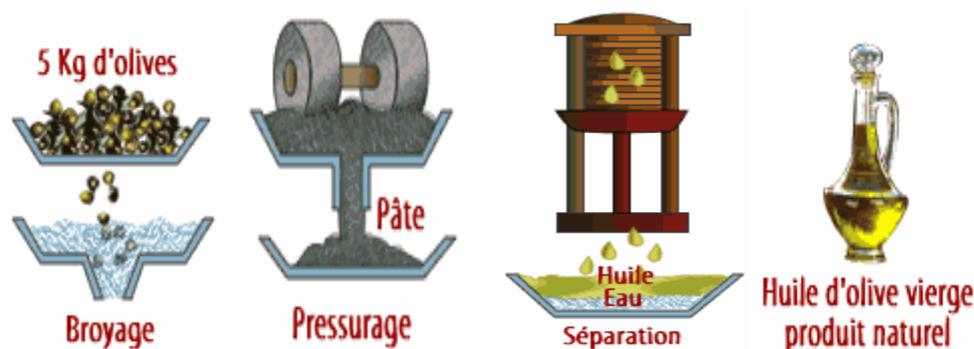


Figure 1 : Procédés général d'extraction de l'huile d'olive (Benabid, 2009)

II.3. Caractérisation de l'huile d'olive

L'huile d'olive est un liquide limpide, transparent, jaune ou jaune vert, d'odeur caractéristique, pratiquement insoluble dans l'alcool, miscible à l'éther diéthylique et à l'éther de pétrole (Bouhadjra, 2011).

Tableau II : Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive (Mefteh *et al.*, 2013).

Densité relative	0,910 - 0,916 (20°C/eau à 20°C)
Indice de réfraction	1,467 – 4705 (n)
Indice de saponification	184 – 196 (mg KOH/g d'huile)
Indice d'iode	75 – 94 (Wijs)
Acidité libre	0,3 – 1 % (g d'acide Oléique libre/100 g d'huile)
Indice de peroxyde	<20 - <15 (Milliéquivalents d'oxygène actif/Kg d'huile)
Absorbance dans l'ultraviolet	2,50 – 2,60 (à 232 nm)

II.4. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés. La composition de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

- Les substances saponifiables (Benrachou, 2012) (un grand nombre de composés structurellement hétérogènes dont les principaux sont les triglycérides, acides gras, une faible quantité d'acides gras libres, du glycérol, des pigments, de 96 à 98% de l'huile) (Benabid, 2009).
- Les substances insaponifiables (Benrachou, 2012) (un grand nombre de composants dits «mineurs» présents en faibles quantités de 2 à 4% de l'huile) et qui ont des effets bénéfiques. On peut séparer ces composés en tocophérols, phénols, composé aromatiques, hydrocarbures et stérols) (Benabid, 2009).

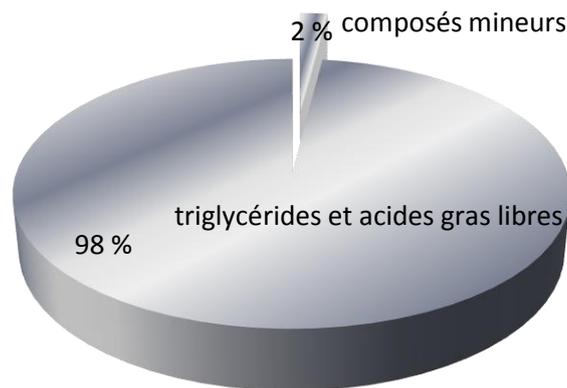


Figure 2 : Composition chimique de l'huile d'olive (**Benlemlih et Ghanam, 2010**)

II.5. Stockage de l'huile d'olive

L'huile d'olive est immédiatement stockée dans des cuves en inox afin d'éviter l'oxydation. (**Benabid, 2009**). Elle peut être stockée pendant plusieurs mois. Durant son stockage, l'huile d'olive peut subir des changements organoleptiques caractérisés par l'augmentation de l'acidité (due à l'action des lipases) et le développement des réactions de rancissement. (**Benlemlih et Ghanam, 2010**). Pour cela, elle doit être conservée à l'abri de la lumière, à l'abri de la chaleur (aux environs de 18°) et à l'abri de l'air pour garder ses propriétés (**Monique, 2008**) évitant à la fois le chauffage et le gel. Sinon l'huile devient blanchâtre, relativement solide avec un dépôt formé par la cristallisation partielle des triglycérides et des acides gras saturés au cours de l'hiver (à une température inférieure à 10°C). Les températures supérieures à 22-25° C doivent également être évitées car elles accélèrent les modifications biochimiques et les phénomènes d'oxydation qui peuvent conduire au rancissement de l'huile d'olive (**Benlemlih et Ghanam, 2010**).

II.6. Propriétés biologiques de l'huile d'olive

L'olivier et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels et qui peut être utilisée dans l'industrie pharmaceutique (**Benabid, 2009**). L'huile d'olive bénéficie d'une forte image « santé » auprès du consommateur, elle contient bien plus de substances protectrices à un très bon pouvoir antioxydant par sa composition phénolique (**Monique, 2008**), les radicaux libres sont piégés d'une façon efficace par les polyphénols de l'huile d'olive ce qui explique leur grand pouvoir antioxydant (**Benlemlih et Ghanam, 2010**). La richesse de l'huile d'olive en polyphénol permet la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires, en effet, ces polyphénols favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la

disponibilité du monoxyde d'azote, suppriment l'agrégation plaquettaire, stimulent les antioxydants endogènes des LOL pour retarder l'artériosclérose et réduisent les réactions inflammatoire (**Monique, 2008 ; Benlemlih et Ghanam, 2010**). Elle semble de plus éviter la formation de caillots sanguins (**Monique, 2008**) Hydroxyl thyrosol, puisant composés phénolique de l'huile d'olive, augmente la production de mitochondrie, le nombre élevé de mitochondrie dans la cellule est un indicateur de la jeunes du Corp. et de la bonne santé. L'oleuropéine et l'hydroxy thyrosol sont des agents utiles pour inhiber la fusion et l'intégration du VIH dans les cellules humaines, ainsi que sont de puissant protecteur contre le cancer, ces composés naturels sont aussi d'excellente substance pour le traitement du cancer. (**Benlemlih et Ghanam, 2010**).

III : Notion de stress oxydatif et de l'activité antioxydant

Radicaux libres, stress oxydant, espèces oxygénées activées, antioxydants sont devenus des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même le grand public. Le milieu médical prend conscience qu'une augmentation de stress oxydant chez un individu est potentiellement une cause d'apparition de diverses pathologies comme les maladies cardio-vasculaires, le cancer ou le diabète sucré (**Haleng et al., 2007**), lorsque elle peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec comme conséquence une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés (**Limet, 1999**). Pour se prémunir contre ces pathologies, il est important de disposer de défenses antioxydants adéquates qui doivent nous être apportées par une alimentation saine, particulièrement riche en fruits et légumes. Actuellement, il existe un réel consensus scientifique sur le fait que, plus le statut en antioxydants d'un individu est bas plus le risque de développer ces pathologies est élevé (**Haleng et al., 2007**).

III.1. Les radicaux libres

III.1.1. Définition des radicaux libre

Un radical libre est une espèce chimique, possédant un électron célibataire (ou électron non apparié) sur sa couche périphérique, qui est beaucoup plus réactive que la molécule ou l'atome dont elle est issue. La majorité des espèces radicalaires sont dérivées de l'oxygène, mais certaines peuvent être dérivées du soufre (RS•, les thiyles) ou de l'azote (•NO) qui possède un électron partagé entre son atome d'azote et son atome d'oxygène.

Les espèces radicalaires dérivées de l'oxygène ou de l'azote, ont un rôle physiologique important en agissant à faibles concentrations comme des messagers secondaires capables de :

- réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules, évitant ainsi leur évolution vers un état cancéreux.

- activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP Kinase), eux-mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (**Bennammar, 2011**), les RL possèdent une forte réactivité et une courte demi-vie (**Bouabdallah, 2014**).

III.1.2. Rôles des Radicaux libres oxygénés (RLO) dans la physiologie

Les RLO présentent un paradoxe en ce qui concerne leur fonction biologique : d'une part, ils préviennent la maladie par l'implication du système immunitaire, médiation de la signalisation cellulaire et jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager d'importantes macromolécules dans les cellules et peuvent intervenir dans la cancérogénèse et les maladies cardiovasculaires. La formation des RLO est une conséquence naturelle du métabolisme aérobie qui est importante pour la maintenance de l'homéostasie (balance entre les oxydants constitutifs et les antioxydants) de l'oxygène tissulaire. L'homéostasie de l'oxygène est maintenue par une série de réactions d'oxydo-réduction (redox) incluant le transfert d'électrons entre deux espèces chimiques : les composés qui perdent des électrons (oxydants) et ceux qui acceptent des électrons (réducteurs). Quand l'homéostasie de l'oxygène n'est pas maintenue, l'environnement cellulaire devient oxydativement stressé (**Chaabi, 2008**).

III.1.3. Mécanisme d'action des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaires. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans tous les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faibles quantité dans les mitochondries. Il s'agit des radicaux superoxyde, hydroxyde et de peroxyde d'hydrogène qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient l'organisme sait cependant se défendre contre eux grâce aux enzymes antioxydants contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action anti radicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium. Si ces systèmes de défense sont

déborder ou insuffisants, les radicaux libres en tout le loisir d'être nuisible : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (leur structure est modifiée) ; ils agressent également les protéines, les micro fibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et l'ADN lui-même est transformé entraînant l'apparition d'une série d'anomalie dont le risque de cancérisation. Lorsque les radicaux libres lèsent les acides gras insaturés on parle de lipidoperoxydation des membranes cellulaires. Cela déclenche alors une réaction en chaîne sur les divers acides gras du voisinage jusqu'à ce qu'ils soient neutralisés (**Kebbab, 2014**).

III.2. Stress oxydant

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ROS, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ROS, soit à une diminution de la capacité de défenses antioxydantes. La pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, l'exposition prolongée au soleil ou à des radiations, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont des sources de production des ROS. Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants exogènes nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante (**Bouguerne, 2012**), Il joue un rôle significatif dans l'apparition de nombreuses maladies. En effet, l'agression de l'ADN cellulaire par les radicaux libres peut générer des cancers, des perturbations métaboliques, mais aussi accélérer le vieillissement tissulaire et cérébral (**Hoyet, 2005**).

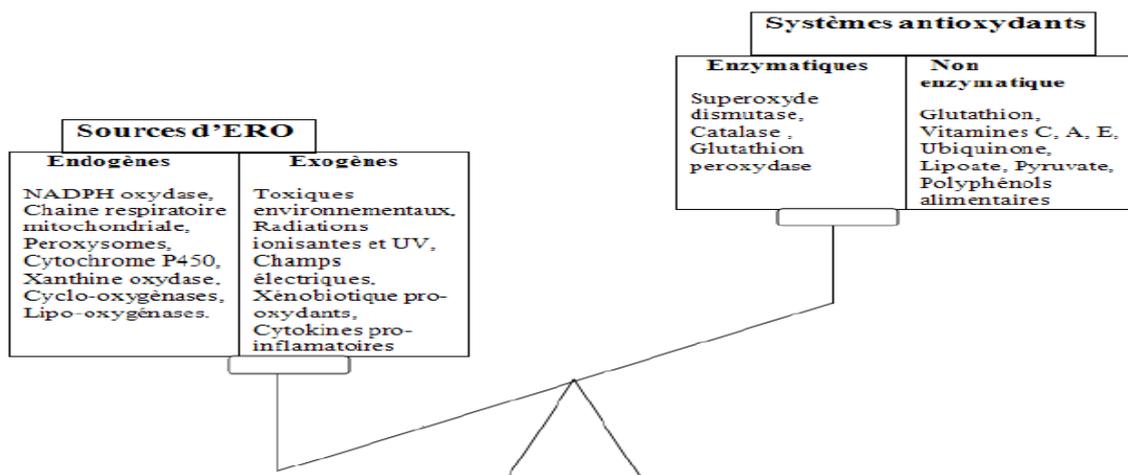


Figure 3 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Bouabdallah, 2014)

III.2.1. Conséquence des stress oxydant

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines, etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus. la représente un exemple des dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène au niveau de l'ADN (**Boubekri, 2014**).

III.3. Antioxydant

L'oxydation est le transfert des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrice. Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaîne en ce réduisant avec les radicaux libres et annihilant ainsi leur action. Ces propriétés se trouvent beaucoup dans les familles des thiols et des phénols (**Bouhadjra, 2011**).

III.3.1. Définition

Dès le début du XXème siècle, l'industrie s'est intéressée de près aux antioxydants ou «antioxygène», (**Defraigne et Pincemail, 2007**). un antioxydant est n'importe quelle substance, qui quand elle est présente en des concentrations faibles, comparées à ceux d'un substrat oxydable, retarde de façon significative, ou empêche, l'oxydation de ce substrat.

Les antioxydants biologiques sont des substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères possibles des processus ou réactions engendrant une oxydation excessive, Les antioxydants sont donc des molécules qui peuvent prévenir la formation des ROS, ou qui peuvent réagir avec ces derniers pour les neutraliser Pour assurer sa défense contre les attaques de radicaux libres, l'organisme possède deux grands systèmes de protection : les enzymes détoxifiantes et des antioxydants non enzymatiques intra et extracellulaires qui interviennent selon un ordre hiérarchique (**Amzal, 2010**).

III.3.2. Classification des antioxydants

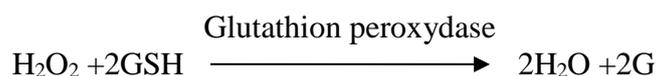
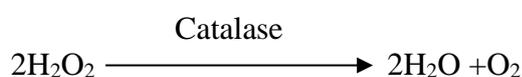
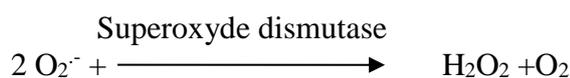
III.3.2.1. Antioxydant naturelle

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes. (**Bouguerne, 2012**).

III.3.2.1.1. Antioxydants Enzymatique

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Auberval, 2010).

Les antioxydants enzymatiques s'agit principalement de trois enzymes ; la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Atti, 2014).



III.3.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton. Ce type d'antioxydants possède un avantage considérable par rapport aux antioxydants enzymatiques. du fait de leur petite taille, ils peuvent en effet pénétrer facilement au cœur des cellules et se localiser à proximité des cibles biologiques. Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques (Boubekri, 2014).

III.3.2.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques (comme le butylhydroxyanisole (BHA), le tertiarybutylhydroquinone (TBHQ), le 2,4,5-trihydroxybutyrophenone (THBP), le di-tertbutyl-4-hydroxyméthylphénol (IONOX-100), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydroguaiaretique (NDGA) et le 4-hexylresorcinol (4HR), sont

utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales (Guo et al, 2006). le gallate de propyle et le butylhydroxyanisole sont des antioxydants 26 phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la prooxidation des acides gras insaturés malgré la puissance de leur activité antioxydant, l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, responsable des mutagenicités et peut même présenter un danger sur la santé humaine (Kahouli, 2010).

Tableau III : Quelques exemples d'utilisation réglementé des antioxydant(Bouhadjra., 2011)

Nature de l'aliment	Antioxydant	Concentration maximale (ppm)
Saindoux,graisse de bouef,de volaille et de mouton,huile de poisson.	Gallates et BHA seuls ou en mélange	200
	BHT	100
Compléments alimentaires	Gallates,BHT,BHA	400
Soupes et viandes déshydratées,lait en poudre	Gallate et BHA seuls ou en mélange	200

III.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydante dont les mécanismes d'action sont différents (tableau III)

Tableau IV : Principaux modes d'action de quelques antioxydants (Pastre , 2005)

	Nature	Mode action
Défense non enzymatiques	Vitamine E	
	Vitamine C	
	Béta caroténe	Fixation des métaux de transition
	Ubiquinones, acide urique...	
Défense enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydroperoxydes

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

- Système de défense primaire : ex : la catalase (CAT), le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention.

- Système de défense secondaire : ex : les tocophérols. Ces molécules sont dites « chainbreaking ». Elles réagissent avec les ROO^o et/ou les R^o, bloquant ainsi les réactions de propagation. Ce type d'antioxydant permet d'éviter le passage de formes peu réactives (O₂⁻) à très réactives (OH^o) (**Pastre , 2005**).

III.3.4. Efficacité des antioxydants

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui ont les énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique. L'efficacité d'un composé phénolique dépend également du nombre de fonction OH à hydrogène labile (**Bouhadjra, 2011**).

III.3.5. Evaluation de la capacité antioxydante par des tests *in vitro*

Les antioxydants peuvent réduire les radicaux primaires par deux mécanismes : par transfères d'électron singulet ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes ABTS⁺ Decolorization Assay (ou TEAC) et DPPH jouent sur le transfert d'électron singulet, alors que la méthode ORAC joue sur le transfert d'un atome d'hydrogène.

Les méthodes ABTS et DPPH sont couramment utilisés pour analyser les extraits de plantes et de fruits. La méthode ORAC est plus récente et est applicable sur quasiment toutes les matrices (extraits végétaux, aliments, plasma sanguin...) (**Bouhadjra, 2011**).

Partie expérimentale

Matériel
et
méthodes

I. Matériel et Méthodes

I.1. Préparation des échantillons

I.1.1. Huile d'olive

L'huile d'olive utilisé dans notre étude, dont le label est « huilerie moderne Azrou », provient d'une huilerie d'Azrou-colla de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (**figure 4**). Le pH et l'acidité de cette huile sont respectivement 5,39 et 4,48%.

Pour la préparation des extraits de l'huile d'olive (**figure 5**), 5 g de cette dernière est mélangée avec 5 mL d'hexane et 10 mL d'éthanol (60%). Après 20 minutes d'agitation et d'incubation, respectivement, la phase aqueuse est récupérée puis conservée à froid jusqu'à utilisation (**Kebbab., 2007**).



Figure 4 : Huile d'olive

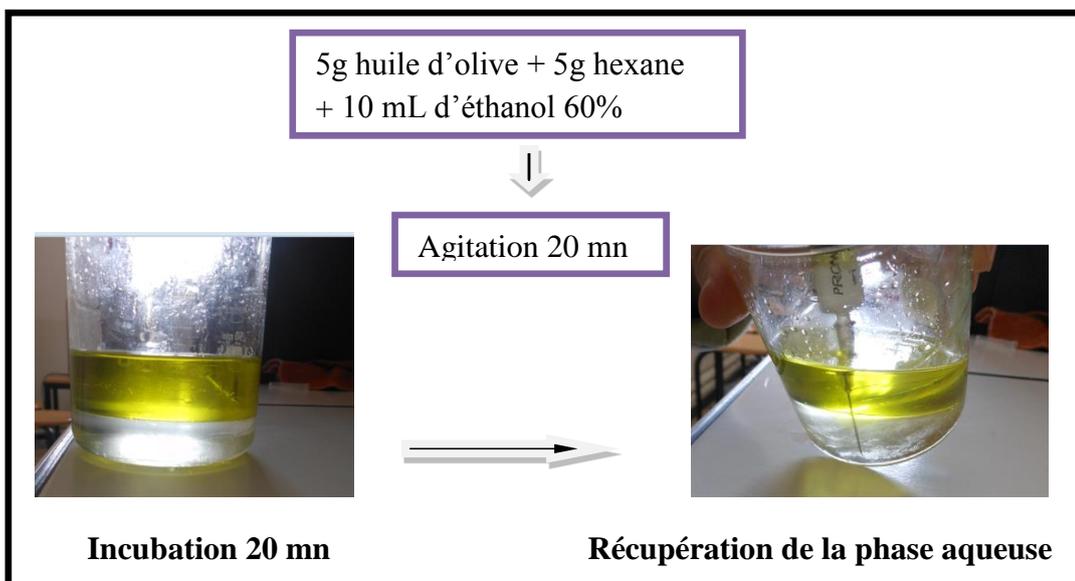


Figure 5 : Préparation de solution de l'huile d'olive

I.1.2. Le miel

Le miel utilisé dans le présent travail (**figure 6**), est un miel polyfloraux récolté en juillet 2015 dans la forêt du nord de Bordj Zemmoura (**TUTEST**). Le pH et l'acidité de ce miel sont respectivement 4,5 et 5,12%.

Pour la préparation de la solution du miel (**figure 7**), 5g de ce dernier sont dilués avec 50 mL d'eau distillée. Après une agitation de 10 minutes, solution obtenue est conservée à froid jusqu'à utilisation (**Ouchemoukh ., 2012**)



Figure 6 : Miel d'abeilles.

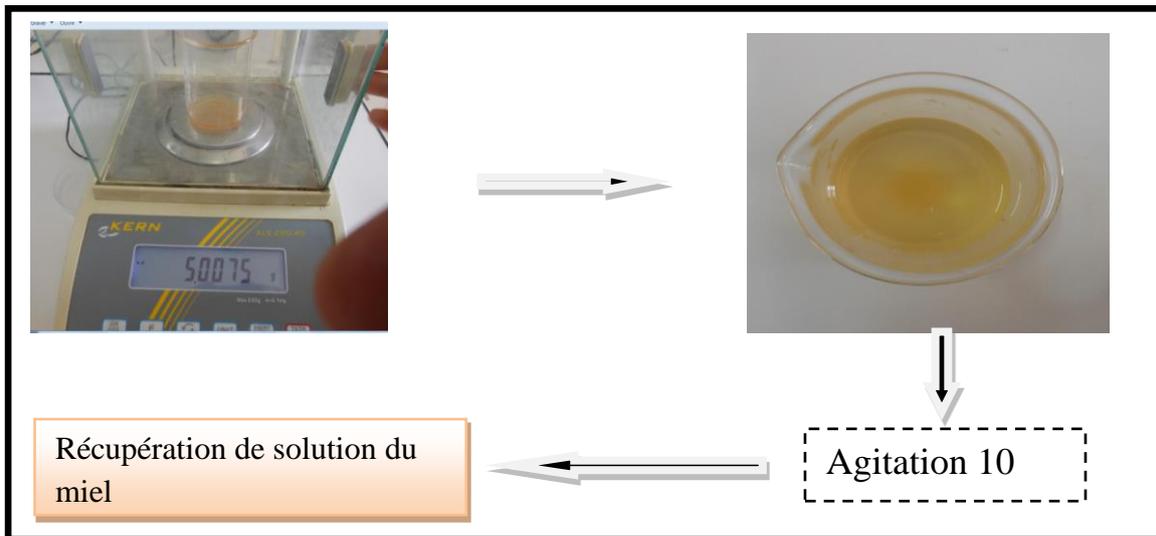


Figure 7 : Préparation de la solution miel

I.1.3. le mélange huile d'olive-miel

Pour la préparation du mélange, deux volumes identiques de solutions de miel et d'huile d'olive sont mélangés puis agités pendant 20 mn.

I.2. Dosage des antioxydants

I.2.1. Polyphénols totaux

Principe

La quantification des polyphénols totaux est réalisée selon la méthode utilisant le réactif Folin Ciocalteu (**Zirar., 2014**). Ce réactif est constitué d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Ce mélange d'acide est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Cette coloration bleue, dont l'intensité est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu, donne un maximum d'absorption à 765 nm (**Kebbab ., 2014 ; Harrar., 2012**).

Protocole

Un volume de 200 µL d'extrait est mélangé avec 200 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (50%) et 4,4 mL de carbonate de sodium (2%). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm. Les résultats sont exprimés en mg d'acide gallic équivalent par /g d'échantillon Naithani et al , 2006.

I.2.2. Flavonoïdes totaux

Principe

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune (**Donzo et al., 2015**). Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm (**Belguidoum., 2012**).

Protocole

La teneur en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive et du miel sont estimés par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium. Un volume de 1 ml d'échantillon est mélangé avec un volume égal de solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol pure). Le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance mesurée à 430 nm après 10 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimés en µg de quercétine équivalent/ g d'échantillon.

I.2.3. Caroténoïdes totaux

Principe

Les caroténoïdes sont des composés insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane et le chloroforme. L'extraction de ces substances consiste à utiliser deux phases : une phase apolaire qui permet la récupération des caroténoïdes et une phase polaire (éthanol/acétone) qui élimine les interférents tels que les polyphénols et les flavonoïdes (**Ouchemoukh., 2012**).

Protocole

La teneur en caroténoïdes est déterminée suivant la méthode décrite par **Sass-Kiss et al., (2005)**. Une prise de 7 g d'échantillon est additionnée à 15 mL de mélange de réactif d'hexane, acétone et éthanol (2/1/1). Après une agitation d'une heure, l'absorbance du surnageant est mesurée à 420 nm. Les résultats sont exprimés en μg bêta-carotène / g d'échantillon en utilisant le coefficient d'extinction molaire du bêta-carotène.

I.3. Détermination de l'activité antioxydante

Le potentiel antioxydant des extraits de l'huile et du miel ainsi que leur mélange est évalué par deux tests à savoir l'activité anti-DPPH et le pouvoir réducteur.

I.3.1. Activité anti-DPPH

Principe

Ce test est basé sur la dégradation du DPPH : 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyl, qui est un radical stable de couleur violée. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (**Chaabi., 2008 ; Fkih., 2007 ; Ksouri., 2007**). Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait à piéger ce radical, qui peut être détecté par un spectrophotomètre-UV (517 nm).

Protocole

L'activité anti-DPPH est réalisée selon le protocole décrit par **Brand et Williams, (1995)**. Brièvement, 500 μL de chaque solution des extraits sont ajoutés à 1,5 mL de la solution méthanolique du DPPH. L'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Les résultats sont exprimés en mg AA équivalent / g d'échantillon.

I.3.2. Pouvoir réducteur

Principe

Le test du pouvoir réducteur est basé sur la transformation de Fe^{3+} présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{2+} en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons l'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés (**Kebbab., 2014**)

Protocole

Le pouvoir réducteur du miel et de l'huile d'olive ainsi que leur mélange est évalué selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. Un volume de 1 mL d'extrait est additionné à 1 mL du tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 1 mL du ferricyanide $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Après 20 minutes d'incubation à 50°C, 1 mL de trichloroacétique acide (10%) est ajouté puis suivie d'une centrifugation pendant 10 minutes à 3000 tpm. Un volume de 1 mL du surnageant récupéré est

additionné avec 1 mL d'eau distillée et 0,5mL de FeCl_3 (0,1%). L'absorbance est lue à 700nm après 10 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimé en mg AA équivalent / g d'échantillon.

II. Analyse statistique

Les valeurs des paramètres étudiés ont été exprimées en moyenne plus ou moins l'écart type, le nombre de répétition est $n = 6$. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel (Statistica® 5.5).

*Résultats
et
discussion*

III. Résultats et discussion

III.1. Dosage des substances bioactives

III.1.1. Polyphénol totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Cette méthode est très sensible mais malheureusement peu spécifique car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer tels que les caroténoïdes et quelques sucres et acides aminés ; néanmoins, elle reste la méthode la plus utilisée pour déterminer la concentration des polyphénols totaux (**Pawlowska *et al.*, 2006**).

Les résultats des polyphénols totaux (PT) des échantillons analysés sont présentés dans la **figure 8**. D'après ce graphe, la teneur en PT du miel et de l'huile d'olive est de $99,6 \pm 0,047$ et $12,7 \pm 0,055$ mg EAG/100g, respectivement. Ce résultat concernant le miel est dans l'intervalle de ceux rapporté pour le miel de Turquie (0,24-141,83 mg/100 g), de Roumanie (2,00-125,00 mg/100 g) et de Yémen (56,32-246,21 mg/100 g) (**Silici *et al.*, 2010 ; Al *et al.*, 2009 ; Al-Mamary *et al.*, 2002**). Concernant l'huile d'olive, son résultat est similaire avec celui rapporté par **Ben Rachou, (2012)** sur variété d'huile assez précoce nommée «lemli» de la région de Bejaia ($12,13 \pm 0,01$ mg /100 g).

Statistiquement, il y a une différence significative entre la teneur du miel et l'huile d'olive ($p < 0,05$).

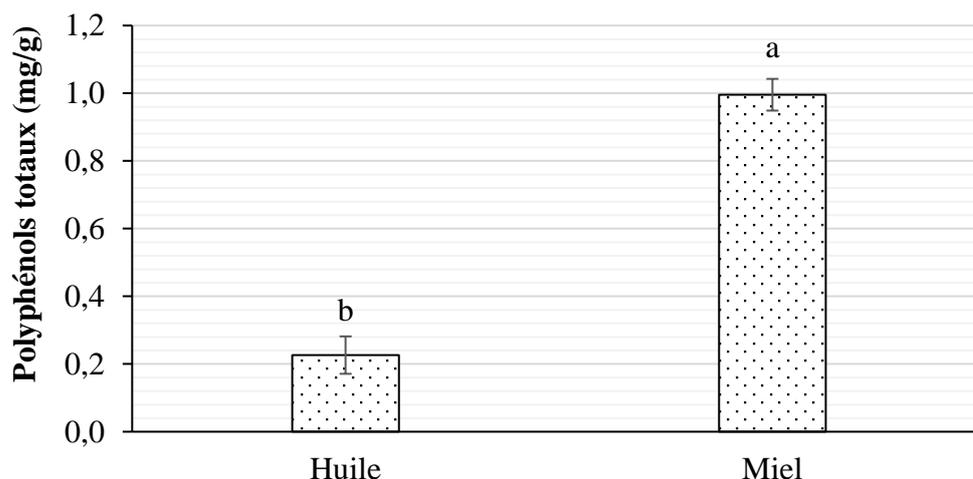


Figure 8 : Teneur en polyphénols totaux de l'huile d'olive et du miel analysés.

III.2.2. Caroténoïdes totaux

Selon (**Lazzer et al., 2006**), les carotènes sont des substances chimiques naturelles impliquées dans les mécanismes d'oxydation, leur présence en quantité suffisante permet de retarder le phénomène de la photo oxydation et de préserver les paramètres de qualité au cours du stockage.

Les résultats relatifs aux caroténoïdes totaux (CT) des échantillons analysés sont présentés dans la **figure 9**. La teneur en CT du miel et de l'huile d'olive est de 4,8 et 5,5 µg EBC /100g, respectivement. **Ouchmoukh (2012)** a rapporté un intervalle allant de 0,01 à 0,11 mg EBC/100 g des miels récoltés dans différentes wilayas d'Algérie. Alors que **Ben Rachou (2012)**, qui a travaillé sur la variété d'huile nommée «lemli» de la région de Bejaia, a rapporté un intervalle allant de 10 à 13,10 mg EBC /100g. De même, **Salvador et al. (2001)** ont rapporté in un intervalle allant de 2 à 14 mg/kg d'huile d'olive de la variété Cornicabra espagnole.

Statistiquement, il y a une différence significative entre la teneur du miel et l'huile d'olive ($p < 0,05$).

III.2.3. Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont reconnus par leurs hautes activités pharmacologiques comme piègeurs de radicaux. L'intérêt pour ces substances a été stimulé par les avantages potentiels pour la santé découlant de leurs activités antioxydantes et antiradicalaires (**Saba et al., 2011**).

Le teneur en flavonoïdes totaux (FT) des échantillons analysés est de $78,2 \pm 0,327$ et $14,5 \pm 0,079$ mg EQ/100 g du miel et de l'huile d'olive, respectivement (**figure 10**).

Le résultat du miel est différent de ceux obtenus par **Kishore et al. (2011)**. Ces auteurs ont rapporté des teneurs allant de 24,74 à 50,45 mg EQ/100 g pour les miels de la Malaisie. Concernant la teneur en FT de l'huile d'olive est en concordance avec celle rapportée par **kebbeb (2012)** pour la variété «Chemlal» de la région de Sidi Naaman (0,151-0,480 mg/g EQ). Cependant, notre résultat pour le huile d'olive est largement inférieur à celui obtenue par **Mannala (2014)** sur une variété collecté au niveau de la commune de Béni-Ourtilane dont la teneur est de 422 mg équivalent rutine/100 g. Cette variabilité peut être due la différence entre les variété, et **Bouabdellah (2014)** de valeur entre 0,460 et 0,994 mg/g équivalent catichine par 1g de matière sèche sur extraits du feuilles de l'olivier sauvage récoltées à la station de l'Ourit-Tlemcen durant le mois de Décembre 2013.

Statistiquement parlant, il existe une différence significative entre la teneur du miel et l'huile d'olive ($p < 0,05$).

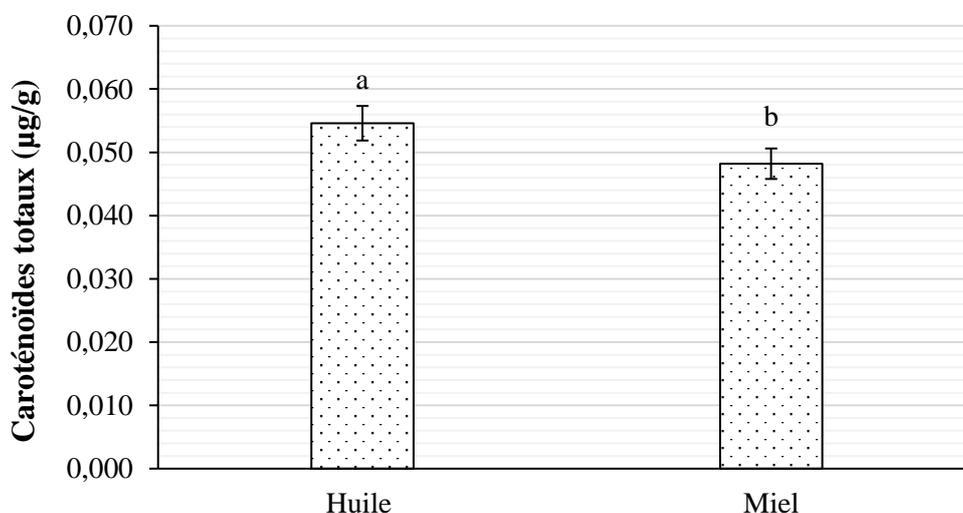


Figure 9 : Teneur en caroténoïdes totaux de l'huile d'olive et du miel analysés

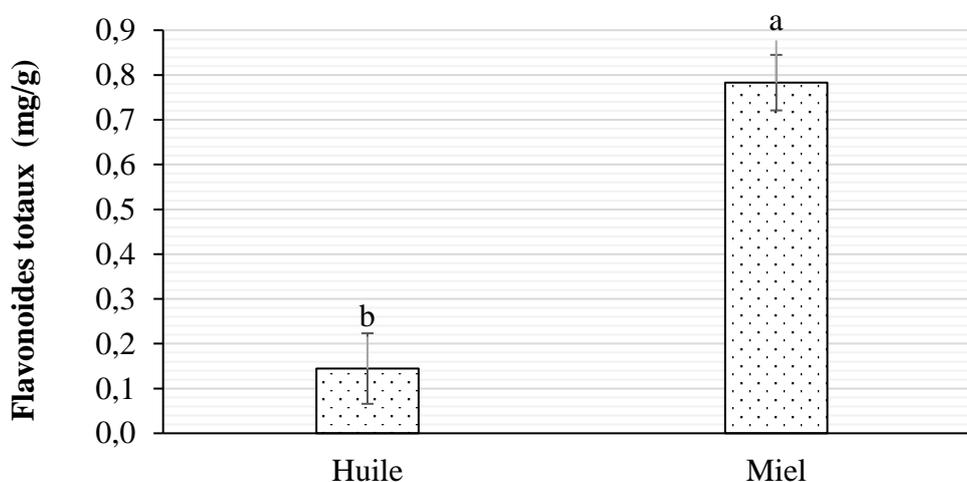


Figure 10 : Représentation graphique du flavonoïde en mg/g d'échantillons analysés

III.3. Activité antioxydants

III.3.1. Activité anti-DPPH

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). L'activité antioxydant est déterminée par la

diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH· à 517 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans l'échantillon (Maisuthisakul *et al.*, 2007; Da Silva *et al.*, 2008 ; kaoula 2007).

Les résultats de l'activité anti-DPPH du miel, de l'huile d'olive ainsi que leur mélange sont présentés dans la **figure 11**. D'après ce graphe, l'activité antioxydante la plus élevée est enregistrée par le miel avec une valeur de $1,48 \pm 0,016$ mg AAE/g suivie du mélange et l'huile d'olive ($0,298 \pm 0,013$ et $0,525 \pm 0,025$ mg AAE mg/g, respectivement).

Du point de vu statistique, l'activité anti-DPPH des extrait analysés est significativement différentes à $P < 0,05$

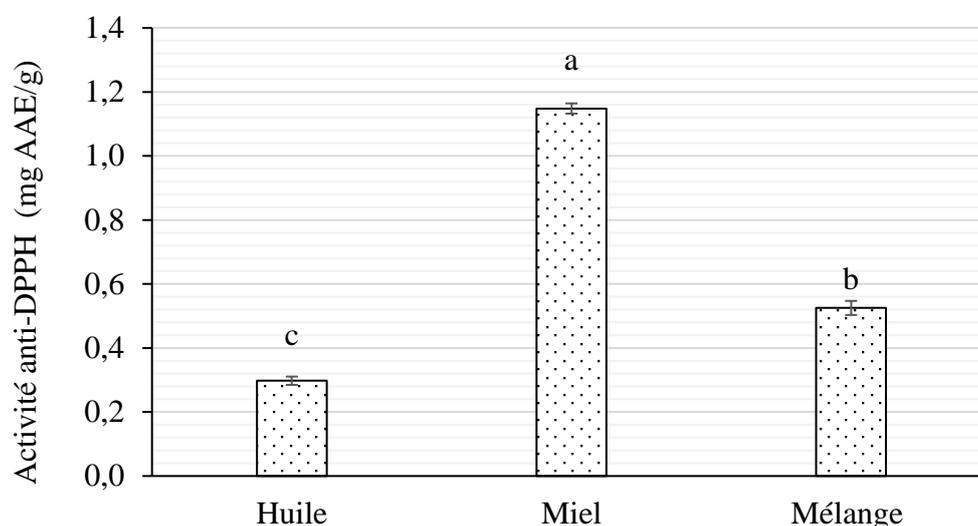


Figure 11 : Activité anti-DPPH de l'huile d'olive, du miel ainsi que leur mélange

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le miel et l'huile d'olive à travers le monde. A titre d'exemple, **Doukani (2014)** a rapporté un intervalle d'inhibition allant de 3,42 jusqu'à 22,06% pour quelques types de miel d'Algérie (Tiaret, Gelizane, Mostaganem, Béchar et Chlef) ; **Ouchmoukh (2012)** a obtenu un intervalle allant 2,97 à 87,68% pour les échantillons du miel de la wilaya de Bejaia. Quant à l'activité anti-radicalaire de l'huile d'olive ; **Manallah (2012)** a rapporté un intervalle allant de 2,585 à 20,334 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour l'huile d'olive de la région Béni-Outilane (wilaya de Sétif) alors que **Meroune (2014)** a obtenu une valeur d' IC_{50} de $25,38 \pm 0,64\text{mg}/\text{kg}$ d'huile d'olive, variété « Chemlal ».

III.3.2. Pouvoir réducteur

Les échantillons analysés présentent la capacité de céder un électron et de réduire ainsi le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

La **figure 12** présente les résultats obtenus pour les échantillons analysés. Le pouvoir réducteur (PR) des échantillons analysés est respectivement de $2,047 \pm 0,172$; $0,385 \pm 0,004$ et $1,730 \pm 0,500$ mg EAA/g pour le miel, l'huile d'olive ainsi que leur mélange. Comme pour l'activité anti-DPPH, le PR du mélange a présenté un effet synergique en faveur de l'huile d'olive.

Le PR de l'huile est statistiquement différent de celui du miel et du mélange ($p < 0,05$).

Le PR du miel obtenu dans la présente étude est supérieur aux résultats d'**Ouchmoukh (2012)**. Cet auteur a rapporté un intervalle allant de 0,17 à 0,71 mg EAA/ g. cette différence est due probablement à la végétation d'où butinent les abeilles.

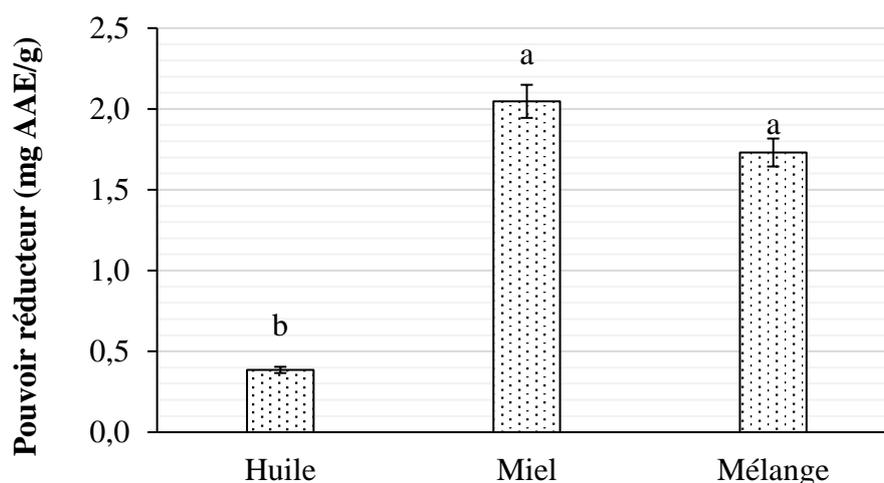


Figure 12 : Pouvoir réducteur de l'huile d'olive, du miel ainsi que leur mélange

Conclusion

Conclusion

Pour conclure, on peut affirmer clairement que le miel et l'huile d'olive présentent un potentiel antioxydant considérable dû principalement à leur richesse en substances antioxydantes (polyphénols, caroténoïdes et flavonoïdes totaux) d'une part, et à la présence d'une corrélation positive entre les substances bioactives et l'activité antioxydante, d'autre part.

En outre, le mélange « miel-huile d'olive » a laissé montrer un effet synergique mis en évidence lors de l'évaluation de l'activité antioxydantes (l'activité anti-DPPH et le pouvoir réducteur) en faveur de l'huile d'olive.

Cette étude corrobore l'utilisation traditionnelle de ce mélange pour soulager des douleurs et traiter certaines maladies.

Comme perspectives à la présente étude, il serait nécessaire de :

- ✓ Elargir le nombre de test de l'activité antioxydante (ORAC, ABTS, ...);
- ✓ Essayer différent ratios miel/huile d'olive,
- ✓ Faire des tests in vivo.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

- Al M L, Daniel D, Moise A, Bobis O, Laslo L, Bogdanov S., 2009** : Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania Food Chemistry, 112.p 863-867.
- Al-mamary M, Al-meeri A, Al-habori M, 2002** : Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey, Nutrition Research, 22.p1041–1047.
- Alves A, Ramos A, Margarida M, alves G, Bernardo M, Mendes B., 2013** : Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*. 18. 52–58.
- Amzal H., 2010** : Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier, Univ Mohammed V Agdal, 149 p.
- Arnaudon N., 2011** : Le miel utilisé comme thérapeutique, un composé complexe aux propriétés surprenantes, thèse de ROSSANT a faculté de pharmacie de Limoge.
- Atfi I., 2014** : Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épice (Ras el hanout), Univ Kasdi Merbah Ourgla.91p.
- Auberval N., 2010** : Prévention des stress oxydant dans le diabète et ses complication par des antioxydants d'origine naturelle, Univ Strasborg. 258p.
- Belquidoum M., 2012** : Une approche phytochimique pour différencier deux espèce de genre *Zygophyllum*. Univ Kasdi Merbah Ouargla.55p.
- Benabid H., 2009** : Caractérisation de l'huile d'olive Algérienne, Apports des méthodes chimiotriques, Univ Mentouri-Constantine.245p.
- Benammar C., 2011** : Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante medicinale nordafricaine, zizyhuslotusl (sedra) :etudes des différentes extraits, Univ Abou Bekr Belkaid-Telemcen.120p .
- Benmlih M, Ghanam J., 2012** : *Polyphénols d'huile d'Olive, Tresors Santé* MedicatrixEditions : Embourg, Belgique.
- Benrachou N., 2012** : Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Univ Badji Mokhtar-Annaba.112P.
- Blanc M., 2010** : Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges. 142 p.
- Bouabdallah A., 2014** : Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europeasylvestris*).78p.
- Boubekri C., 2014** : Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques, Univ Mohamed Khider.Biskra.210p.
- Boufaghes B, Mherigue M., 2011** : Effet antimicrobien des extraits phénoliques du miel Projet de Fin d'Etudes. univ kasdi merbah, ouargla.pp29.

- Bouguerne B ., 2012 :** Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose) , Univ Toulouse III 256p .
- Bouhadjra K., 2011 :** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge,Univ Mouloud Maamri Tizi-Ouzou.122p.
- Boulfane S, Maata N, Anouar N, Hilali S :** Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. Journal of Applied Biosciences 87:8022– 8029.
- Bouzin W., 2008 :** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'AUBEPINE MONOGYNE. Vol 12,N^o1.
- Brand-william W, Cuvelier M.E., 1995 :** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft undTechnologie*, 28: 25-30.
- Chaabi M., 2008 :** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines:Euphorbia stenoclada Baill. (Euphorbiaceae), Anogeissusleio carpus Guill and Perr. (Combretaceae), Limonias trumfeei (Girard) Batt. (Plumbaginaceae).Univ Louis PASTEUR Strasbourg.266p.
- Chaikham P, Kemsawasd V, 2016 :** Arunee Apichartsrangkoon .Effects of conventional and ultra sound treatments on physico chemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern. Thailand Food Bioscience 15. 19–26.
- Gheldof, N., Wang, X.-H., Engeseth, N.J., 2002.**Identification and quantification of Antioxidantcomponents of honeys fromvariousfloral sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 5870–5877.
- Chouia A., 2014 :** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout, Université Mohamed Khider, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie. Biskra. pp 201.
- Da Silva R, Saraiva J, Albuquerque S, Curti C, Donate P, Bianco T, Bastos J, Silva M., 2008 :** Trypanocidal structure–activityrelationship for cis- and trans-methylpluviatolide, Phytochemistry. 69 : 1890–1894.
- Defraigne J et Pincemail J., 2007 :** Stress oxydant et antioxydantS: mythes et réalités.EdRev Med liege 2007 ;62 :4.10 p.
- Djadoun S :** Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes.Univ Mouloud Maamri Tizi-Ouzou.87p.
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N., 2006 .:**Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. Food Chem. 97. 654-660.
- Donzo M, SARR A, DIOP M, SAMB A, BASSENE E, BARRYMS., 2015 :** Dosage des flavonoïdes totaux et détermination du pouvoir antioxydants dans l'extrait brut des écorces de tronc de Uopacatogoensis (Aub et Lean) pax.V8N01:11-18.Ed Revue Elwihat-Gurdaïd.

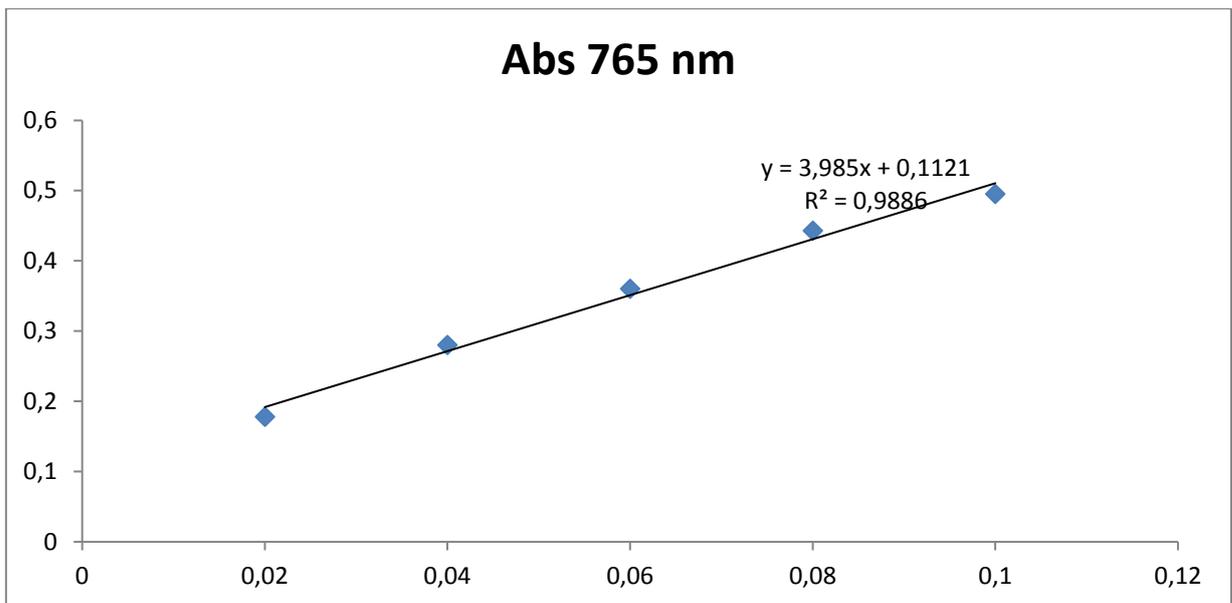
- Doukani k, Tabak S, Derriche A, Hacini Z, 2014 :** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. Laboratoire d'Agro-biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides, Univ Ibn Khaldoun. Tiaret. Revue Ecologie-Environnement (10). ISSN: 1112-5888. pp13.
- Escuredo O , Míguez M., Fernández-González. M, Carmen Seijo., 2013 :** Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. Food Chemistry 138. 851–856.
- Fkih S., 2007 :** Etude de l'effet de l'irradiation ionisante sur certains polyphénols alimentaires et résidus pesticides. Univ du Novembre à cartilage .85p.
- Gheldof, N., Wang, X.-H., Engeseth, N.J., 2002 :** Identification and quantification of
- Guo A., 2006 :** Evaluation de l'activité antioxydants des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. revue de génie industriel.4 : 25-39.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne M, Charlier C, ChaPelle J ., 2007 :** Le stress oxydant .Ed Rev Med liege 2007 ;62 :10.P 628-638.
- Harrar A., 2012 :** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de rhamnus alaternus L. Univ Farhet Abbas-Setif. 95p.
- Hoyet C., 2005 :** Le miel : de la source à la thérapeutique. Univ Henri Poincaré- Nancy I. Faculté de pharmacie. 75 p.
- Irlande D., 2010 :** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées "Qui souvent miel prendras, bien mieux se portera et plus vite guérira." 25 p.
- Je-Juan J, Berzas N., 2012 :** Virginia Rodríguez Robledo, Carolina Sánchez-Carnerero Calla do Monitoring the enrichment of virgin olive oil with natural antioxidants by using a new capillary electrophoresis method, Food Chemistry 133 497–504.
- Kahouli I., 2010 :** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*laurusnobilis* L., *rosmarinusofficinalis*, *organummajorana*, *oléaeuropea* L.) dans l'huile de canola chauffée. Univ Laval. 111p.
- Kaoula K., 2007 :** Contribution à l'étude phytochimique et d'activité antioxydante des extraits de *Myrtus Communis* L. (Rayhane) de la région de Telemcen (Honaine). Univ Abou Bekr Belkaid-Telemcen. 118p.
- Karagozler et al., 2008 :** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus Vulgaris*, *RosmarinusOfficinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Univ Mentouri-Constantine. 130 p.
- Kebbab R., 2014 :** Etude du pouvoir antioxydants des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *chemlal* : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Univ Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 171p.
- Kishore R, Sukari Halim A, Nurul Syazan M, Sirajudeen K., (2011) :** Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. Nutrition Research, 31, 322-325.

- Kowalski S., 2013 :** Changes of antioxidant activity and formation of 5-Hydroxymethyl furfural in honey during thermal and microwave Processing. *Food Chemistry*. 141. 1378- 1382.
- Ksouri R., 2007 :** Halophytes et biomolécules, laboratoire d'adaptation des plantes aux stress abiotiques, CBBC pole technologique de Borj-cédria, Bp 901,2050 Hammam lif,Tunisie.25p.
- Lazzez A, Cossentini M, Khlif M, Karray B., 2006 :** Etude de l'évolution des stéroïdes, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la société chimique de Tunisie*. 8. p 21 – 32.
- Lila et Raskin (2005 :** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*. 80. 249–254.
- Limet R, Pincemail M, Meurisse R, Defraigne J., 1999 :** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. n°5. vol4.
- Liu J, Ye L, Lin T, Wang Y, Peng C., 2013 :** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan *Food Chemistry* 139 938–943.
- Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatnimit R., 2007 :** Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some indigenous plants. *Food Chem ; 100:* 1409-1418.
- Meftah H, Latrache H, Hamadi F, Hanine H, Zahir H, El louali M., 2013 :** Comparaison des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olives issues de différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc). *J. Mater. Environ.Sci.* 5 (2) : 641-646.
- Merouane A, Noui A, Medjahed H, Nedjari Benhadj A, Saadi A., 2014 :** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. ISSN: 1991-8631 (print), ISSN: 1997-342X (online). 8(4):1865-1870.
- Michel M., 2012 :** D'après « Api thérapie » - Abeilles et Fleurs « Les remèdes de la ruche » - Domergo, Imbert, Blanchard ; « Guérir avec les abeilles » - Raynal-Cartabas. 5p.
- Monique A., 2008 :** L'olivier Sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique. 30p
- Mouhoubi-Tafnine Z, Ouchemoukh S, Tamendjari A, 2016 :** Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis . *Industrial Crops and Products* 88 85–90.
- Naithani J, Francois Darchambeau B, Eric Deleersnijder C, Jean-Pierre Descy B, Eric Wolanski D., 2006 :** Study of the nutrient and plankton dynamics in Lake Tanganyika using a reduced-gravity model, Elsevier. B. Vallrights reserved. V225-233.
- Nakbi A, Issaoui M, Dabbou S, Koubaa N, Echbili A, Hammami M, Attia N., 2010 :** Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 711–715.

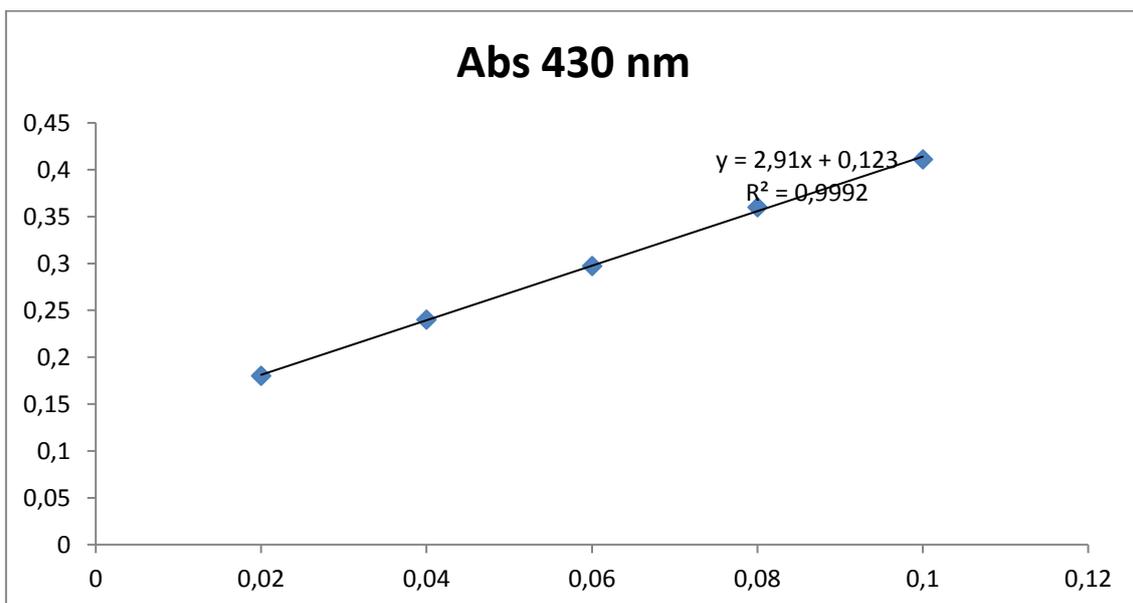
- Nieves F, Galeano-Díaz T, López J, Fernández-Bolaños., 2014 :** Concepción DeMiguel M Victoria Gil Daniel Martín-Vertedor. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food Chemistry* 163. 289–298.
- Noor N, Sarfraz R, Ali S, Shahid M, 2014 :** Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys *Food Chemistry* 14,362–366.
- Ouaouich A, Chimi H., 2007 :** Guide du producteur de l'huile d'olive. Ed in Austria .Vol 07-81042-March 2007-300.
- Ouchemoukh S, Louaileche H, Schweitzer P., 2007 :** Physicochemical characteristics of honey.35-46.
- Ouchemoukh S., 2012 :** Caractérisation physico-chimique profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités anti oxydantes demiels Algériens. univ Bejaia.148p.
- Oudjetk., 2012 :** Etudes et Enquêtes : LE MIEL. Une Denrée à Promouvoir Infos,22p.
- Oyaizu M., 1986 :** Studies on product of browning reactionpreparedfromglucoseamine. *Japanese Journal of Nutrition* ,44 : 307-315.
- Pastre C ., 2005 :** Interêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Univ Toulous III. N° 4116.120 p.
- Pawlowska P, Marc F, Davin A, Benbrahim L, Ferrand C, Fritch P., 2006 :** Valorisation des sous-produit de l'olivier,option méditerranéennes-série séminaires,16 : 101-108.
- Prost p., 1987 :** Connaître l'abeille, conduire le rucher. Paris Edition J.P. Baillière. p 146- 310-1-4-5-6- 356.
- Rojas D, Lopez J, Tejada I, Vazquez V, Shimada A, Sanchez D, Ibarra F., 2005 :** Impact of condensed tannins from tropical forages on *Haemonchus contortus* burdens in Mongolian gerbils and Pelibuey lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 128 (3-4): 218-228.
- Ruei Liu A, Yi-Ling Ye C, Ting-Yu Lin C, Yun-Wen Wang., 2015 :** Chi-Chung Peng. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry* 139 (2013) 938–943.
- Saba Z, Yusoff K, Makpol S, Yusoff M, 2011 :** Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increasewith Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Journal molecules*, 16, 6378-6395.
- Salvador M, Aranda F, Gomez Alonso S, Fregapane G., 2001 :** Cornicabravirgin olive oil study of five cropseasons .Composition, quality, and oxidativestability. *Food chemistry*. 74, p 267-274.
- Sass-Kiss A, Kiss J, Mitotay P, Kerek M, Toth-Markus M., 2005 :** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38, 1023-1029.
- Silici S, Sagdic O, Ekici L., 2010 :** Total phenolic content antiradical, antioxidant and antimicrobialactivities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*.p121, 238-243.

- Stitz et Szigvart (1931)** : Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic use fullness against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, Vol. 23. N°. 3. 1019-1022.
- Tanouti K, Serghini-Caid H, Chaieb E, Benali A, Harkous M, Elamrani A., 2011** : Quality improvement of olive oils produced in the eastern Morocco. *Les technologies de Laboratoire*. 6 (22) : 1-12.
- Terrab, A., González, A. G., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2003)** : Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 218, 88–95.
- Vielle S., 2010** : Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. Univ D'Anigon. 161p.
- Yang et Liu (2009)** : Characterization of artisanal honey produced on the north west of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. *Food and Chemical Toxicology*. 48. 3462-3470.
- Zirar N., 2014** : Contribution à l'étude de l'activité antioxydante de quelques plantes médicinales antidiabétiques. Univ Abou Bekr Belkaid-Telemcen. 77p.

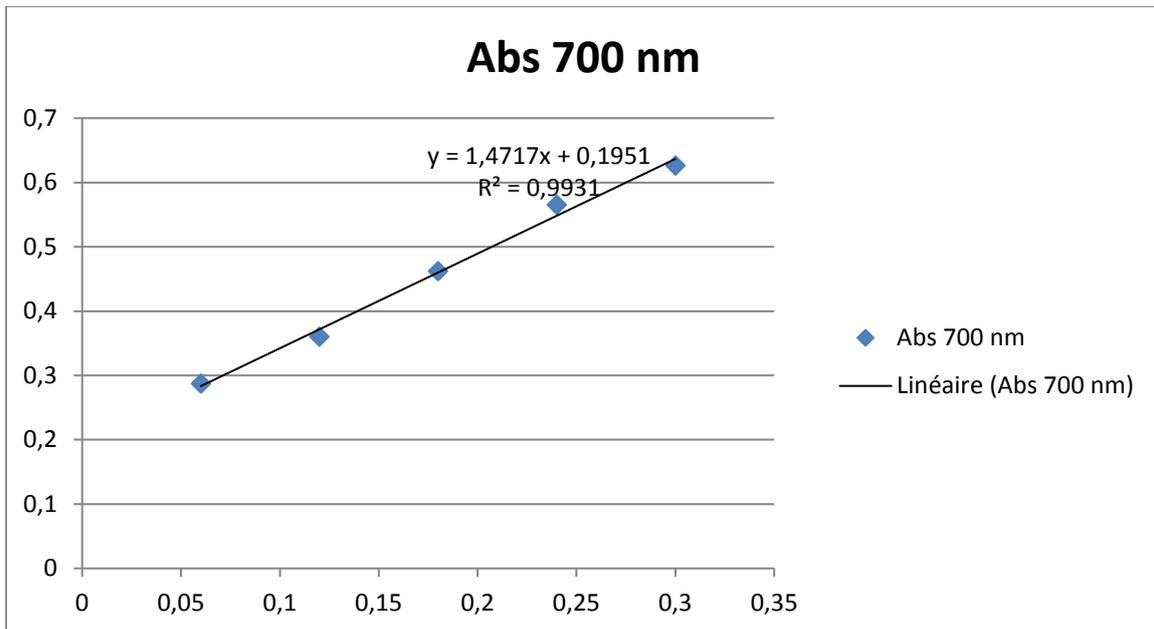
Annexes



Annex 1 : Courbe d'étalonnage au acide gallique pour le dosage des PPT



Annex 2 : Courbe d'étalonnage au quercitine pour le dosage des FT



Annex 3 : Courbe d'étalonnage au acide ascorbique pour les tests de DPPH et de PR

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer le potentiel antioxydant du miel et de l'huile d'olive ainsi que leur mélange. Pour cette effet, le dosage des polyphénols, des caroténoïdes et des flavonoïdes totaux et que l'estimation de l'activité anti-DPPH, et pouvoir réducteur ont a été réalisés. Les résultats ont révèlent que le miel est plus riche que l'huile d'olive d'une part, et leur mélange a augmenté le potentiel antioxydant de l'huile d'olive d'une manière significative.

Mots clés : antioxydant, miel, huile d'olive.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antioxidant potential of honey and olive oil and their mixture. To this effect, the dosage of polyphenols, carotenoids and total flavonoids and the estimate of anti-DPPH activity and reducing power were made. The results showed that honey is richer than one hand olive oil, and mix increased the antioxidant potential of olive oil significantly.

المخلص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير خليط كل من الزيت و العسل على نشاط القدرة المضادة للاكسدة بواسطة ثلاث معايير : البوليفينول و الفلافونويد و الكاروتينويد و كذا تقدير نشاط القدرة المضادة للاكسدة و القدرة الارجاعية. النتائج تظهر ان العسل اغنى من الزيت من جهة. اما بالنسبة للخليط فقد ارتفع فيه نشاط القدرة المضادة للاكسدة بنسبة معتبرة

الكلمات المفتاحية : مضاد الاكسدة . عسل . زيت الزيتون.

Keywords: antioxidant, honey, olive oil.