



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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 بوعريبيج

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 : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

## Intitulé

**Activité antioxydante et effet prébiotique de deux variétés de miel**

Présenté par : BOUALLAOUI Boualam

DRAOUI Djamel Eddine

CHIKH SALAH Hammou

Soutenu le : 24 /06 / 2023

Devant le jury :

Président : M<sup>me</sup> ABED Hanane MCA (Université de BBA)

Encadrant : M<sup>me</sup> BOUGUERRA Asma MCB (Université de BBA)

Examineur : M<sup>r</sup> SADRATI Nouari MCA (Université de BBA)

Année universitaire : 2022/2023

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous voudrions remercier Allah de nous avoir donné la santé et patience tout au long de ce parcours académique.*

*On remercie notre encadrante Dr. BOUGUERRA Asma, pour la qualité de son encadrement exceptionnel pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements les plus chaleureux et fraternels aux membres de jury Dr. ABED Hanane et Dr. SADRATI Nouari d'avoir acceptés de juger notre travail.*

*Nous tenons également à remercier Dr. GUERGOUR Hassina pour son soutien et sa contribution à l'enrichissement de notre travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à toute personne qui a contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à ma très chère mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études qu'elle trouve ici le témoignage de ma profond reconnaissance*

*À mon très cher père*

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

*À mes très chers frères Chafi et Hafid*

*À tous les professeurs qui m'ont enseignés*

*À tous mes amis qui m'ont encouragé*

*Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et réussite.*

*Djamel Eddine*

## *Dédicaces*

*Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à ma mère, mon père, mes frères et Sœurs toute ma famille, qui ont été ma source constante de soutien et d'encouragement tout au long de ce parcours académique. Vos encouragements inconditionnels et votre confiance en moi ont été les piliers de mon succès. Je dédie ce mémoire, pour leur amour indéfectible et leur sacrifice.*

*Je suis reconnaissant envers mes amis proches spécialement Abd Allah et Nadine qui ont été là pour moi à chaque étape du chemin. Votre soutien inconditionnel, vos encouragements et nos échanges stimulants ont toujours été une source de motivation.*

*Enfin, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à mon épanouissement académique.*

*Boualam*

## *Dédicaces*

*En mémoire de mon cher **grand-père**, que Dieu vous accueille dans son vaste paradis. À **ma mère** et ma reine, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices. À mon cher **père** pour son soutien, son affection et sa confiance en moi. À toute ma famille. Au **mon** trinôme et à tous mes amis du groupe "**sn9**". **Malik, Ballou, Oussama** et tous mes amis dans ma carrière universitaire, ce fut un plaisir de vous rencontrer. À tous mes professeurs du primaire à l'université.*

*Hammou*

## Résumé

Cette étude vise à évaluer les propriétés phytochimiques (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, capacité antioxydante) et l'effet prébiotique de deux types de miel algérien : monofloral (Sidr) et un échantillon de miel polyfloral. Le test de Folin-Ciocalteu a été utilisé pour déterminer la teneur en polyphénols totaux. Les flavonoïdes ont été quantifiés par la méthode de trichlorure d'aluminium. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical DPPH. Les résultats révèlent une haute teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans le miel de Sidr ;  $1533 \pm 0,47$  mg EAG/100 g et  $100 \pm 0,024$  mg EQ/100 g respectivement. Il a montré également une activité antioxydante plus élevée avec une inhibition de 52,986 % et une  $IC_{50}$  de 132,905 mg/mL. En revanche, le miel polyfloral possède de faibles teneurs en polyphénols ( $866,9 \pm 2,3547$  mg EAG/100 g) et en flavonoïdes ( $95 \text{ mg} \pm 0,016$  mg EQ/100 g), et son activité antioxydante montrait une inhibition de 40,509 % avec une  $IC_{50}$  à partir de 172,544 mg/mL. L'effet prébiotique des deux miels sur une souche probiotique (*Lb. rhamnosus*) a été étudié dans le bouillon MRS sans glucose. Les résultats ont révélé que le miel monofloral (Sidr) est un bon prébiotique à une concentration de 2%. On conclut que le miel de Sidr est une bonne source d'antioxydants et peut être utilisé comme prébiotique à une concentration de 2%.

**Mots clés :** activité antioxydante, flavonoïdes, miel de Sidr, miel polyfloral, polyphénols, prébiotique.

## Abstract

This study aims to evaluate the phytochemical properties (total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity) and prebiotic effect of two types of Algerian honey: monofloral (Sidr) and polyfloral. The Folin-Ciocalteu test was used to determine total polyphenol content. Flavonoids were quantified by the aluminium trichloride method. Antioxidant activity was assessed using the DPPH radical scavenging method. The results reveal a high polyphenol and flavonoid content in Sidr honey:  $1533 \pm 0.47$  mg EAG/100 g and  $100 \pm 0.024$  mg EQ/100 g, respectively. It also showed the highest antioxidant activity, with an inhibition of 52.986% and an  $IC_{50}$  of 132.905 mg/mL. In contrast, polyfloral honey has low levels of polyphenols ( $866.9 \pm 2.3547$  mg EAG/100 g) and flavonoids ( $95 \text{ mg} \pm 0.016$  mg EQ/100 g), and its antioxidant activity showed an inhibition of 40.509% with an  $IC_{50}$  of 172.544 mg/mL. The prebiotic effect of both honeys on a probiotic strain (*Lb. rhamnosus*) was studied in glucose-free MRS broth. The results revealed that monofloral honey (Sidr) is a good prebiotic at a concentration of 2%. It was concluded that Sidr honey is a good source of antioxidants and can be used as a prebiotic at a concentration of 2%.

**Keywords:** antioxidant activity, flavonoids, polyfloral honey, polyphenols, prebiotic, Sidr honey.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الكيميائية النباتية (الفينولات الكلية ، الفلافونويد ، القدرة المضادة للأكسدة) وتأثير البريبايوتيك لنوعين من العسل الجزائري: عينة عسل أحادي الأزهار (سدر) وعسل متعدد الأزهار. تم استخدام اختبار Folin-Ciocalteu لتحديد محتوى البوليفينول الكلي. تم قياس كمية مركبات الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم. كما تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH. أظهرت النتائج وجود نسبة عالية من البوليفينول والفلافونويد في عسل السدر.  $0.47 \pm 1533$  مغ/EAG / 100 غ و  $0.024 \pm 100$  مغ/EQ / 100 غ على التوالي. كما أظهر أعلى نشاط مضاد للأكسدة مع تثبيط  $52.986\%$  و  $IC_{50}$  132.905 مغ / مل. في المقابل، يحتوي العسل متعدد الأزهار على مستويات منخفضة من البوليفينول ( $2.3547 \pm 866.9$  مغ/EAG 100 غ) ، الفلافونويد ( $95 \pm$  مغ 0.016 مغ/EQ 100 غ) ، وأظهر نشاطه المضاد للأكسدة تثبيطاً بنسبة  $40.509\%$  مع  $IC_{50}$  من 172.544 مغ / مل. تمت دراسة تأثير البريبايوتك لكل من العسل على سلالة الكائنات الحية المجهرية (*Lb. rhamnosus*) في مرق MRS الخالي من الجلوكوز. أوضحت النتائج أن العسل أحادي الزهرة (السدر) هو مادة حيوية جيدة بتركيز  $1/2$ . خلصت الدراسة إلى أن عسل السدر مصدر جيد لمضادات الأكسدة ويمكن استخدامه كبريبايوتيك عند تركيز  $1/2$ .

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للأكسدة ، فلافونويدات ، بوليفينول ، بريبايوتيك ، عسل متعدد الأزهار ، عسل السدر.

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau I : Activité scavenger des miels à l'égard du radical DPPH.....</b>	<b>15</b>
--	-----------

## Liste des figures

Figure 1 : Echantillons de miel.....	7
Figure 2: Complexe AlCl <sub>3</sub> avec les flavonoïdes. ....	9
Figure 3: Piègéage du radical DPPH. ....	11
Figure 4 : Teneurs en polyphénols totaux de deux variétés de miel (MF) et (PF). ....	14
Figure 5 : Teneurs en flavonoïdes totaux de deux variétés du miel (MF) et (PF). ....	15
Figure 6 : Vue microscopique des cellules de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (x1000). ....	17
Figure 7 : Croissance de <i>Lb. rhamnosus</i> dans différentes concentrations du miel polyfloral. ....	18
Figure 8 : Croissance de <i>Lb. rhamnosus</i> dans différentes concentrations du miel de Sidr. ....	18
Figure 9 : Croissance de <i>Lb. rhamnosus</i> dans 2% de miel de Sidr, de miel polyfloral et dans l'MRS.....	19

## Liste des abréviations

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**a<sub>w</sub>** : Activity water

**CRP** : Protéine C-réactive

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalant acide gallique

**EQ** : Equivalant quercétine

**FOS** : Fructooligosaccharides

**GOS**: Galactooligosaccharides

**HMF** : hydroxyméthylfurfural

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**LAB** : Bactéries lactiques

*Lb.*: *Lactobacillus*

**MF**: Monofloral

**MGO**: Méthylglyoxal

**MRS**: De Man, Rogosa and Sharpe

**PF** : Polyfloral

**pH** : potentiel d'Hydrogène

**UV** : Ultra-Violet

# Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<b>I- Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>II. Matériel et méthodes.....</b>	<b>7</b>
II.1. Matériel.....	7
II.1.1 Echantillons de miel.....	7
II.1.2. Le matériel biologique .....	7
<b>II.2. Méthodes .....</b>	<b>8</b>
II.2.1. Analyse phytochimique .....	8
II.2.1.1. Teneur totale en composés phénoliques .....	8
II.2.1.2. Teneur totale en flavonoïdes.....	9
II.2.2. Détermination de l'activité antiradicalaire (DPPH).....	10
II.2.3. Evaluation de l'effet prébiotique des miels .....	12
II.2.3.1. Isolement et confirmation de la pureté de la souche probiotique <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .....	12
II.2.3.2. Conservation de la souche probiotique .....	12
II.2.3.3. Croissance de <i>Lb. rhamnosus</i> dans différentes concentrations des miels.....	12
<b>Analyse statistique.....</b>	<b>13</b>
<b>III- Résultats et discussion.....</b>	<b>14</b>
III.1. Analyse phytochimique.....	14
III.1.1. Teneurs en polyphénols totaux.....	14
III.1.2. Teneurs en flavonoïdes totaux.....	15
III.2. Activité antiradicalaire (Piégeage du radical DPPH) .....	16

III. 3. Isolement et examination de la pureté de <i>Lb. rhamnosus</i> .....	17
III. 4. Effets de variation des concentrations des miels polyforal et de Sidr sur la croissance du probiotique <i>Lb. rhamnous</i> .....	18
<b>Conclusion</b> .....	<b>21</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>22</b>
<b>Annexes</b>	

# Introduction

---

### **I- Introduction**

Le miel est un produit naturel formé à partir du nectar des fleurs par les abeilles mellifères (*Apis mellifera* ; famille : *Apidae*). Il est utilisé par l'homme depuis l'antiquité, il y a près de 5500 ans. La plupart des populations anciennes, notamment les Grecs, les Chinois, les Égyptiens, les Romains, les Mayas et les Babyloniens, consommaient le miel à la fois pour des raisons nutritionnelles et pour ses vertus médicinales (**Samarghandian et al., 2017**).

Le Coran a clairement indiqué l'activité thérapeutique du miel : "Le Seigneur a inspiré aux abeilles de construire leurs ruches sur les collines, sur les arbres et dans les habitations des hommes ; de leur corps sort un breuvage aux couleurs variées, dans lequel se trouve la guérison de l'humanité ; il y a là, en vérité, un signe pour ceux qui réfléchissent" (**Bergman et al., 1983 ; Samarghandian et al., 2017**) .

Le miel est un liquide luxueusement riche, sucré, collant et doré, produit à partir du nectar des fleurs grâce à l'action des enzymes présentes dans les abeilles, telles que la diastase, l'invertase et la glucose oxydase (**Luchese et al., 2017 ; Rana et al., 2018**).

Le miel est une source intéressante de macro et de micronutriments naturels dont sa composition chimique est liée à plusieurs facteurs tels que les espèces d'abeilles, l'origine géographique, la flore, les conditions climatiques, les saisons, la transformation, la manipulation et les conditions de stockage (**Da Silva et al., 2016**).

Le miel est composé d'une solution saturée de sucres, principalement le fructose et le glucose, mais il contient également une variété de constituants mineurs, en particulier des composés phénoliques (**Bogdanov et al., 2008 ; Alvarez Suarez et al., 2010**). En outre, le miel possède des protéines, des acides aminés, des enzymes, des acides organiques, des minéraux et du pollen. Il peut également contenir des champignons, d'algues, des levures, des bactéries lactiques et d'une petite quantité de substances végétales provenant du processus d'obtention du miel qui lui confèrent un arôme et un goût caractéristique (**Olofsson et al., 2014 ; Da Silva et al., 2016 ; Luchese et al., 2017**).

Le miel renferme un ensemble de cinq enzymes biologiquement actives. L'invertase joue un rôle dans l'hydrolyse du saccharose, tandis que la diastase digère l'amidon produit par les plantes. La glucose oxydase est responsable de la production d'acide et

## *Introduction*

---

de peroxyde d'hydrogène, tandis que la catalase utilise le peroxyde d'hydrogène comme substrat. Enfin, la phosphatase acide est également présente. Toutes ces enzymes sont produites par les glandes des abeilles. Une faible quantité d'hydroxyméthylfurfural (HMF) est présente dans le miel, résultant de la décomposition du fructose en présence d'acides libres. Ce processus se produit constamment dans le miel et la production de HMF dépend de la température et du temps auxquels le miel est soumis, notamment lors de la pasteurisation et du stockage (**Da Silva et al., 2016**).

Le miel n'a pas besoin d'être réfrigéré, il ne s'abîme jamais et il peut également être conservé à température ambiante dans un endroit sec. L'activité de l'eau ( $a_w$ ) du miel se situe entre 0,56 et 0,62 et sa valeur de pH est proche de 3,9 ; ce qui inhibent la croissance des microorganismes (**Samarghandian et al., 2017**).

La couleur du miel est un indicateur de qualité important pour la commercialisation car c'est son premier attribut attractif (**Da Silva et al., 2016**). Selon le Comité du Codex Alimentarius, la couleur du miel peut varier de presque incolore à brun foncé (**Codex Alimentarius, 2001**). Elle est directement liée à sa composition chimique, à sa teneur en cendres, à la température de la ruche et elle change au cours du temps de stockage (**Gámbaro et al., 2007**).

Les principaux composés liés à la couleur du miel sont les composés phénoliques, le pollen et la teneur en minéraux, qui peuvent varier considérablement selon son origine botanique et géographique (**De Almeida-Muradian et al., 2013**). Au cours du stockage, la couleur du miel peut changer en raison du processus de fermentation comme la caramélisation et les réactions de Maillard ou en raison du processus thermique, qui peut modifier sa composition chimique et par conséquent sa couleur (**Bertoncelj et al., 2007**). Pour déterminer la couleur du miel, un photomètre à lecture directe en mm Pfund peut être utilisé. L'échelle de Pfund compare une échelle analytique standard de référence sur la graduation de la glycérine afin de fournir des résultats reproductibles et précis (**De Almeida-Muradian et al., 2013**).

On peut séparer les miels en deux catégories :

- Les miels monofloraux, ou « miels de cru », sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat d'une espèce végétale de haute qualité. La production de ce type de miel n'est pas facile, car les ruches doivent être placées à proximité de la plante spécifique et parce

## *Introduction*

---

que les abeilles se nourrissent rarement d'un type de fleur, ce miel est exceptionnel ou distinctif, car il provient principalement d'un seul type de nectar (**Bonté et Desmoulière, 2013**). Le miel monofloral n'est pas pur à 100%. Il peut contenir donc d'autres types de nectar de fleurs différentes, mais le nectar de la source principale est dominant (**Schievano et al., 2016**). Parmi les miels monofloraux les mieux caractérisés, on peut citer les miels : d'acacia, de romarin, de callune, de lavande, de châtaignier, de tilleul et de sidr. Enfin, des miels monofloraux plus rares sont élaborés sur des territoires exigus : miels de cerisier, de framboisier, de serpolet, d'aubépine, de bruyère, d'épilobe, de lierre, de luzerne, de houx, de thym, de trèfle, d'eucalyptus, de sapin et de clémentinier, entre autres (**Bonté et Desmoulière, 2013**). A noter que ces miels sont très appréciés pour leur pureté et leur profil de saveur spécifique, reflétant les caractéristiques de la plante d'origine (**Schievano et al., 2016**).

- Les miels polyfloraux proviennent de plusieurs sources végétales ; les abeilles déposent le nectar et le pollen de plusieurs plantes et les transferts de cellule en cellule selon les besoins (**Titěra, 2013**).

Le miel n'est pas seulement utilisé comme un produit nutritionnel, mais aussi comme un produit de santé décrit dans la médecine traditionnelle.

Depuis longtemps, on observe que le miel peut être utilisé pour surmonter les problèmes hépatiques, cardiovasculaires et gastro-intestinaux. Ainsi, des études ont démontré l'activité antibactérienne remarquable du miel qui est utilisée dans le traitement et la prévention de la gastrite, la duodénite et des ulcères d'estomac causés par des bactéries et/ou des rotavirus (**Harakeh et al., 2022**). De plus, le miel naturel possède une activité bactéricide contre de nombreuses bactéries, notamment *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, etc.

La capacité antimicrobienne du miel est le résultat d'une combinaison de nombreux facteurs, ce qui expliquerait également pourquoi le miel ne produit pas de résistance bactérienne. La pression osmotique élevée et le faible pH du miel ne sont pas propices à la croissance des micro-organismes. Le miel conserve des propriétés antimicrobiennes après avoir été dilué, ce qui indique qu'il contient d'autres composés actifs antimicrobiens. Le peroxyde d'hydrogène, le méthylglyoxal (MGO) et les composés polyphénoliques ont été considérés comme les principaux composés permettant au miel d'exercer une activité antimicrobienne (**Zhang, 2021**).

## ***Introduction***

---

Des études ont également montré que le miel réduit l'inflammation. Ainsi, dans un modèle inflammatoire de colite, il a été aussi efficace que le traitement à la prednisolone (**Eteraf-Oskouei et Najafi, 2013**).

Le miel est également utilisé depuis longtemps dans les soins de la peau et entre dans la composition de nombreuses préparations dermatologiques à des fins de rafraîchissement de la peau, de blanchiment et de traitement des brûlures (**El-Seedi et al., 2022**). Il accélère aussi la cicatrisation et l'épithélialisation des plaies. Ainsi, le miel a été utilisé avec succès pour traiter les plaies non cicatrisantes associées à des infections. Cette propriété de cicatrisation est liée aux activités antioxydante et antibactérienne du miel, permettant le maintien de l'humidité et de la viscosité de la plaie et crée une barrière protectrice contre l'infection microbienne. L'activité immunologique du miel est également importante pour la réparation des plaies, car elle exerce à la fois des effets pro- et anti-inflammatoires (**Alvarez-Suarez et al., 2014**).

Le miel a aussi un effet antitumoral potentiel ; une étude a montré sa réduction de la viabilité des cellules PC-3 (lignées cellulaires du cancer de la prostate) (**Navaei-Alipour et al., 2021**). Il a été utilisé pour traiter la leucémie lymphocytaire et les tumeurs malignes de la tête et du cou (**El-Seedi et al., 2022**).

L'utilisation du miel dans le diabète de type I et de type II a été associée à un indice glycémique significativement plus faible que celui du glucose ou du saccharose dans le cas d'un diabète normal. Comparé au dextrose, le miel a entraîné une augmentation significativement plus faible du taux de glucose plasmatique chez les sujets diabétiques. Il a également entraîné une réduction des lipides sanguins, des niveaux d'homocystéine et des niveaux de protéine C-réactive (CRP) chez les sujets normaux et hyperlipidémiques. Des observations antérieures ont montré que le miel stimule la sécrétion d'insuline, réduit la glycémie, augmente la concentration d'hémoglobine et améliore le profil lipidique (**Eteraf-Oskouei et Najafi., 2013**).

Le miel est une matrice alimentaire riche en composés antioxydants naturels tels que les flavonoïdes (**Silva et al., 2021**). Il a été démontré que la capacité antioxydante du miel est similaire à celle de nombreux fruits et légumes sur la base du poids frais, mesurée par le dosage de la capacité d'absorption des radicaux d'oxygène (**Pyrzyńska et Biesaga, 2009**). Les antioxydants présents dans le miel comprennent des substances enzymatiques (par exemple la glucose oxydase, la catalase et la peroxydase) et non

## *Introduction*

---

enzymatiques, telles que l'acide ascorbique, le tocophérol, les caroténoïdes et plus de 150 composés polyphénoliques, dont les flavonoïdes, les flavonols, les acides phénoliques, les catéchines et les dérivés de l'acide cinnamique (**Al-Farsi et al., 2018**).

Dans le miel, les flavonoïdes sont des composants majeurs représentant jusqu'à 42 % des composés phénoliques totaux. L'origine botanique du miel a la plus grande influence sur ses antioxydants et ses composés phénoliques, tandis que le traitement, la manipulation et le stockage n'ont qu'une incidence mineure sur le miel (**Al-Farsi et al., 2018**).

Les acides phénoliques sont divisés en deux sous-classes : les acides benzoïques substitués et les acides cinnamiques. Les classes de flavonoïdes présentes dans le miel comprennent les flavonols, les flavones et les flavanones, qui ont une structure similaire à celle des acides phénoliques. Ces composés sont importants car ils contribuent à la couleur, au goût et à l'arôme du miel ; ils ont également des effets bénéfiques sur la santé humaine (**Khalil et al., 2011**).

Comme mentionné précédemment la composition chimique du miel est très complexe. Il est composé principalement de fructose et de glucose, mais il contient également 4 à 5 % de fructooligosaccharides qui servent d'agents prébiotiques (**Ezz El-Arab et al., 2006**).

Les prébiotiques sont des substrats, généralement des hydrates de carbone non digestibles (par l'hôte mammifère) dans les aliments qui stimulent sélectivement la croissance et l'activité métabolique des microbes intestinaux bénéfiques et sont principalement utilisés par ceux qui confèrent un avantage pour la santé de l'hôte (**Peng et al., 2020**).

Ces microorganismes sont appelés probiotiques, c-à-d des "micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte" (**Kim et al., 2019**).

Les prébiotiques assurent la survie de certaines bactéries bénéfiques, leurs effets peuvent être additifs ou symbiotiques. Ils peuvent stimuler sélectivement les souches probiotiques. Les prébiotiques peuvent améliorer la survie des bactéries qui traversent le tube digestif supérieur, renforçant ainsi leur effet dans le gros intestin (**Fuentes-Zaragoza et al., 2011**).

## *Introduction*

---

Il a été démontré qu'une grande quantité d'oligosaccharides favorise à la croissance d'un grand nombre de bactéries bénéfiques. Ainsi, **Chickt et al. (2001)** ont déclaré que le miel favorisait la croissance de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrukeii* subsp bulgaricus ou *Bifidobacterium bifidum* de la même manière que le fructose ou le saccharose, et qu'il n'était pas inhibiteur. Divers oligosaccharides présents dans le miel peuvent être responsables de l'augmentation de la production d'acide lactique par les bifidobactéries. Les composants glucidiques du miel ont un effet synergique sur la croissance et l'activité des bifidobactéries. En outre, LAB probiotiques : *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *L. rhamnosus* et *L. plantarum* se développent plus rapidement dans le miel (**Mustar et Ibrahim, 2022**).

Les deux types de miel, monofloral ou polyfloral, peuvent constituer de bonnes sources de prébiotiques dans les aliments. Pour cela, le miel est additoné à des produits laitiers dérivés du lait frais de vaches (**Mustar et Ibrahim, 2022**).

L'attribut prébiotique du miel *in vivo* a été également étudié. Ainsi, dans une étude sur le microbiote intestinal chez la souris, il a été trouvé que le miel a entraîné une augmentation significative du niveau de l'humidité fécale et soulage la constipation due à l'altération de l'écologie microbienne (**Mustar et Ibrahim, 2022**).

Cette étude a été réalisée pour mieux comprendre la composition phytochimique, les propriétés antioxydantes et l'effet prébiotique de deux échantillons de miel, en mettant en évidence leurs caractéristiques distinctes en fonction de leur origine botanique et géographique.

# **Matériel et Méthodes**

---

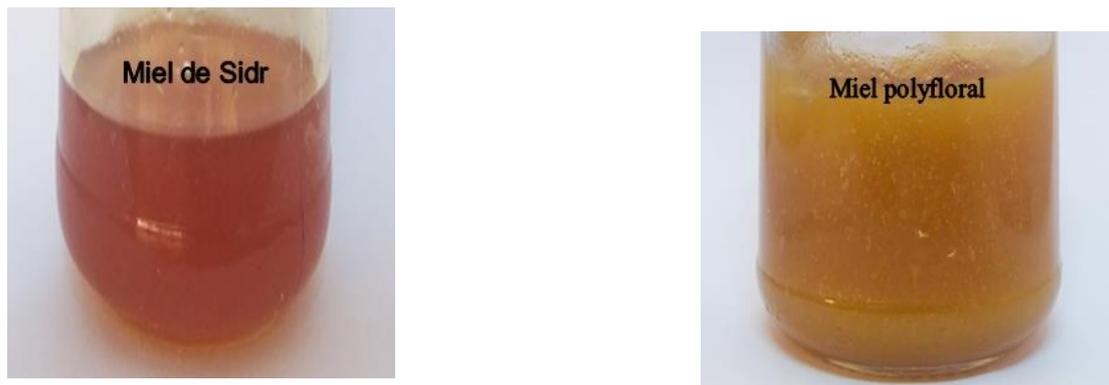
## **II. Matériel et méthodes**

### **II.1. Matériel**

#### **II.1.1 Echantillons de miel**

Afin d'évaluer la composition phytochimique, l'activité antioxydante et l'effet prébiotique de deux variétés de miel commercialisé en Algérie ; un échantillon monofloral (le miel de Sidr) a été récupéré de la région de Médéa et un autre polyfloral de la région de Bordj Bou Arreridj. Ces échantillons ont été conservés pendant une année chez les apiculteurs.

Le miel de Sidr est liquide avec une couleur rouge, tandis que celui polyfloral est cristallisé avec une couleur dorée (Figure 1).



**Figure 1** : Echantillons de miel.

#### **II.1.2. Le matériel biologique**

On a utilisé la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* après son isolement d'un produit lyophilisé (Ultrabiotique infantile, laboratoire Nutrisanté, France), complexe de deux probiotiques (*Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus rhamnosus*) qui contient 6 milliards de microorganismes vivants. Il est utilisé pour améliorer le fonctionnement digestif et immunitaire chez les enfants (**Annexe III**).

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Analyse phytochimique**

Les deux échantillons de miel sont analysés pour leur teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes.

#### **II.2.1.1. Teneur totale en composés phénoliques**

Les polyphénols sont une classe de composés chimiques présents dans de nombreux aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes, les céréales, les légumineuses, le thé, le vin et le miel. Ce sont des micronutriments bioactifs qui ont été largement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé.

En tant qu'antioxydants, les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, limiter le risque de diverses maladies dégénératives associées au stress oxydatif. Par rapport aux autres antioxydants, leur activité antioxydante est principalement due à leur capacité à piéger les radicaux libres, à donner des atomes d'hydrogène ou des électrons, ou à chélater des ions métalliques (Scalbert *et al.*, 2005 ; Cirillo *et al.*, 2016).

- **Principe**

La réaction repose sur la conversion de l'acide phosphotungstique, initialement de couleur jaune dans le réactif de Folin-Ciocalteu, en un complexe bleu dans une solution alcaline en présence de composés phénoliques (Boizot et charpentier 2006).

- **Mode d'opérateur**

Le contenu en phénols totaux des échantillons de miel est déterminé selon le protocole décrit par Singleton et Rossi (1965), avec quelques modifications.

Un volume de 1 ml de réactif de Folin (préalablement dilué 10 fois) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou de standard avec des dilutions appropriées. Après 4 minutes, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont ajoutés au mélange réactionnel. L'incubation est ensuite effectuée pendant 2 heures à température ambiante, et l'absorbance est mesurée à 765 nm. Toutes les étapes sont réalisées en triplicata.

Le témoin est préparé en mélangeant 200 µl du solvant d'extraction (méthanol) avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 800 µl de solution de carbonate de sodium.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique de 20 à 120 µg/ml (**Annexe I**). Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG\100 g de miel).

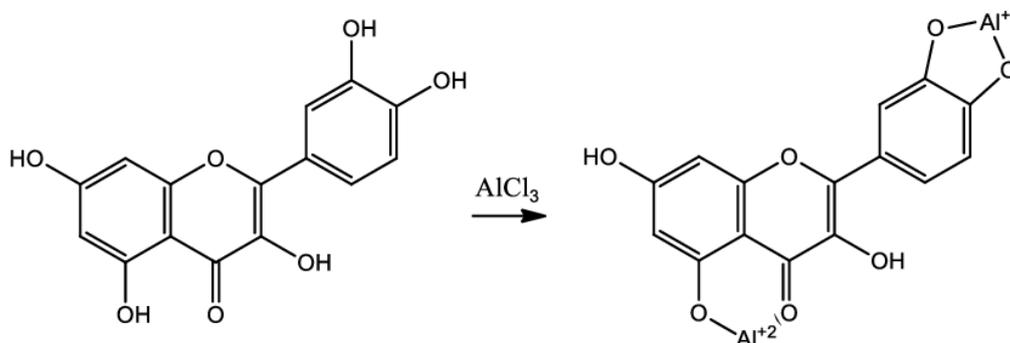
### **II.2.1.2. Teneur totale en flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des produits naturels appartenant à une classe de métabolites secondaires végétaux à structure polyphénolique, largement présents dans les fruits, les légumes et certaines boissons. Ils ont divers effets biochimiques et antioxydants favorables associés à diverses maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer, etc. (**Panche et al., 2016**).

Tous les flavonoïdes ont quinze atomes de carbone dans leur structure de noyau fondamental C6–C3–C6, avec plusieurs groupes chimiques substitués (**Shamsudin et al., 2022**).

- **Principe**

Les flavonoïdes présentent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, qui est réactif envers le groupement CO et forme un complexe coloré avec le trichlorure d'aluminium (Figure 2). Par chélation des métaux tels que le fer et l'aluminium, les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres. Cette réaction met en évidence la capacité du métal (Al) à perdre deux électrons et à se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, agissant ainsi comme un donneur d'électrons (**Ribéreau Gayon et al., 1972**).



**Figure 2: Complexe AlCl<sub>3</sub> avec les flavonoïdes.**

- **Mode d'opérateur**

L'estimation de la teneur en flavonoïdes de miel est réalisée par la méthode citée par Jain et *al.* (2011).

Un volume de 1 ml d'extrait à différentes concentrations est ajouté à 1 ml de solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2%. On laisse incuber le mélange pendant une heure à une température ambiante. Les absorbances sont lues à 430 nm au spectrophotomètre UV-visible double faisceau (UV-1800 Shimadzu). Les tests sont réalisés en triplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de miel sont calculées en se référant à la droite d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard de (5-30 µg/ml) (**Annexe I**). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait de l'échantillon de miel (mg EQ/100g).

## **II.2.2. Détermination de l'activité antiradicalaire (DPPH)**

Les deux échantillons de miel sont testés pour leur activité antiradicalaire. Cette dernière est déterminée par la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH\*.

Cette méthode a été développée par **Blois (1958)** dans le but de déterminer l'activité antioxydante de la même manière en utilisant un radical libre stable  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH ; C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, M = 394,33). Le dosage est basé sur la mesure de la capacité de piégeage des antioxydants à son égard. L'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants à l'hydrazine correspondante (**Contreras et al. ,1982**).

- **Principe**

Au fur et à mesure que l'électron impair du DPPH s'apparie en présence d'un piègeur de radicaux libres, l'absorption disparaît et la décoloration résultante est stoechiométriquement liée au nombre d'électrons absorbés. Les molécules antioxydants peuvent piéger les radicaux DPPH en fournissant des protons ou en donnant des électrons, réduisant ainsi le radical DPPH de couleur violette en 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine de couleur jaune, DPPH-H (Figure 3) (**Sak, 2014**) (**Annexe IV**).

Cette réduction peut être contrôlée par spectrophotométrie et l'effet antioxydant est proportionnel au blanchiment de l'absorption du DPPH. Représentant la molécule

polyphénolique par Phe OH, le mécanisme communément accepté pour ce processus est :  $\text{DPPH}\cdot + \text{PheOH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{PheO}\cdot$

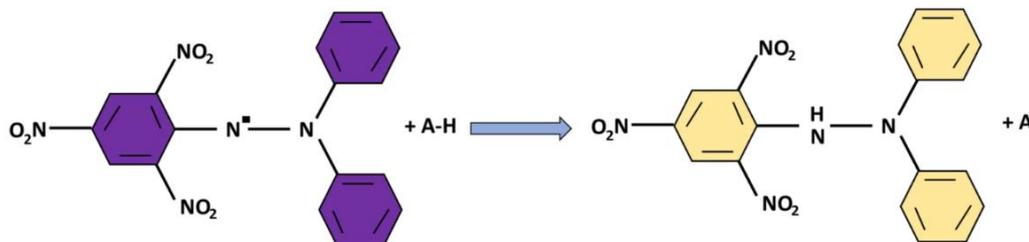


Figure 3: Piègeage du radical DPPH.

- **Mode d'opérateur**

Le pouvoir anti-radicalaire par la neutralisation du radical DPPH de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par **Chua et al., (2013)**, avec quelques modifications. La solution de DPPH (40 mg/L) a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH· dans le méthanol (100 ml). Un volume de 0,75 ml de solution méthanolique de miel à différentes concentrations, allant de 40 à 140 mg/ml a été ajoutée à 1,5 ml de solution de DPPH.

L'absorbance a été mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation à 25°C. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. La capacité de piègeage du DPPH· a été calculée à l'aide de :

$$\text{Piègeage des radicaux libres DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

- $A_{\text{contrôle}}$  : Absorbance de la solution du DPPH sans échantillon (contrôle négatif).
- $A_{\text{échantillon}}$  : Absorbance de la solution du DPPH en présence de l'échantillon.

### **II.2.3. Evaluation de l'effet prébiotique des miels**

Pour déterminer l'effet prébiotique des deux variétés de miel, on doit tout d'abord isoler des bactéries probiotiques.

#### **II.2.3.1. Isolement et confirmation de la pureté de la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus***

On a isolé la souche de *Lactobacillus rhamnosus* à partir du produit commercialisé sous le nom Ultrabiotique infantile après déversement stérile d'une petite quantité du sachet vers le milieu MRS bouillon. Ce milieu permet la sélection de la souche *Lactobacillus rhamnosus*. Après incubation à 37°C pendant 48h, un trouble apparaît, ce qui indique la croissance de la souche probiotique. Sa pureté a été confirmée après ensemencement par stries répétées sur le milieu MRS solide après incubation à 30°C pendant 24 à 48h, jusqu'à l'obtention d'un isolat pur.

#### **II.2.3.2. Conservation de la souche probiotique**

La conservation à court terme de la souche a été réalisée dans des tubes contenant la gélose MRS inclinée et maintenues à 4°C pendant quatre semaines.

#### **II.2.3.3. Croissance de *Lb. rhamnosus* dans différentes concentrations des miels**

Les effets des miels sur la croissance de la souche probiotique testée ont été évalués sur un milieu basal de fermentation (MRS sans glucose) ; (tryptone, 10 g/L ; extrait de viande, 8 g/L ; extrait de levure, 4 g/L ; hydrogénophosphate dipotassique, 2 g/L ; Tween 80 1 g/L ; acétate de sodium, 5 g/L ; citrate d'ammonium tribasique, 2 g/L ; sulfate de magnésium, 0,2 g/L ; et sulfate de manganèse, 0,04 g/L), après addition de 20 g/L, 30g/L et 50 g/L de miel (miel de Sidr ou le miel polyfloral). Le bouillon MRS standard avec glucose (20 g/L ; ingrédient non prébiotique) a été utilisés comme témoin positif. Ensuite, chaque milieu a été inoculé avec 1% de la culture probiotique jeune ( $10^4$  à  $10^5$  UFC/ml). Après incubation pendant 24 h à 30 °C, la croissance des souches a été examinée en mesurant les densités optiques par spectrophotomètre réglé à 600 nm et équipé d'une cuvette de 1 cm. L'expérience a été répétée 3 fois et les valeurs moyennes de DO ont été calculées (de Melo et al., 2020; Bhola et al., 2023).

**Analyse statistique**

L'analyse statistique des données obtenues a été effectuée à l'aide du logiciel R (version 3.5.1). Les comparaisons des différences entre les moyennes des traitements répétés 3 fois ont été faites par une analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA) suivie du test de Tukey à un niveau de signification de  $P < 0,05$ .

# **Résultats et discussion**

---

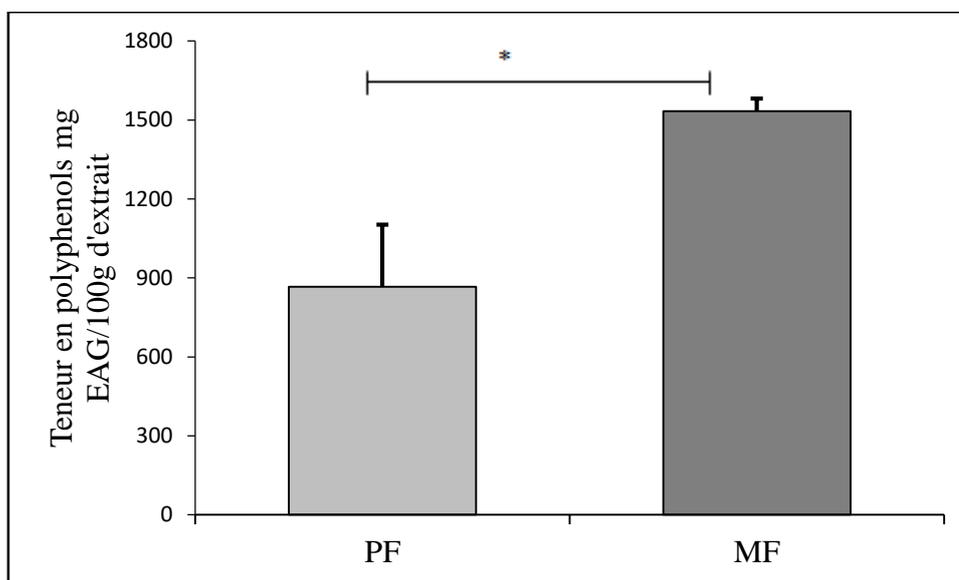
### III- Résultats et discussion

#### III.1. Analyse phytochimique

##### III.1.1. Teneurs en polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique par 100g du miel (**Annexe I**).

Les résultats obtenus ont montré que la concentration en polyphénols enregistrée dans les miels varient considérablement de  $866,9 \pm 2,35$  (PF) à  $1533 \pm 0,47$  mg EAG / 100 g de miel MF (Sidr) (Figure 4).



**Figure 4** : Teneurs en polyphénols totaux de deux variétés de miel (MF) et (PF).

\* : Différence significative  $p < 0,05$

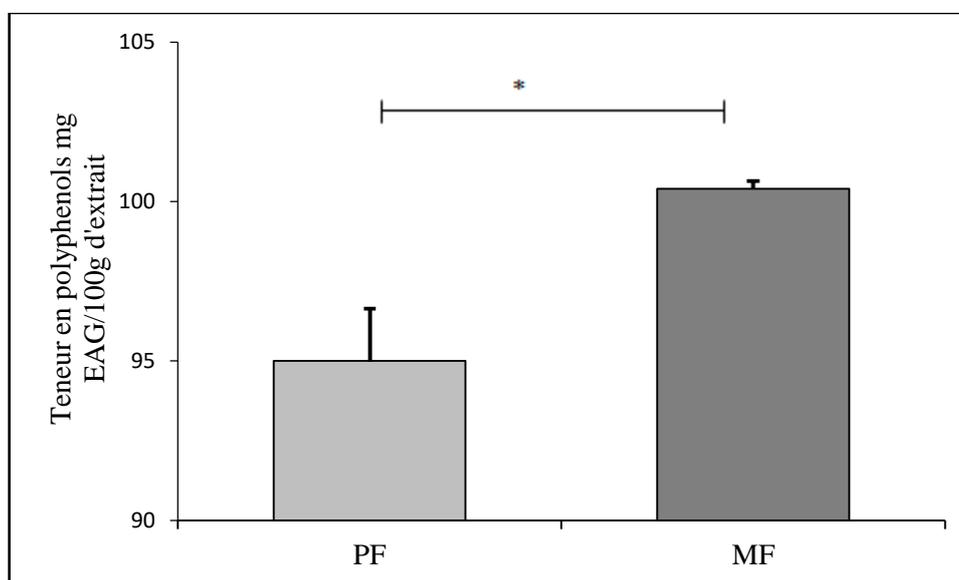
L'analyse statistique a indiqué une différence significative de la teneur en polyphénols de deux variétés du miel étudiées ( $*p < 0,05$ ), où le miel MF a montré la teneur la plus élevée en polyphénols totaux par rapport au miel (PF) qui a été enregistré la valeur la plus faible. Les valeurs obtenues sont très élevées par rapport à celles obtenues par **Ouchemoukh et al. (2016)** et **chua et al. (2013)** qui ont rapporté une teneur d'ordre de 90 à 318 mg EAG / 100 g, 110 à 196 mg EAG /100g de MF algériens.

De plus, notre résultat est très proche à celui obtenu par **Pătruică et al. (2022)** et **Ismail et al. (2016)** qui ont trouvé une teneur d'ordre de 177,66 à 1159,30 mg EAG/100g et 192 à 1484 mg/100g respectivement de différents types du miel malaisien.

Cette variation peut être due aux différences de l'origine géographique et surtout l'origine florale du miel qui conditionnent sa concentration et sa nature en substance phénolique (**Flores et al., 2015**). Il est concevable que la teneur élevée en phénol des plantes soit transmise au nectar et au pollen que les abeilles récoltent puis l'ajoutent au miel, augmentant ainsi sa concentration avec des niveaux significatifs observés (**Nolan et al., 2019**). D'une manière générale, les miels plus foncés sont riches en composés phénoliques que les miels plus clairs et par conséquent, ils n'ont plus une capacité antioxydante (**Doukani et al., 2014**).

### III.1.2. Teneurs en flavonoïdes totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent de quercétine par 100g du miel (**Annexe I**). Les teneurs en flavonoïdes des miels étudiés sont représentés dans la Figure 5.



**Figure 5** : Teneurs en flavonoïdes totaux des deux variétés du miel (MF) et (PF).

\* : Différence significative  $p < 0,05$

Le résultat obtenu a révélé une différence significative de la teneur en flavonoïdes des deux variétés du miel étudiées ( $*p < 0,05$ ). Le miel de Sidr (MF) a enregistré une teneur plus

élevée de l'ordre de  $100 \pm 0,24$  mg EQ/100g de miel en comparaison avec celui polyfloral ( $95 \text{ mg} \pm 0,016$  mg EQ/100 g).

Nos résultats sont en accords avec ceux obtenus par **Al-Farsi et al. (2018)** qui ont rapporté une teneur de l'ordre de  $103,4 \pm 35$ mg EQ/100g de miel.

De plus, des études réalisées par **Ferreira et al. (2009)** ; **Khalil et al. (2012)** ; **Cabrera et al. (2017)** ont montrés que le miel PF présente toujours des teneurs inférieures à celui MF avec des valeurs de l'ordre de  $15,95$  à  $67,76$  mg EQ/100g,  $12,36$  à  $58,74$ mg EQ/100g,  $13,4$  à  $16,4$ EQ/100g respectivement.

Cette variation pourrait être expliquée par les différences botaniques et géographiques ainsi qu'aux facteurs climatiques et environnementaux tels que l'humidité, la température et la composition du sol (**Al-Farsi et al., 2018**).

### **III.2. Activité antiradicalaire (Piégeage du radical DPPH)**

Le DPPH est l'un des tests qui détermine l'activité antioxydante du miel par le biais de piégeage de ce radical libre. En raison de sa stabilité sous forme radicale et sa simplicité de l'analyse.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante des miels étudiés ainsi que le standard utilisé est exprimée en  $IC_{50}$  (**Tableau I**)

**Tableau I** : Activité scavenger des miels à l'égard du radical DPPH.

Echantillon de miel	Équation linéaire	Valeur Y	Valeur X ou $IC_{50}$ (mg/ml)
Miel (MF)	$y = 0,378x - 0,238$	50	132,905
Miel (PF)	$y = 0,283x + 1,170$	50	172,544

Le miel polyfloral a montré le plus faible pouvoir antioxydant avec  $IC_{50}$  d'ordre de  $172,54$  mg/ml en comparaison avec celui de miel (MF) qui a enregistré une valeur de  $132,905$  mg/ml.

Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par **Ribeiro et al. (2015)** qui trouvé une valeur d' $IC_{50}$  d'ordre de  $80,75$  à  $237,7$  mg/ml pour le miel de différentes fleurs.

Cependant, **Alzahrani et al. (2012)** ont rapporté des valeurs inférieures par rapport à nos résultats pour de miels de différentes origines botaniques et géographiques avec des valeurs d' $IC_{50}$  d'ordre de  $13,64$  à  $53,31$  mg/ml.

D'un autre côté, nos résultats sont très faibles en comparaison avec ceux indiqués par **Meda et al. (2005)** pour différents miels du Burkina Faso, qui ont montré une valeur d'IC<sub>50</sub> de 1,63 à 29,13 mg/ml.

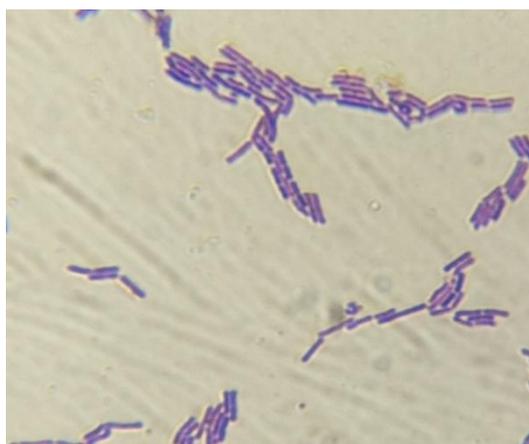
Selon **Becerril (2021)**, l'activité antioxydante était la plus faible dans les miels les plus clairs et plus élevée dans les miels les plus foncés.

La diversité des résultats de l'activité antioxydante des miels analysés, s'explique par la diversité de leur origine botanique et géographique, ainsi que par la nature et les concentrations en composés phénoliques présents. Outre les composés phénoliques, plusieurs autres éléments contribuent à la capacité antioxydante des miels, tels que les acides organiques et les enzymes (**Bath et Singh, 1999**).

### **III. 3. Isolement et examen de la pureté de *Lb. rhamnosus***

L'isolement de la souche probiotique *Lb. rhamnosus* a été fait sur la surface sèche de la gélose MRS après incubation des boîtes à 30°C pendant 24h. Sa purification a été assurée par réalisation des repiquages répétés sur le milieu d'isolement. De petites colonies blanches et homogènes ont été obtenues ce qui indique leur pureté. Elles sont dénuées de la catalase.

L'examen microscopique de la souche probiotique *Lb. rhamnosus* a été fait après coloration de Gram. Toutes les bactéries sont à G+, bâtonnets, isolées ou en chaînes ce qui confirme leur pureté (Figure 6). Cette bactérie a été conservée afin de la tester dans l'évaluation du potentiel prébiotique des miels.



**Figure 6 :** Vue microscopique des cellules de *Lactobacillus rhamnosus* (x1000).

### III. 4. Effets de variation des concentrations des miels polyfloral et de Sidr sur la croissance du probiotique *Lb. rhamnosus*

Les résultats de mesure des DO reflétant ainsi la croissance de la souche *Lb. rhamnosus* dans le milieu basal de fermentation (bouillon MRS sans glucose) additionné de différentes concentrations (2%, 3% et 5%) des miels polyfloral et de Sidr sont résumés dans les Figures (7 et 8).

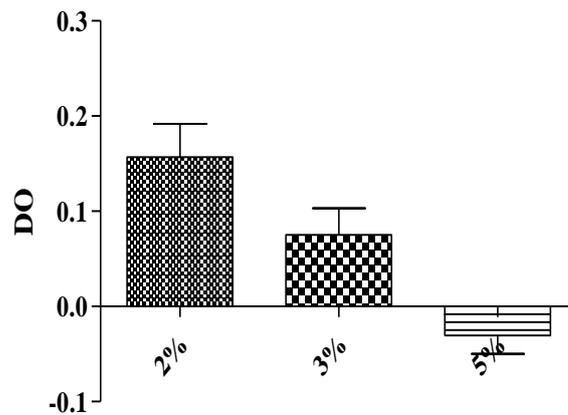


Figure 7 : Croissance de *Lb. rhamnosus* dans différentes concentrations du miel polyfloral.

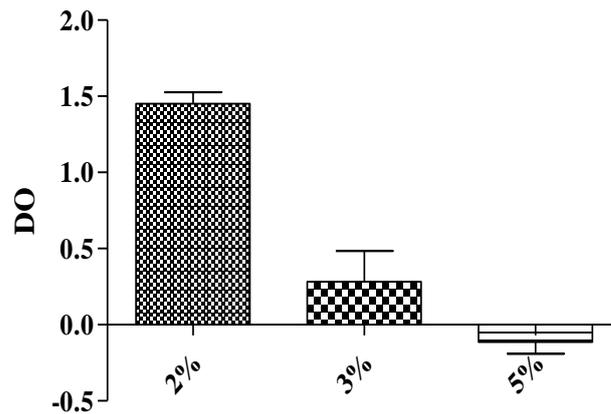
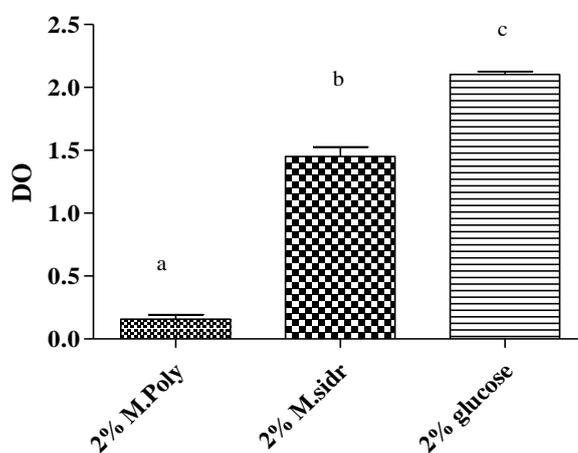


Figure 8 : Croissance de *Lb. rhamnosus* dans différentes concentrations du miel de Sidr (MF).

D'après les résultats obtenus, il s'avère que la souche probiotique se développe mieux à une concentration des miels (Sidr ou Polyfloral) de 2%. En augmentant la concentration à 3%, la croissance de *Lb. rhamnosus* diminue. Les résultats obtenus sont partiellement en accord avec ceux obtenus par **de Melo et al. (2020)** qui ont constaté dans leur étude que tous les miels (20 ou 30 g/L) ont exercé des effets favorables à la croissance et ont affiché des scores d'activité prébiotique positifs (0,94-1,22) sur les probiotiques testés.

A une concentration 5% des deux miels, des valeurs négatives de densité optiques ont été enregistrées. Ce résultat peut être expliqué par l'effet inhibiteur des substances antibactériennes des deux variétés de miel sur la croissance de *Lb. rhamnosus*. Les résultats obtenus ne concordent pas avec ceux de **Rakabizadeh et Tadayoni (2022)** qui ont rapporté que les trois miels utilisés dans leur étude ont montré les propriétés prébiotiques les plus élevées à la concentration de 5%.

La croissance de la souche probiotique dans les miels PF et de MF (Sidr) à 2% en comparant avec celle dans l'MRS qui contient 2% de glucose est résumée dans la Figure 9 montrée ci-dessous.



**Figure 9** : Croissance de *Lb. rhamnosus* dans 2% de miel de Sidr, de miel polyfloral et dans l'MRS.

D'après les résultats, *Lb. rhamnosus* préfèrent le glucose comme source de carbone et d'énergie pour leur croissance, car il est facilement assimilable (**Bouguerra et al., 2023**).

La concentration 2% du miel de Sidr a exercé un effet prébiotique sur la souche probiotique (DO=1,45±0,07).

## *Résultats et discussion*

---

De nombreuses études ont montré que le miel soutient et favorise la croissance des espèces probiotiques *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, notamment *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. bifidum* et *B. infantis*, *Lactobacillus. acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri* et *Lactobacillus rhamnosus* (Schell et al., 2022).

Bien que le miel soit principalement composé de sucres simples (monosaccharides) qui sont rapidement absorbés dans l'intestin grêle, il contient également des di-, tri- et oligosaccharides qui sont présents en plus petites quantités comme les fructooligosaccharide (FOS), le galactooligosaccharide (GOS), l'inuline et l'isomaltulose. Ces oligosaccharides favorisent non seulement la croissance des cultures probiotiques, mais exercent également un effet positif sur le métabolisme des souches bactériennes dans l'intestin humain (Hegazi et al., 2022 ; Schell et al., 2022).

La croissance de la souche probiotique dans le miel MF (Sidr) est meilleure que celle dans le miel polyfloral ( $p < 0.0001$ ). Il a été rapporté que des miels différents puissent avoir des propriétés prébiotiques différentes car leur composition en oligosaccharides pouvant affecter leur pouvoir prébiotique (Schell et al., 2022).

### Conclusion

De nombreuses études menées à l'échelle internationale viennent corroborer les multiples propriétés thérapeutiques du miel.

La composition phytochimique, l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et l'effet prébiotique de deux variétés de miel provenant de deux régions différentes d'Algérie (le miel de Sidr et le miel polyfloral) ont été déterminés. Les résultats obtenus indiquent que le miel MF (Sidr) possède une teneur plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes, ainsi qu'une activité antioxydante plus prononcée, avec une  $IC_{50}$  plus faible par rapport au miel polyfloral. De plus, il exerce un bon effet prébiotique sur *Lb. rhamnosus* à une concentration de 2%, favorisant ainsi sa croissance et son fonctionnement optimal.

Cette recherche contribue à une meilleure connaissance sur la qualité du miel disponible sur le marché, en mettant l'accent sur son origine florale et géographique.

### Références bibliographiques

- Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., & Al-Belushi, S. (2018). Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey, *Heliyon*, 4(10): e00874.
- Alvarez-Suarez, J. M., Gasparrini, M., Forbes-Hernández, T. Y., Mazzoni, L., & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: a focus on Manuka honey. *Foods*, 3(3), 420-432.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health. A review. *Mediterr. J. Nutr. Metab*, 3, 15–23.
- Alzahrani, H. A., Boukraâ, L., Bellik, Y., Abdellah, F., Bakhotmah, B. A., Kolayli, S., & Sahin, H. (2012). Evaluation of the antioxidant activity of three varieties of honey from different botanical and geographical origins. *Global journal of health science*, 4(6), 191.
- Bath, P.K. et Singh, N., (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67, 389-397.
- Becerril-Sánchez, A. L., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O., & Escalona-Buendía, H. B. (2021). Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. *Antioxidants*, 10(11), 1700.
- Bergman, A., Yanai, J., Weiss, J., Bell, D., & David, M. P. (1983). Acceleration of wound healing by topical application of honey. An animal model. *American journal of surgery*, 145(3), 374–376.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food Chemistry*. 105, 822–828.
- Bhola, J., Gokhale, M., Prajapati, S., & Bhadekar, R. (2023). Enhanced probiotic attributes of lactobacilli in honey supplemented media. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(3), 200-207.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008) Honey for nutrition and health: A review. *Am. J. Coll. Nutr*, 27: 677–689.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013). Le miel: origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), 18-21.
- Bouguerra, A., Meziti, A., Guergour, H., Harzallah, D. (2023). Assessment of the Prebiotic Effect of Gum Arabic on the Growth of Certain Probiotic Bacteria. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 15(1): 29-33.
- Cabrera, M., Perez, M., Gallez, L., Andrada, A., Balbarrey, G., (2017). Color, anti-oxidant capacity, phenolic and flavonoid content of honey from the Humid Chaco region, Argentina. *Int. J. Exp. Bot*, 86, 124e130.
- Chua, L. S., Rahaman, N. L. A., Adnan, N. A., & Eddie Tan, T. T. (2013). Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2013, 1–8.
- Cirillo, G., Curcio, M., Vittorio, O., Iemma, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., ... Picci, N. (2016). Polyphenol Conjugates and Human Health: A Perspective Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 326–337.

## Références bibliographiques

---

- Codex Alimentarius. (2001).** Revised codex standard for honey, standards and standard methods. *Codex Alimentarius Commission FAO/OMS*, 11(1987), 7.
- Contreras-Guzman, E.S., Strong, F.C., (1982).** Determination of tocopherols (Vitamin E) by reduction of cupric ion. *JAOAC*, 1982(65), 1215–1222.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323.
- De Almeida-Muradian, L.B., Stramm, K. M., Horita, A., Barth, O. M., Da Silva de Freitas, A., & Estevinho, L. M. (2013).** Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1698–1706.
- de Melo, F. H. C., Menezes, F. N. D. D., de Sousa, J. M. B., dos Santos Lima, M., Borges, G. D. S. C., de Souza, E. L., & Magnani, M. (2020).** Prebiotic activity of monofloral honeys produced by stingless bees in the semi-arid region of Brazilian Northeastern toward *Lactobacillus acidophilus* LA-05 and *Bifidobacterium lactis* BB-12. *Food Research International*, 128, 108809.
- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., et Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*, 10, 37-49.
- El-Seedi, H. R., Eid, N., Abd El-Wahed, A. A., Rateb, M. E., Afifi, H. S., Algethami, A. F., Zhao, C., Al Naggar, Y., Alsharif, S. M., Tahir, H. E., Xu, B., Wang, K., Khalifa, S. A. M. (2022).** Honey Bee Products: Preclinical and Clinical Studies of Their Anti-inflammatory and Immunomodulatory Properties. *Frontiers in nutrition*, 8, 761267.
- Eteraf-Oskouei, T., & Najafi, M. (2013).** Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 16(6), 731–742.
- Ezz El-Arab, A. M., Girgis, S. M., Hegazy, E. M., & Abd El-Khalek, A. B. (2006).** Effect of dietary honey on intestinal microflora and toxicity of mycotoxins in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 6, 6.
- Ferreira, I.C., Aires, E., Barreira, J.C.M., Estevinho, L.M., (2009).** Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chem.* 114, 1438e1443.
- Flores, M. S. R., Escuredo, O., & Seijo, M. C. (2015).** Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food chemistry*, 166, 101-106.
- Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2011).** Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch – Stärke*, 63(7), 406–415.
- Gámbaro, A., Ares, G., Giménez, A., & Pahor, S. (2007).** Preference mapping of color of Uruguayan honey. *Journal of Sensory Studies*, 22, 507–519.
- Harakeh, S., Saber, S. H., Akefe, I. O., Shaker, S., Barkaat Hussain, M., Saad Almasaudi, A., Saleh S. M. M., & Almasaudi S. (2022).** Saudi honey alleviates indomethacin-induced gastric ulcer via improving antioxidant and anti-inflammatory responses in male albino rats. *Saudi journal of biological sciences*, 29(4), 3040–3050.

## Références bibliographiques

---

- Hegazi, A. G., Al Guthami, F. M., Ramadan, M. F., Al Gethami, A. F., Craig, A. M., & Serrano, S. (2022). Characterization of sidr (*Ziziphus* spp.) honey from different geographical origins. *Applied Sciences*, 12(18), 9295.
- Ismail, N. I., Abdul Kadir, M. R., Mahmood, N. H., Singh, O. P., Iqbal, N., & Zulkifli, R. M. (2016). Apini and Meliponini foraging activities influence the phenolic content of different types of Malaysian honey. *Journal of Apicultural Research*, 55(2), 137–150.
- Jain, D. P., Pancholi, S. S., & Patel, R. (2011). Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 2(3), 177-183.
- Khalil M. I., Alam N., Moniruzzaman M., Sulaiman S. A., & Gan, S. H. (2011). Phenolic Acid Composition and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys. *Journal of Food Science*. 76(6), C921–C928.
- Khalil, I., Sulaiman, S., Alam, N., Ramli, N., Mohamed, M., Bai'e, S., Hua, G. (2012). Content and antioxidant properties of processed Tualang honey (agromas) collected from different regions in Malaysia. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 4 (3), 214e219.
- Kim, S. K., Guevarra, R. B., Kim, Y. T., Kwon, J., Kim, H., Cho, J. H., Kim, H. B., & Lee, J. H. (2019). Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *Journal of microbiology and biotechnology*, 29(9), 1335–1340.
- Luchese, R. H., Prudêncio, E. R., & Guerra, A. F. (2017). Honey as a functional food. *Honey analysis*, 287-307.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577.
- Mustar, S., & Ibrahim., N. (2022). A Sweeter Pill to Swallow: A Review of Honey Bees and Honey as a Source of Probiotic and Prebiotic Products. *Foods*, 11(14), 2102.
- Navaei-Alipour, N., Mastali, M., Ferns, G. A., Saberi-Karimian, M., & Ghayour-Mobarhan, M. (2021). The effects of honey on pro- and anti-inflammatory cytokines: A narrative review. *Phytotherapy research . PTR*. 35(7), 3690–3701.
- Nolan, V. C., Harrison, J., & Cox, J. A. G. (2019). Dissecting the Antimicrobial Composition of Honey. *Antibiotics*, 8(4), 251.
- Olofsson, T. C., Butler, È., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L. & Vásquez, A. (2014). Lactic acid bacterial symbionts in honeybees—an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal*, 13(5), 668-679.
- Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Gómez-Romero, M., Aboud, F., Guiseppe, A., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., Louaileche, H. (2016). Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, S0023-6438(16), 30774-5.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R., (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Pătruică, S., Alexa, E., Obiștioiu, D., Cocan, I., Radulov, I., Berbecea, A., ... & Moraru, D. (2022). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of some types of honey from Banat region, Romania. *Molecules*, 27(13), 4179.

## *Références bibliographiques*

---

- Peng, M., Tabashsum, Z., Anderson, M., Truong, A., Houser, A. K., Padilla, J., ... & Biswas, D. (2020).** Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(4), 1908-1933.
- Pyrzynska, K., & Biesaga, M. (2009).** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*. 28(7), 893-902.
- Rakabizadeh, B., & Tadayoni, M. (2022).** Evaluation of antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of some honey types produced in Khuzestan. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*.
- Rana, S., Mishra, M., Yadav, D., Subramani, S. K., Katare, C., & Prasad, G. (2018).** Medicinal uses of honey: a review on its benefits to human health. *Progress in Nutrition*, 20(1-S), 5–14.
- Ribeiro, J. G., Pires, P., Brandão, T., & Silva, R., (2015).** Fenólicos totais e atividade antioxidante de méis de abelha de diferentes floradas. *Rev. Nutr*, 12, 3903-3909.
- Ribéreau-Gayon, J, Peynaud, m., Ribéreau-Gayon, P., and Sudraud, P. (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671.
- Sak, K. (2014).** Dependence of DPPH Radical Scavenging Activity of Dietary Flavonoid Quercetin on Reaction Environment. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(6), 494–504.
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., & Samini, F. (2017).** Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research. *Pharmacognosy research*. 9(2), 121–127.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L., (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306.
- Schell, K. R., Fernandes, K. E., Shanahan, E., Wilson, I., Blair, S. E., Carter, D. A., & Cokcetin, N. N. (2022).** The potential of honey as a prebiotic food to re-engineer the gut microbiome toward a healthy state. *Frontiers in Nutrition*, 9.
- Schievano, E., Finotello, C., Uddin, J., Mammi, S., & Piana, L. (2016).** Objective definition of monofloral and polyfloral honeys based on NMR metabolomic profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(18), 3645-3652.
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Sarian, M. N., Khattak, M. M. A. K., ... & Latip, J. (2022).** Flavonoids as antidiabetic and anti-inflammatory agents: A review on structural activity relationship-based studies and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12605.
- Silva, B., Biluca, F C., Gonzaga L. V., Fett, R., Dalmarco, E. M., Caon, T., & Costa A. C. O. (2021).** In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. *Food Research International*. 141, 110086.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A., 1965 :** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Titěra D. (2013).** Včelí produkty mýtů zbavené: med, vosk, pyl, matěří kašička, propolis, včelí jed. Praha: Brázda.

## *Références bibliographiques*

---

**Zhang, Y. Z., Si, J. J., Li, S. S., Zhang, G. Z., Wang, S., Zheng, H. Q., & Hu, F. L. (2021).** Chemical analyses and antimicrobial activity of nine kinds of unifloral Chinese honeys compared to Manuka honey (12+ and 20+). *Molecules*. 26(9), 2778.

## Annexes

### Annexe I : Courbes d'étalonnages

- Dosage des polyphénols :

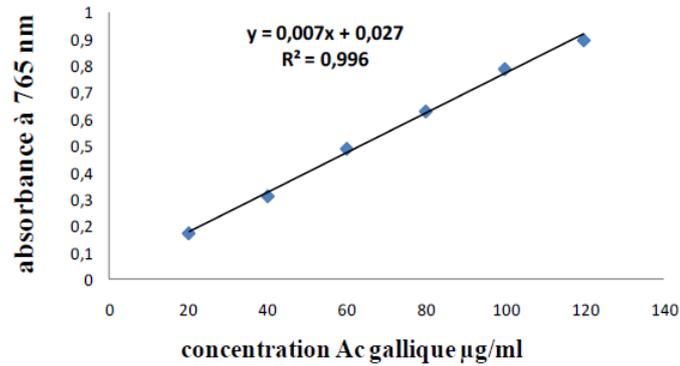


Figure 01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

- Dosage des flavonoides :

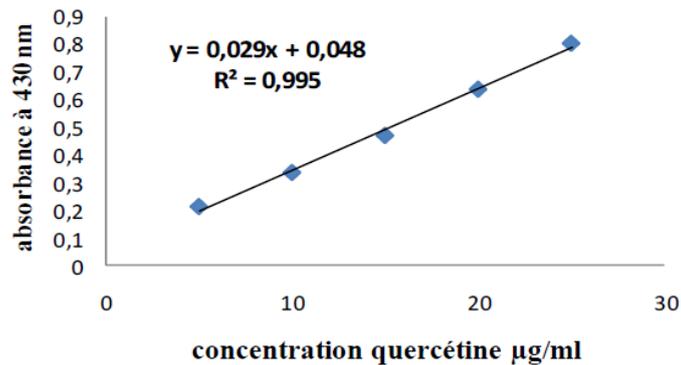


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de quercétine.

- Piégeage du radical DPPH :

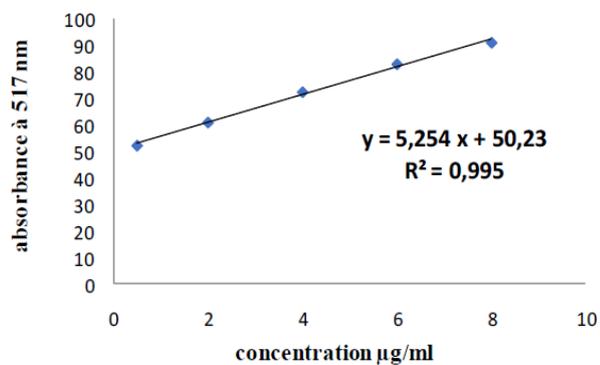
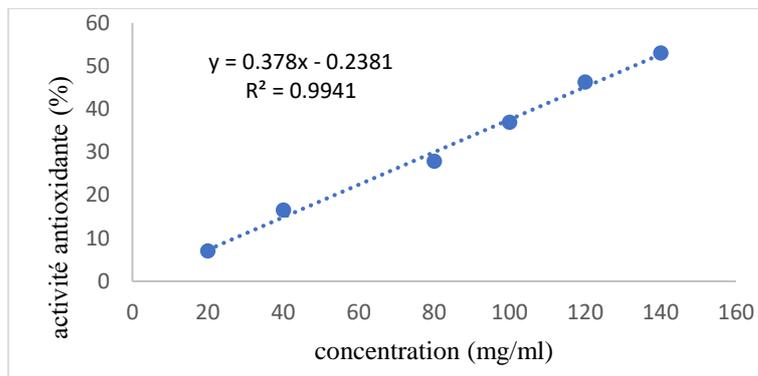
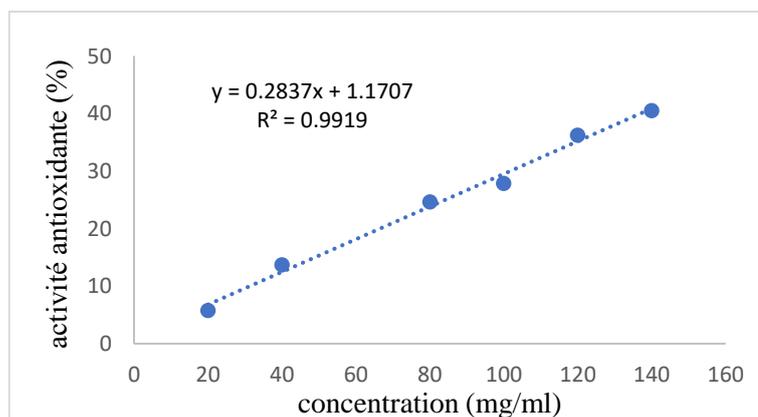


Figure 03 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

## Annexe II: Courbes d'étalonnage des miels.



**Figure 04 :** Courbe d'étalonnage du miel de Sidr.



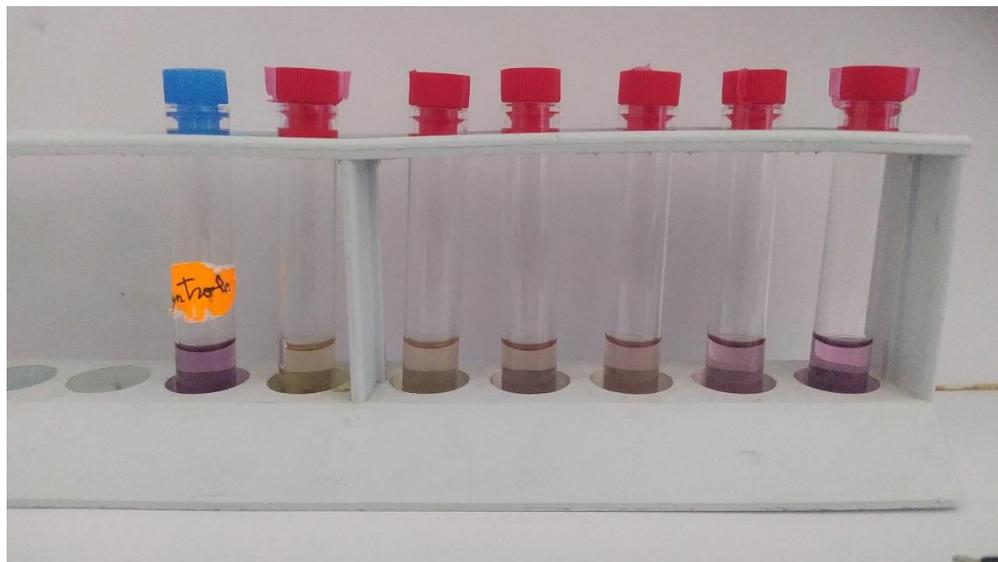
**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage du miel polyfloral.

**Annexe III** : Origine de la souche probiotique.



**Figure 06** : Ultrabiotique

**Annexe IV : Activité antiradicalaire (DPPH)**



**Figure 07 : Dégradation de la couleur du DPPH du violet vers le jaune**

## Résumé

Cette étude vise à évaluer les propriétés phytochimiques (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, capacité antioxydante) et l'effet prébiotique de deux types de miel algérien : monofloral (Sidr) et un échantillon de miel polyfloral. Le test de Folin-Ciocalteu a été utilisé pour déterminer la teneur en polyphénols totaux. Les flavonoïdes ont été quantifiés par la méthode de trichlorure d'aluminium. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical DPPH. Les résultats révèlent une haute teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans le miel de Sidr ;  $1533 \pm 0,47$  mg EAG/100 g et  $100 \pm 0,024$  mg EQ/100 g respectivement. Il a montré également une activité antioxydante plus élevée avec une inhibition de 52,986 % et une  $IC_{50}$  de 132,905 mg/mL. En revanche, le miel polyfloral possède de faibles teneurs en polyphénols ( $866,9 \pm 2,3547$  mg EAG/100 g) et en flavonoïdes ( $95 \text{ mg} \pm 0,016 \text{ mg EQ/100 g}$ ), et son activité antioxydante montrait une inhibition de 40,509 % avec une  $IC_{50}$  à partir de 172,544 mg/mL. L'effet prébiotique des deux miels sur une souche probiotique (*Lb. rhamnosus*) a été étudié dans le bouillon MRS sans glucose. Les résultats ont révélé que le miel monofloral (Sidr) est un bon prébiotique à une concentration de 2%. On conclut que le miel de Sidr est une bonne source d'antioxydants et peut être utilisé comme prébiotique à une concentration de 2%.

**Mots clés :** activité antioxydante, flavonoïdes, miel de Sidr, miel polyfloral, polyphénols, prébiotique.

## Abstract

This study aims to evaluate the phytochemical properties (total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity) and prebiotic effect of two types of Algerian honey: monofloral (Sidr) and polyfloral. The Folin-Ciocalteu test was used to determine total polyphenol content. Flavonoids were quantified by the aluminium trichloride method. Antioxidant activity was assessed using the DPPH radical scavenging method. The results reveal a high polyphenol and flavonoid content in Sidr honey:  $1533 \pm 0.47$  mg EAG/100 g and  $100 \pm 0.024$  mg EQ/100 g, respectively. It also showed the highest antioxidant activity, with an inhibition of 52.986% and an  $IC_{50}$  of 132.905 mg/mL. In contrast, polyfloral honey has low levels of polyphenols ( $866.9 \pm 2.3547$  mg EAG/100 g) and flavonoids ( $95 \text{ mg} \pm 0.016 \text{ mg EQ/100 g}$ ), and its antioxidant activity showed an inhibition of 40.509% with an  $IC_{50}$  of 172.544 mg/mL. The prebiotic effect of both honeys on a probiotic strain (*Lb. rhamnosus*) was studied in glucose-free MRS broth. The results revealed that monofloral honey (Sidr) is a good prebiotic at a concentration of 2%. It was concluded that Sidr honey is a good source of antioxidants and can be used as a prebiotic at a concentration of 2%.

**Keywords:** antioxidant activity, flavonoids, polyfloral honey, polyphenols, prebiotic, Sidr honey.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الكيميائية النباتية (الفينولات الكلية ، الفلافونويد ، القدرة المضادة للأكسدة) وتأثير البريبايوتيك لنوعين من العسل الجزائري: عينة عسل أحادي الأزهار (سدر) وعسل متعدد الأزهار. تم استخدام اختبار Folin-Ciocalteu لتحديد محتوى البوليفينول الكلي. تم قياس كمية مركبات الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم. كما تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH. أظهرت النتائج وجود نسبة عالية من البوليفينول والفلافونويد في عسل السدر.  $1533 \pm 0.47$  mg EAG/100 غ و  $100 \pm 0.024$  mg EQ/100 غ على التوالي. كما أظهر أعلى نشاط مضاد للأكسدة مع تثبيط 52.986% و  $IC_{50}$  132.905 mg/mL. في المقابل، يحتوي العسل متعدد الأزهار على مستويات منخفضة من البوليفينول ( $866.9 \pm 2.3547$  mg EAG/100 غ) ، الفلافونويد ( $95 \text{ mg} \pm 0.016 \text{ mg EQ/100 غ}$ ) ، وأظهر نشاطه المضاد للأكسدة بتثبيط بنسبة 40.509% مع  $IC_{50}$  من 172.544 mg/mL. تمت دراسة تأثير البريبايوتك لكل من العسل على سلالة الكائنات الحية المجهرية (*Lb. rhamnosus*) في مرق MRS الخالي من الجلوكوز. أوضحت النتائج أن العسل أحادي الزهرة (السدر) هو مادة حيوية جيدة بتركيز 2%. خلصت الدراسة إلى أن عسل السدر مصدر جيد لمضادات الأكسدة ويمكن استخدامه كبريبايوتيك عند تركيز 2%.

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للأكسدة ، فلافونويدات ، بوليفينول ، بربايوتيك ، عسل متعدد الأزهار ، عسل السدر.