

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 مولاي الطاهر، سعيدة

N° d'Ordre

Université de Saida -Dr. MOULAY Tahar-



كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante du miel Eucalyptus et de l'huile essentielle d'Eucalyptus par deux méthodes : piégeage de radical libre & le pouvoir antioxydant réducteur ferrique

Présenté par :

- M^{lle} : DJEBBOURI WIEM
- M^{lle} : HAMRI YOUSRA SARA

Soutenu le : **26 juin 2022**

Devant le jury composé de :

Président	Pr. SLIMANI Miloud	Professeur à l'Université de Saida (USTM)
Examineur	Dr. CHIKHI Amira	MCB à l'Université de Saida (USTM)
Rapporteur	Dr. ZIANI Kaddour	MCA à l'Université de Saida (USTM)

Année Universitaire 2021/2022

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 مولاي الطاهر، سعيدة

N° d'Ordre

Université de Saida -Dr. MOULAY Tahar-



كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante du miel Eucalyptus et de l'huile essentielle d'Eucalyptus par deux méthodes : piégeage de radical libre & le pouvoir antioxydant réducteur ferrique

Présenté par :

- M^{lle} : DJEBBOURI WIEM
- M^{lle} : HAMRI YOUSRA SARA

Soutenu le : **26 juin 2022**

Devant le jury composé de :

Président	Pr. SLIMANI Miloud	Professeur à l'Université de Saida (USTM)
Examineur	Dr. CHIKHI Amira	MCB à l'Université de Saida (USTM)
Rapporteur	Dr. ZIANI Kaddour	MCA à l'Université de Saida (USTM)

Année Universitaire 2021/2022

Dédicaces

À mes très chers PARENTS,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présents. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

Je t'aime mon père et ma mère.

À mes très chers frères : Mohamed, Sedik pour leurs soutien et encouragements sans limite. À travers ce travail je vous témoigne mon amour et ma gratitude.

À mon bras droit ma sœur : Houda qui m'a donnée la force, le courage, qui fait pour moi ambiance pour continue ce travail, je souhaite à vous le bonheur Hadodi.

À mon trésor ma sœur Konouz médecin de famille et ma petite sœur Nachoua : merci pour vous soutien, l'amour, encouragement et pour tout ce que vous faites pour moi, je souhaite à vous de réussir dans vos études.

A tout la famille DJEBBOURI et HAMRI.

À toutes celles et à tous ceux qui m'aiment ; Mes profonds remerciements sont adressés à mes très chères amies.

En fin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé, de loin ou de près à réaliser ce travail.

MERCI À VOUS

Wiem

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents
que Dieu me les garde*

À mes frères

À mon fiancé

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues de la promotion

À toute personne qui me connaît

Yousra

Remerciements

En premier lieu et avant tout nous tenons à remercier DIEU le tout puissant qui nous donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Ce travail, n'aurait pas pu voir le jour sans de nombreuses personnes que nous voudrions remercier.

Nos plus vifs remerciements s'adressent à notre encadreur ZIANI Kaddour pour nous avoir donné l'occasion de réaliser ce travail sous sa direction, pour son amabilité, ses précieuses orientations, ses conseils avisés et ses corrections combien bien utiles.

À notre Co-Encadreur SIDI IKHLEF Amel pour son soutien continu et pour avoir cru en nous, même dans les moments les plus difficiles. Nous ne trouverons jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que nous lui porte pour tous ses précieux conseils, et ses encouragements.

On remercie très sincèrement Monsieur SLIMANI Miloud professeur à l'Université de Saida de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

À notre princesse Bien nommé Dr.CHIKHI Amira d'avoir accepté de juger notre travail, évaluer et examiner cette mémoire, nous la remercions beaucoup pour tous ses efforts, pour ses conseils, pour nous avoir encouragés durant tout notre travail.

Nous devons beaucoup de remerciements, d'appréciation et de gratitude à Monsieur SELLES Sidi Mohamed Ammar Professeur à l'Université de Tiaret pour son aide, de partager avec nous ses idées et sa patience avec nous tout au long de notre travail.

On remercie aussi Monsieur KAID Mohamed professeur à l'université de Saida pour ses aides, ses conseils et pour nous avoir encouragés.

Nous tenons remercies aussi Mr. BOUDOU Farouk, Dr. BRAHIMI Mustapha et Dr. ARABI Wafaa pour ses aides, ses conseils, et de nous donner des astuces de laboratoire durant notre pratique.

Sans oublier les responsables du Laboratoire de l'Université de Saida Monsieur Hmed, Laaredj, Atmen et Amel.

Pour tous nos amis qui nous ont apporté leur soutien moral pendant ces années d'études Imen, Chaima, Alia, Khaira, Khoulood, Malek, Badiaa et Souad je les remercie sincèrement.

Remerciement spécial à Wadjila, comme vous avez dit « une vraie amitié est née entre nous » merci beaucoup pour votre soutien, aide et encouragement dans les moments difficiles, vous êtes une source énergies.

Enfin, un très grand **MERCI** à toutes nos familles qui nous ont gratifié de son amour et fourni les motivations qui ont permis l'aboutissement de notre entreprise. Nous leur adressons toute notre gratitude du fond du cœur.

Liste des abréviations

- %** : Pourcentage
- A** : Ash (Cendre)
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AFNOR** : Association Française de Normalisation
- AL** : Acidité libre
- AlCl₃**: Trichlorure d'aluminium
- AOAC**: Association of Official Analytical Chemists
- BHT**: Butylhydroxytoluène
- °C** : Degré Celsius
- CE** : Conductivité électrique
- CEU**: Council of European Union
- DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- ERO** : Espèce réactive d'oxygène
- Fe²⁺** : fer ferreux
- Fe³⁺** : fer ferrique
- FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power
- FT** : Flavonoïdes Totaux
- G** : Gramme
- H°** : Humidité
- HClO** : L'acide hypochloreux
- HE** : Huile essentielle
- HEE** : Huile essentielle Eucalyptus
- HMF** : Hydroxyméthyl Furfural
- Ia** : Indice d'acidité
- IC** : Concentration inhibitrice
- IN** : Indice invertase
- IR** : Indice de réfraction
- Kg** : Kilo gramme
- L** : Litre
- m/v** : Masse/Volume
- M1** : Mixture 1
- M2** : Mixture 2
- M3** : Mixture 3

mAU : Milli absorbance unit
ME : Miel Eucalyptus
Meq : Milliéquivalent
Mg EC : milligramme équivalent catéchine
Mg : Milli gramme
Ms : Milli siemens
Na₂CO₃ : carbonate de sodium
NaNO₂ : Nitrite de sodium
NaOH : Hydroxyde de sodium
NO : L'oxyde nitrique
NO₂ : Dioxyde d'azote
O²⁻ : L'anion superoxyde
OH : Radical hydroxyle
ORAC : capacité d'absorption des radicaux d'oxygène
P/V : poids/ volume
pH : Potentiel d'hydrogène
PT : Polyphénols Totaux
R° : Radicaux libre
R1, R2, R3 : Répétition
RMP : Rotation par minute
RSA : Radical Scavenger Activity
Se : Sélénium
TEAC : activité antioxydante équivalente au trolox
Ts : Taux de sucre
TSE : Turkish Standard Institute
UV : ultra-violet
VCEAC : Vitamine C équivalent acide gallique
Zn : Zinc

Liste des tableaux

Tableau 1: Principales différences entre miel du nectar et de miellat (Bruneau, 2009).....	7
Tableau 2: Composition du miel (White, 1975 ; Anon ,1995)	7
Tableau 3 : Contenu minéral de Miel Eucalyptus (Kaid, 2021).....	10
Tableau 4: Durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/kg de miel en fonction de la température de stockage selon White et al, (1964), Hadorn et al, (1962)	11
Tableau 5 : Profil en sucre, obtenu par HPLC-RI, de l'échantillon de miel étudiés (valeurs exprimé en g/100g de miel) (KAID, 2021).....	14
Tableau 6: Recommandations et exigences internationales des critères de qualité du miel.....	18
Tableau 7 : Caractéristiques des espèces actives drivées de L'oxygène moléculaire.....	21
Tableau 8: Caractéristiques physiques d'huiles essentielles Eucalyptus	29
Tableau 9 : Table de conversion IR-Brix-Humidité (miel).....	37
Tableau 10 : Paramètre physico-chimique de miel Eucalyptus analysé	49
Tableau 11 : Tableau comparatif entre même miel d'eucalyptus analysé en 2020 (Kaid, 2021) et 2022 (présente étude).	54
Tableau 12 : Teneur en polyphénol et flavonoïdes totaux du miel eucalyptus.....	56
Tableau 13: IC50 et FRAP de l'échantillon du miel analysé.....	58
Tableau 14 : Caractéristiques organoleptiques d'HEE analysée.....	60
Tableau 15: Récapitulatif les caractéristiques d'HEE.....	61
Tableau 16 : Concentration inhibitrice IC50 des mixtures	65

Liste des figures

Figure 1 : <i>Apis Mellifera</i>	5
Figure 2 : <i>Puceron vert sécrétant du miellat</i>	6
Figure 3 : <i>Structure de quelques acides phénoliques (a)et des flavonoïdes (b) présents dans le miel (Meda, 2005)</i>	12
Figure 4 : <i>Aire de répartition des Myrtaceae dans le monde (Heywood, 1996)</i>	25
Figure 5 : <i>Fleurs Eucalyptus (https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus)</i>	26
Figure 6 : <i>Structure chimique des deux composants principaux de l'HE d'Eucalyptus globulus</i>	27
Figure 7 : <i>Chromatogramme type d'une huile essentielle d'Eucalyptus Globulus (Pranarôm International, 2014)</i>	28
Figure 8 : <i>Utilisation et propriétés thérapeutiques de l'HE d'Eucalyptus Globulus</i>	31
Figure 9 : <i>Schéma générale sur les analyses effectuées</i>	36
Figure 10 : <i>Préparation des mixtures (M1, M2, M3) entre ME & HEE</i>	47
Figure 11 : <i>Histogramme de variation de pH de miel eucalyptus analysé</i>	51
Figure 12 : <i>Variation de la Conductivité électrique de miel Eucalyptus analysé</i>	53
Figure 13 : <i>Variation du pouvoir antioxydant de miel eucalyptus analysé</i>	56
Figure 14 : <i>Pourcentage d'inhibition de miel Eucalyptus</i>	57
Figure 15 : <i>Activité anti radicalaire (DPPH) d'HEE</i>	61
Figure 16 : <i>Pouvoir réducteur du HEE</i>	62
Figure 17 : <i>Pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydant de la mixture (M1, M2 et M3)</i>	64

Résumé

Les produits naturels sont des composés biologiques très complexe, dérivés de plantes et d'autres ingrédients naturels et caractérisés par une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. Dans cette optique, une étude de l'activité antioxydante du miel (ME) et de l'huile essentielle d'Eucalyptus (HEE) par deux méthodes : piégeage de radical libre DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) et le pouvoir antioxydant réducteur ferrique FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ont été effectué. De plus, une évaluation de l'activité antioxydante des mixtures (M1 : 25%ME+75%HEE ; M2 : 50% ME+50%HEE ; et M3 : 75% ME+25%HEE) entre ces deux produits naturels a été réalisée. Ces produits ont subi aussi une analyse de certains paramètres physico-chimiques, un dosage des polyphénols totaux (PT) et des flavonoïdes totaux (FT). L'analyse des paramètres physico-chimiques du miel étudiés montre des valeurs normales : pH acide de 4,52, une teneur en eau de 16,3%, une teneur en cendre est de 0,2725 %, une acidité de 40,0 méq/Kg et une conductivité électrique de $0,45 \pm 0,0033$ mS/Cm. Ces paramètres sont fréquemment utilisés comme des indicateurs de la qualité et de la stabilité du miel. Ce dernier présente une teneur en (PT) et (FT) de 0,01602 mg EAG/100g et 0,870 mg EC/100 g respectivement. La mesure de l'activité antioxydante du (ME) par la méthode de DPPH a révélé des valeurs situés entre 13,614 et 39,774 %. Tandis que, les résultats des FRAP sont situés entre 0,00624 à 0,0359 mg/ml, avec une moyenne de 0,0184 mg/ml. Ces valeurs témoignent d'une activité antioxydante plus au moins faible. Les résultats des tests physicochimiques de l'HEE, tels que la densité, d'acidité et le pH sont conforme aux exigences aux normes nationales et internationales. À l'inverse, du (ME), cette huile possédé une activité antioxydante très marquée varient entre 25,218 à 75% et 0,093 à 0,181 pour DPPH et FRAP respectivement.

Mots clés : Activité Antioxydante, Analyse physico-chimiques, Eucalyptus, Miel, Huile essentielle.

Abstract

Natural products are very complex biological compounds, derived from plants and other natural ingredients and characterized by a great diversity, giving it a multitude of properties, both nutritionally and therapeutically. Much of the current research interest is in the study of naturally occurring antioxidant molecules. In this perspective, a study of the antioxidant activity of honey (ME) and essential oil of Eucalyptus (HEE) by two methods: trapping of free radical DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) and the power ferric reducing antioxidant FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) were performed. In addition, an evaluation of the antioxidant activity of the mixtures (M1 : 25%ME+75%HEE ; M2: 50%ME+50%HEE; and M3: 75% ME+25%HEE) between these two natural products was carried out. These products also underwent an analysis of certain physico-chemical parameters, a dosage of total polyphenols (PT) and total flavonoids (TF). The analysis of the physico-chemical parameters of the honey studied shows normal values : acid pH of 4.52, a water content of 16.3%, an ash content of 0.2725%, an acidity of 40.0 meq/Kg and an electrical conductivity of 0.45 ± 0.0033 mS/Cm. These parameters are frequently used as indicators of honey quality and stability. The latter has a (PT) and (FT) content of 0.01602 mg EAG/100g and 0.870 mg EC/100 g respectively. The measurement of the antioxidant activity of (ME) by the DPPH method revealed values between 13.614 and 39.774%. While, the results of the FRAPs are located between 0, 00624 at 0.0359 mg/ml, with a mean of 0.0184 mg/ml. These values testify to a more or less weak antioxidant activity. The results of the physicochemical tests of HEE, such as density, acidity and pH are in accordance with the requirements of national and international standards. Conversely, of (ME), this oil possessed a very marked antioxidant activity varying between 25.218 to 75% and 0.093 to 0.181 for DPPH and FRAP respectively. The antioxidant power measured for the mixtures by the DPPH method. this oil possessed a very marked antioxidant activity varying between 25.218 to 75% and 0.093 to 0.181 for DPPH and FRAP respectively. The antioxidant power measured for the mixtures by the DPPH method. this oil possessed a very marked antioxidant activity varying between 25.218 to 75% and 0.093 to 0.181 for DPPH and FRAP respectively.

Key words : Antioxidant activity, Physico-chemical analysis, Eucalyptus, Honey, Essential oil.

ملخص

المنتجات الطبيعية هي مركبات بيولوجية معقدة للغاية ، مشتقة من النباتات والمكونات الطبيعية الأخرى وتتميز بتنوع كبير ، مما يمنحها العديد من الخصائص ، من الناحية التغذوية والعلاجية. ينصب الكثير من الاهتمام البحثي الحالي على دراسة جزيئات مضادات الأكسدة التي تحدث بشكل طبيعي. في هذا المنظور ، دراسة النشاط المضاد للأكسدة للعسل (ME) والزيت العطري من الأوكالبتوس (HEE) بطريقتين: محاصرة الجذور الحرة DPPH (2،2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) والقوة الحديدية المضادة للأكسدة FRAP (تم إجراء الحد من مضادات الأكسدة الحديدية. بالإضافة إلى ذلك ، تقييم النشاط المضاد للأكسدة للخلائط (M1: HEE 75% / ME 25% ؛ M2: ME 50% / HEE 50% ؛ M3: تم تنفيذ (HEE 25% / ME 75%) بين هذين المنتجين الطبيعيين. خضعت هذه المنتجات أيضاً لتحليل بعض المعلمات الفيزيائية والكيميائية ، وجرعة من مادة البوليفينول (PT) والفلافونويد الكلي (TF). أظهر تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية للعسل المدروس القيم الطبيعية: أس هيدروجيني حمضي 4.52 ، ومحتوى مائي بنسبة 16.3% ، ومحتوى رماد بنسبة 0.2725% ، وحموضة 40.0 ميكرو لتر / كغ ، وموصلية كهربائية 0.45 ± 0.0033 مللي ثانية / سم. كثيراً ما تستخدم هذه المعلمات كمؤشرات على جودة العسل وثباته. يحتوي الأخير على محتوى (PT) و (FT) يبلغ 0.01602 مجم / 100 مجم EAG و 0.870 مجم / 100 مجم EC على التوالي. أظهر قياس النشاط المضاد للأكسدة لـ (ME) بطريقة DPPH قيم بين 13.614 و 39.774%. بينما تقع نتائج FRAPs بين 0.00624 و 0.0359 مجم / مل ، بمتوسط 0.0184 مجم / مل. تشهد هذه القيم على نشاط مضاد للأكسدة ضعيف إلى حد ما. نتائج الاختبارات الفيزيائية والكيميائية لـ HEE ، مثل الكثافة والحموضة ودرجة الحموضة تتوافق مع متطلبات المعايير الوطنية والدولية. على العكس من (ME) ، يمتلك هذا الزيت نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً للغاية يتراوح بين 25.218 إلى 75% و 0.093 إلى 0.181 لـ DPPH و FRAP على التوالي.

الكلمات الدالة: نشاط مضاد للأكسدة ، التحليل الفيزيائي والكيميائي ، شجرة الكينا ، العسل ، الزيت العطري.

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS	VI
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES FIGURES	IX
RESUME	X
ABSTRACT	XI
ملخص	XII
TABLE DES MATIERES	XIII
Introduction Générale	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
Chapitre I : Généralité sur le miel	5
I.1. Origine du miel.....	5
I.1.1. Nectar	5
I.1.2. Miellat	6
I.2. Composition chimique du miel	7
I.2.1. Les hydrates de carbonnes	8
I.2.2. Eau.....	9
I.2.3. Acides.....	9
I.2.4. Protéines, acides aminés et enzymes.....	9
I.2.5. Lipides	10
I.2.6. Vitamines	10
I.2.7. Sels minéraux	10
I.2.8. Hydroxyméthylfurfural (HMF)	11
I.2.9. Pigments.....	11
I.2.10. Composés aromatiques.....	12
I.3. Différents types de miels selon leurs origines botaniques	13
I.3.1. Miel d'eucalyptus	13
I.4. Propriétés du miel.....	14
I.4.1. Propriétés physico-chimique du miel.....	14
I.4.2. Propriétés organoleptique du miel	19
I.4.3. Propriétés nutritionnelles	20

I.4.4. Propriétés biologiques	20
Chapitre II : Généralité sur l’Huile Essentielle Eucalyptus (HEE)	24
II.1. Eucalyptus	25
II.1.1. Classification botanique d’eucalyptus	26
II.2. Composition chimique de l’huile essentielle	26
II.2.1. Terpènes	28
II.2.2. Composés aromatiques dérivés de phenylpropane	29
II.2.3. Composés d’origine diverses	29
II.3. Propriétés des HEs	29
II.3.1. Propriétés physique des HEs	29
II.3.2. Propriétés biologique des huiles essentielles	30
II.4. Toxicité des huiles essentielles d’eucalyptus	31
II.5. Voies d’administration d’huile essentielles Eucalyptus	32
CHAPITRE III : MATERIEL & METHODES	34
III.1. Rappel sur les objectifs	35
III.2. Étude des caractéristiques physicochimiques du ME	37
III.2.1. Taux d’humidité	37
III.2.2. Taux des sucres	37
III.2.3. Taux de cendres	38
III.2.4. Acidité libre	38
III.2.5. Conductivité électrique (EC)	39
III.2.6. Intensité de la couleur ABS 450	39
III.2.7. Densité	39
III.2.8. Dosage des polyphénols totaux (PT)	40
III.2.9. Dosage des flavonoïdes	40
III.3. Étude de l’activité antioxydante du ME	41
III.3.1. Activité anti radicalaire de miel (piégeage de radical libre DPPH)	41
III.3.2. Essai FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	42
III.4. Étude des caractéristiques physicochimique d’HEE	43
III.4.1. Densité	43
III.4.2. Indice d’acide	43
III.4.3. pH	44
III.5. Étude phytochimiques d’huile essentiel Eucalyptus	44

III.5.1. Dosage des polyphénols totaux (PT).....	44
III.5.2. Dosage des flavonoïdes	44
III.6. Étude de l'activité antioxydante d'HEE	45
III.6.1. DPPH.....	45
III.6.2. FRAP	46
III.7. Étude de l'activité antioxydante de la mixture (ME & HEE).....	47
III.7.1. DPPH.....	47
III.8. Analyses Statistiques	47
CHAPITRE IV : RESULTATS & DISCUSSION.....	48
Chapitre IV : Résultats & Discussion.....	49
IV.1. Analyse du miel.....	49
IV.1.1. Analyse physico-chimique du miel	49
IV.1.2. Quantification des composés phénoliques du ME	55
IV.1.3. Quantification des flavonoïdes du ME.....	55
IV.1.4. Activité antioxydante du ME	56
IV.2. Caractéristiques organoleptiques de l'HEE.....	60
IV.3. Caractéristiques physicochimiques de L'HEE	60
IV.3.1. Densité.....	60
IV.3.2. Indice d'acide (IA)	60
IV.3.3. pH.....	61
IV.4. Activité Antioxydante d'HEE	61
IV.4.1. DPPH.....	61
IV.4.2. FRAP	62
IV.5. L'activité antioxydante de la mixture.....	63
IV.5.1. DPPH.....	63
CONCLUSION & PERSPECTIVES	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	68
ANNEXES	88
Annexe 1. Table de CHATAWAY (1932).....	89
Annexe 2. Matériel utilisé.	90
Annexe 3. Dosage des polyphénols du miel Eucalyptus	91
Annexe 4. Evaluation d'activité antioxydant de miel avec différent concentration.....	91

Annexe 5. Essai FRAP de ME avec diffèrent concentration.....	92
Annexe 6. Mesure de pH d'HEE	92
Annexe 7. Echantillon de Miel et Huile essentielle Eucalyptus analysé.....	93

Introduction Générale

La relation entre les hommes et les abeilles existent depuis la préhistoire. En effet, le miel a toujours eu une place privilégiée, dans plusieurs civilisations et croyances. Ce produit phare de la ruche est le symbole à la fois de la vie, de la sagesse, de l'abondance et de la pureté (**Lefief-Delcourt, 2010; Nicolay, 2014**). Connue, depuis les temps les plus reculés, le miel est la substance naturelle sucrée, produite par les abeilles mellifiques à partir de nectar et/ou de miellat (**Doukani et al., 2014**). C'est l'une des denrées alimentaires les plus appréciées par l'homme en raison de ses saveurs, arômes et vertus énergétiques (**Belhaj et al., 2015**).

Il a été rapporté que le miel contient jusqu'à 200 substances, principalement des hydrates de carbone et de l'eau (**Achour & Khalil., 2014**). Il contient également des minéraux, des protéines, des acides aminés libres, des enzymes, des vitamines, des acides organiques, des flavonoïdes, des acides phénoliques et d'autres composés phytochimiques (**Louppis et al., 2017**). De la diversité des matières premières végétales et les transformations qu'elles subissent au sein de la colonie d'abeilles, il y a différents miels qui se distinguent par leur composition, directement dépendante du climat, des conditions environnementales et de la compétence des apiculteurs (**Gheldof & Engesth, 2002 ; Küçük et al., 2007**). Il existe 17 crus de miel en fonction des plantes butinées : aubépine, acacia, bruyère, châtaignier, chou, colza, eucalyptus, lavande, luzerne, origan, romarin, sarrasin, sarriette, tilleul, trèfle, thym et serpolet, pin et sapin.

En 2017, la production mondiale de miel était d'environ 1,9 million de tonnes ; la Chine étant le principal pays producteur suivi de la Turquie et de l'Iran (**Faostat, 2018**). En Algérie, possède une flore mellifère extrême riche, un climat favorable et un sol fertile mais la production des miels reste très inférieure par rapport aux potentialités mellifères existantes (**Merah et al., 2010 ; Makhloufi, 2010 ; Nadir, 2014**). La production de miel est de l'ordre de 30.000 tonnes par an. Elle est inférieure aux besoins de la consommation locale (**Badren, 2016**).

Le miel possède des propriétés biologiques capables de contrebalancer des processus pathologiques tels que le stress et l'infection. Le champ d'application principal du miel dans le domaine médical se situe dans le traitement des infections bactériennes, fongiques, parasitaires, virales, broncho-pulmonaires, gastro-intestinales diabète et du stress oxydatif.

L'usage du miel dans le traitement des brûlures et dans la cicatrisation des plaies de tous types a largement fait ses preuves. De plus, La consommation de miel augmente les antioxydants plasmatiques qui protègent les cellules dans le sang, permettant ainsi de contrebalancer des processus pathologiques tels que le stress qui est responsable dans l'apparition de plusieurs troubles et maladies tel que le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Ouchemoukh, 2012 ; Anand et al., 2018**). Le saint Coran et la Bible font également référence au miel, tel qu'Allah l'indique dans le Coran le miel est « curatif pour les gens » " شفاء للناس « Sourate Ennahl » 16, verset 68 et 69 », donc il n'y a pas une précision de type de miel ou de maladies traiter. Et cela laisse la porte ouverte pour dévoiler le secret du miel d'abeille. (**Sib, 2011 ; Ali Raessi et al., 2013**).

En plus du miel, et depuis des milliers d'années les ressources végétales constituent une source d'intérêt primordial pour l'homme et ses besoins. Elles continuent d'être un moyen thérapeutique utilisé dans le monde entier (**Cardoso et al., 2019**) car elles représentent une ressource de composés actifs. Dans ce cadre, L'Eucalyptus est parmi les plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde, en raison de leurs richesses en composants chimiques importants et leurs effets thérapeutiques potentiels. L'eucalyptus est utilisé pour ses vertus médicinales, parmi ses composés, le 1,8-cinéole ou eucalyptol est sans doute le plus connu, car c'est un expectorant qui peut soulager la toux et lutter contre les problèmes des voies respiratoires et autres complications (**Boukhatem et al., 2017**).

Les huiles essentielles d'Eucalyptus pourraient être considérées comme des antioxydants potentiels compte tenu de leurs propriétés antiradicalaires de piégeage des radicaux libres ainsi que leur capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique. De plus, ils ont un spectre d'action antibactérienne très large puisqu'ils inhibent la croissance des bactéries, ceci est principalement en fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Damiani et al., 2014 ; Luis et al., 2016**).

Dans cette optique, et dans le but d'évaluer et de comparer l'activité antioxydante de certains produits naturels commercialisé en Algérie, deux produits naturels ont été sélectionnés pour la présente étude : le miel (ME) et l'huile essentielle (HEE) d'eucalyptus.

Dans le 1^{er} volet, une synthèse bibliographique a été réalisée. Cette partie résumé l'essentiel sur le miel (Chapitre 1) et une description sur les vertus des huiles essentielles,

essentiellement huile d'Eucalyptus et ses utilisations (Chapitre II). Cette partie est achevée par l'activité antioxydante de cette huile et les différentes techniques utilisées pour évaluer cette activité biologique.

La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale qui décrit (Chapitre III : Matériel et méthodes) les moyens utilisés pour réaliser cette étude, ensuite, les résultats obtenus sont fait l'objet d'une interprétation et discussion selon la littérature disponible dans ce domaine (Chapitre IV : Résultats et discussion). Ce mémoire est parachevé par une conclusion et perspectives.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur le miel

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* (**Figure 1**) à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plante ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche (*Codex Alimentarius, 2001*).



Figure 1 : Apis Mellifera

(<https://gacotnoir.com/2015/09/13/apis-mellifera/>)

I.1. Origine du miel

Le miel provient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur et /ou du miellat récolté sur les plantes (**Buba et al., 2013**). Ces origines sont représentées notamment par le nectar et miellat.

I.1.1. Nectar

Le nectar, exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % de sucres, les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de chacun d'entre eux sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc.), des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine, sérine, tyrosine, etc.), et des composés inorganiques (comme les phosphates). Dans certains nectars peuvent se retrouver des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides. Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui

confèrent au miel sa saveur et son parfum. Ce nectar est produit par des glandes nectarifères ou nectaires et sa quantité dépend de très nombreux facteurs dont la structure des inflorescences, la durée de floraison, l'humidité de l'air et le moment de la journée. Dans de bonnes conditions, lorsqu'une espèce végétale produit un nectar en quantité, une colonie peut en récolter jusqu'à 5 kg par jour (**Rossant, 2010**).

I.1.2. Miellat

Le miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons) (**Figure 2**). Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes. Il est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar et produit un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar. La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalisant essentiellement sur les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (**Desmoulière, 2013**).



Figure 2: *Puceron vert sécrétant du miellat*

Photo de Bernard Chaubet publiée sur <http://www6.inra.fr>

Le (**Tableau 1**) résume les principaux points de différence entre miel du nectar et de miellat.

Tableau 1: Principales différences entre miel du nectar et de miellat (**Bruneau, 2009**)

Composants		Miel de miellat	Miel de nectar
pH		4,5	3,9
Minéraux (cendre)		0.58%	0.26%
Fructose et Glucose		61.6%	74%
Autres sucres exprimés en % des sucres totaux	Mélezitose	8.6%	0.2%
	Raffinose	0.84%	0.03%
	Maltose + isomaltose	9.6%	7.8%

I.2. Composition chimique du miel

La composition chimique du miel est très complexe et variable. Elle est influencée essentiellement par l'espèce végétale butinée, la nature du sol, la race de l'abeille, l'état physiologique de la colonie, les conditions environnementales et les techniques pratiquées par les apiculteurs (**Jean-Prost & Medori, 2005**).

Le miel contient approximativement 181 composés (**Al-Mamary et al., 2002**). C'est un produit liquide naturel, hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines (B1, B2, C), les enzymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les pigments (**Nanda et al., 2003 ; Ozcan et al., 2006**), ainsi que des substances volatiles donnant au miel son arôme (**Tableau 2**).

Tableau 2: Composition du miel (**White, 1975 ; Anon, 1995**)

	Miel de fleurs		Miel de miellat	
	Moyen	Min-Max	Moyen	Min-Max
Teneur en eau	17.2	15-20	16.3	15-20
Fructose	38.2	30-45	31,8	28-40
Glucose	31.3	24-40	26.1	19-32
Saccharose	0,7	0.1	0,5	0.1-4.7
Autres disaccharides	5.0	4.8	4.0	16
Mélezitose	<0,1	-	4.0	0,3-22,0
Erlose	0,8	-	1.0	0,16
Autres oligosaccharides	3.6	0,56	13.1	0.1-6

Sucres totaux	79,7	0,5-1	80,5	-
Minéraux	0,2	0,1-0,5	0,9	0,6-2
Acides aminés, protéines	0,3	0,2-0,4	0,6	0,4-0,7
Acides organique	0,5	0,2-0,8	1.1	0,8-1,5
pH	3.9	3.5-4.5	5.2	4.5-6.5

I.2.1. Les hydrates de carbones

Les hydrates de carbones (sucres) sont les principaux constituants du miel, représentant environ 95 % du poids sec du miel. Les sucres principaux sont les monosaccharides hexoses fructose et glucose, qui représentent 85% à 95% des sucres du miel. Le fructose (lévulose) est presque toujours dominant, avec une teneur de 38% du poids du miel, comparativement au glucose où le taux est de 31%. Par ailleurs, environ 25 sucres différents ont été détectés (**Doner ,1977 ; Siddiqui, 1970**).

Les principaux oligosaccharides dans les miels de fleurs sont des disaccharides : saccharose (1,5%), maltose (7,5%), turanose, erlose. Les miels de miellat contiennent en outre également les trisaccharides mélézitose et raffinose. Des traces de tétra et de pentasaccharides ont également été isolées. La quantité relative des deux monosaccharides fructose et glucose est utile pour la classification des miels unifloraux. D'autre part, les spectres de sucre des sucres mineurs ne diffèrent pas beaucoup dans les différents miels de fleurs (**Bogdanov et al., 2004**). Cela est dû au fait que les oligosaccharides sont principalement un produit de l'invertase du miel. Il existe des différences considérables entre les spectres de sucre des miels de fleurs et de miellat, ces derniers contenant une quantité plus élevée d'oligosaccharides, principalement les trisaccharides mélézitose et raffinose, tous deux absents des miels de fleurs (**Tableau 02**).

La dominance du fructose dans les miels peut être expliquée par plusieurs faits, d'abord par l'intervention de la gluco-invertase qui scinde le saccharose, contenu dans les nectars et les miellats, en ces deux constituants de base le glucose et le fructose mais dans des proportions rigoureusement égales. Ces monosaccharides vont s'ajouter aux sucres simples déjà présents dans le nectar et qui peuvent être déjà riches en fructose. En second lieu, pendant la maturation et quand le miel est encore trop humide, un processus interne de protection contre les fermentations se met en place avec l'intervention du glucose oxydase. Cette enzyme participe

à l'apparition du peroxyde d'hydrogène (un fort antimicrobien) et de l'acide gluconique à partir du glucose, ce qui diminue la présence de ce dernier par rapport au fructose.

I.2.2. Eau

L'eau est présente dans le miel en quantité non négligeable puisque sa teneur moyenne est de 17,2%. Cependant, puisque le miel est un produit biologique, cette valeur peut varier de manière significative. En fait, les abeilles opercules les alvéoles lorsque la teneur en eau avoisine les 18% (**Helvey 1953**).

Un miel trop liquide (humidité >18 %) risque de poser des problèmes de fermentation, au contraire, un miel trop sec (humidité \leq 15 %) sera trop visqueux et ralentira l'étape de diffusion des molécules de sucres et la cristallisation. Actuellement, les normes internationales prescrivent une teneur en eau maximale de 20%.

I.2.3. Acides

La plupart des miels sont acides, c'est-à-dire que leur pH est inférieur à 7,0. Les miels de fleurs sont certes moins acides que les miels de forêt, leur pH est toutefois plus bas, le miel de forêt étant, semble-t-il, mieux tamponné (**Bogdanov, 2006**). **Jeffrey & Echazarreta, (1996)**, rapportent que l'acide gluconique est le principal acide du miel provenant d'une grande partie de l'activité du glucose oxydase.

Le miel contient aussi d'autres acides comme l'acide formique, l'acide lactique et l'acide oxalique. La quantité d'acide la plus élevée admise dans la législation de l'UE (Union Européenne) est fixée à 50 milliéquivalents. Généralement, cette teneur est variée selon l'origine du miel (**Bogdanov et al., 1995**).

I.2.4. Protéines, acides aminés et enzymes

Les protéines sont présentes en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines. Ces protéines proviennent essentiellement du nectar, des sécrétions d'abeille et de grains des pollens (**Weiss, 1985**).

Selon **Marshall & Williams (1987)**, la fraction protéique est représentée par plus de 19 bandes protéiques, dont 4 à 7 possèdent une activité enzymatique correspondant à l' α -glucosidase (Invertase), l'amylase (Diastase) et la glucose-oxydase. Ces auteurs, sur la base d'expérimentations plus poussées, ont prouvé que ces enzymes proviennent de l'abeille qui les introduit pendant le travail de transformation du nectar en miel dans son jabot.

Le miel contient 19 acides aminés libres, presque toujours les mêmes mais avec un profil quantitatif qui change d'un type de miel à un autre. La proline et la quasi-constance de la lysine, de l'acide glutamique et de l'alanine sont pratiquement toujours présents. Par contre, la cystine, la méthionine ou le tryptophane n'apparaissent que de manière occasionnelle. Les études menées sur l'utilisation éventuelle de ces molécules comme marqueurs n'ont pas pu aboutir à des résultats concluants, surtout qu'ils proviennent en partie de l'abeille et du pollen (Pereira *et al.*, 2008; Spano *et al.*, 2009).

I.2.5. Lipides

Les lipides du miel sont présents à l'état de traces (8 % par rapport à la matière sèche), ils proviennent du nectar. Il s'agit essentiellement de stérol, des triglycérides et des acides gras tels que l'acide palmitique, les acides oléique et linoléique (Mouhoubi, 2007).

I.2.6. Vitamines

Le miel ne contient que très peu de vitamines, essentiellement des vitamines du groupe B provenant des grains de pollen en suspension, telles que la thiamine B1, la riboflavine B2, la pyridoxine B6, l'acide pantothénique B5, l'acide nicotinique B3, la biotine B8 ou H et l'acide folique B9. De la vitamine C y est également présente. Les vitamines du miel sont d'autant mieux conservées que le pH est faible (Bonté & Desmoulière, 2013).

I.2.7. Sels minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,1 % dans les miels courants, mais sont plus abondantes dans les miels foncés. Du potassium, du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium, du fer ainsi que plus de trente oligo-éléments sont trouvés dans le miel. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel les végétaux poussent (Bonté & Desmoulière, 2013) (Tableau 3).

Tableau 3 : Contenu minéral de Miel Eucalyptus (Kaid, 2021)

Échantillon	En (mg/kg)							
	Potassium	Sodium	Calcium	Magnésium	Manganèse	Cuivre	Cadmium	Fer
Miel Eucalyptus	937.7±1.4	157.6±2.8	51.1±6.8	47.6±1.2	1.9±0,7	0.3±0.1	<0.03	10.7±0.4

I.2.8. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Gonnet (1982), affirme que l'Hydroxyméthylfurfural n'est pas un composant naturel du miel mais on le trouve néanmoins presque toujours à l'état de trace. Il provient d'une dégradation lente du fructose, lequel en milieu acide se décompose. Les miels frais, récoltés après la miellée et provenant de climats tempérés, ne contiennent aucune ou seulement des traces d'HMF (le plus souvent en dessous de 3 mg/kg) (**Hadorn et al., 1962**). Pendant le stockage, l'HMF se forme plus ou moins rapidement à partir du sucre sous l'influence des acides et en fonction de la valeur pH et de la température du miel (**Vorlova & Elechovska, 2002**). Dans le cas d'un stockage au chaud et lors de la fonte à des températures plus élevées (50 à 70°C), la teneur en HMF augmente plus rapidement (**Hadorn et al., 1962**).

Tableau 4: Durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/kg de miel en fonction de la température de stockage selon **White et al., (1964)**, **Hadorn et al., (1962)**

Température(C°)	Durée pour la formation de 40 mg HMF/kg
4	20-80 ans
20	2-4 ans
30	0.5-1 ans
40	1-2 mois
50	5-10 mois
60	1-2 jours
70	6-20 heures

I.2.9. Pigments

Les caroténoïdes et les flavonoïdes sont principalement responsables de la coloration du miel. Les flavonoïdes, qui appartiennent aux groupes des polyphénols, possèdent des propriétés antioxydantes très intéressantes, car ils participent à la neutralisation des radicaux libres. La quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale. En règle générale, plus les miels sont foncés (comme ceux issus du tournesol, du sarrasin et de miellat), plus ils en sont riches. La pinocembrine, la pinobanskine, la chryisine, la galangine, la quercetine, la lutéoline et le kaempférol font partie des flavonoïdes contenus dans le miel (**Bonté & Desmoulière, 2013**).

Les acides phénoliques ainsi que les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont utilisés dans la chimio-taxonomie comme marqueurs dans la classification systématique des plantes et ont été suggérés comme marqueurs pour l'authentification de l'origine florale des miels. En effet, des différences significatives ont été trouvées dans les

différents groupes de miels. Par exemple, **Amiot *et al.*, (1989)** ont trouvé que les miels foncés contenaient plus de dérivés d'acides phénoliques et moins de flavonoïdes que les miels clairs. D'autres études ont comparé les profils des flavonoïdes de monofloraux et ont pu sélectionner des marqueurs particuliers pour certains de ces miels, tels que l'hesperetin (5,7, 3'-trihydroxy-4'-methoxyflavanone) qui n'existe que dans les miels de Citrus. (**Ferreres *et al.*, 1993; Tomas-barberan *et al.*, 2001**).

Néanmoins, l'utilisation de ce type de marqueurs reste difficile à cause des dérivés phénoliques des propolis qui se retrouvent souvent dans les miels, ce qui n'a pas permis de trouver des marqueurs pour tous les monofloraux. Les structures des principaux polyphénols, flavonoïdes contenus dans le miel sont présentés dans les (**Figure 3**).

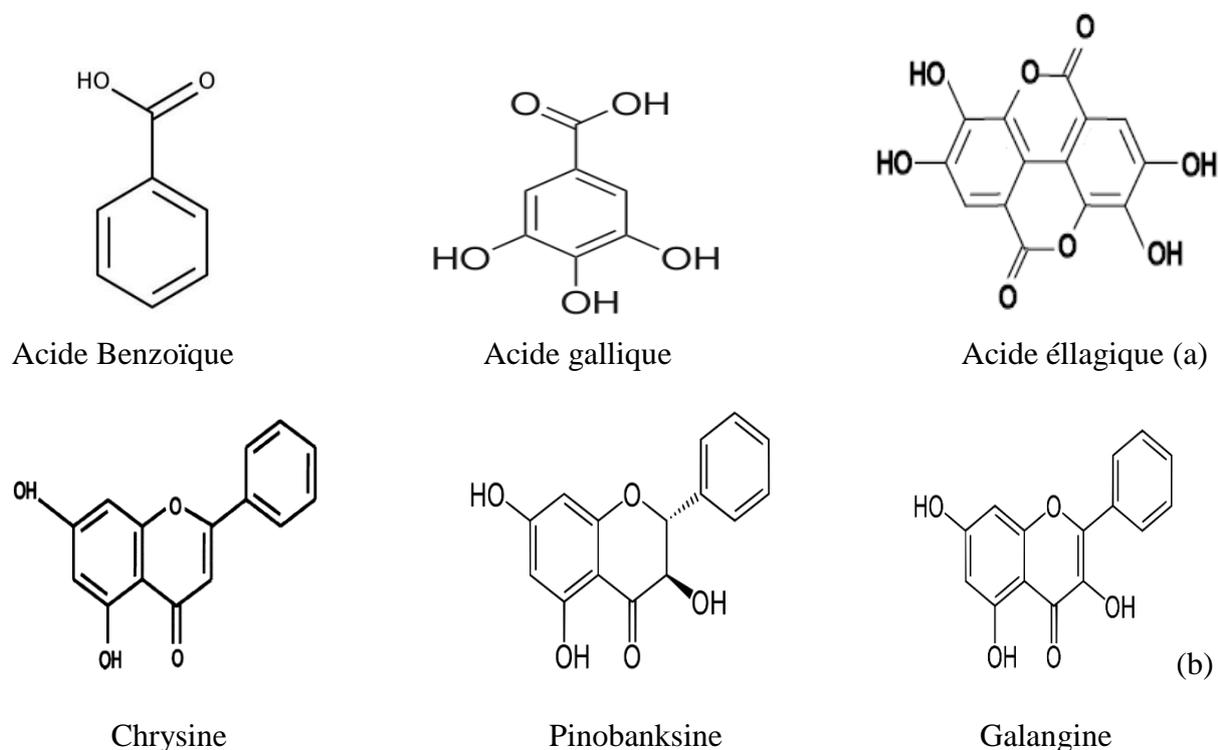


Figure 3: Structure de quelques acides phénoliques (a) et des flavonoïdes (b) présents dans le miel (**Meda, 2005**)

I.2.10. Composés aromatiques

Le miel contient des substances aromatiques qui lui donnent une senteur particulière et qui jouent un rôle dans ses vertus thérapeutiques. Une cinquantaine de ces substances ont été mises en évidence et permettent d'étudier leur origine, qui le plus souvent provient de la plante. Ce sont en général des mélanges de plusieurs dizaines de composés (alcools, cétones, acides, quinones, aldéhydes). Il contient également des substances antibiotiques naturelles appelées

inhibines, des bactériostatiques comme l'eau oxygénée, des résidus de médicaments, comme le chloramphénicol, la tétracycline, le sulfatiazol servant à la base au traitement de la colonie peuvent être également présents. Il peut aussi contenir d'autres polluants comme le plomb ou le cadmium, mais présents en de très faibles quantités (**Homrani, 2020**).

I.3. Différents types de miels selon leurs origines botaniques

Dans la catégorie des miels produits à partir de nectars deux groupes se distinguent ; les miels monofloraux et les miels polyfloraux. Les miels monofloraux, appelés aussi miels de cru sont essentiellement élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale, ce qui nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. Ce type de miels présente des caractéristiques palynologiques, organoleptiques et physicochimiques spécifiques. (**Bogdanov et al., 2003**). Les miels de colza et de tournesol représentent à eux seuls près de la moitié de la production française globale. Plus spécifiques, les miels d'acacia, de lavande, de romarin, de callune, de tilleul, de châtaignier, sont bien caractérisés. Les 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 notamment (**Bonté & Desmoulière, 2013**).

En Algérie, les principaux miels monofloraux produits sont ceux d'agrumes, d'Eucalyptus *gouffocéphala*, d'Eucalyptus *camaldulensis*, de jujubier, d'euphorbe, de lavande, de romarin, d'arbousier, de thym, de carotte sauvage, de caroubier, de harmel, de sainfoin, de luzerne, de chardon béni, de sulla, de bruyère, d'asphodèle, de ravenelle, d'atractylis, de Retama, de moutarde, de chardon, de carvi (**PAP-ENPARD-Algérie, 2019**).

Les miels polyfloraux sont communément appelés « Miels toutes fleurs », élaborés à partir du nectar provenant de plusieurs espèces végétales et représentent la majorité de la production française. Ils sont caractérisés par leur origine représentée soit par l'aire de production (région, département, massif), soit par un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigue, maquis, forêt) (**Bonté & Desmoulière, 2013**).

I.3.1. Miel d'eucalyptus

Le miel d'eucalyptus est l'un des plus courants dans le monde. Les principaux pays producteurs de miels d'eucalyptus sont ceux du bassin méditerranéen, l'Australie et la Nouvelle Zélande (**Gonnet & Vache, 1998**). À Madagascar, compte tenu de l'expansion des eucalyptus,

ce type de miel est sans doute le plus répandu sur les hauts plateaux. Les principales zones de production connues sont : Manjakandriana, Ambohimadana, Ambositra, Fandriana, Fianarantsoa et Ambohimahaso (Vestals & Andrianarivelo, 2008).

Il est considéré comme des miels foncés, par rapport aux productions européennes, les miels d'eucalyptus ont une couleur beige à brun. Ils présentent une cristallisation rapide à grains fins, très dense. Du point de vue sensoriel, ils sont à odeurs complexes de type végétal (champignon sec) à caramel doux, moyennement à assez persistantes (Gonnet & Vache, 1998 ;Piazza & Persano, 2004). D'après Louveaux & Abed (1984), les miels d'eucalyptus sont en général, riches en pollen.

Tableau 5 : Profil en sucre, obtenu par HPLC-RI, de l'échantillon de miel étudiés (valeurs exprimé en g/100g de miel) (KAID, 2021).

Echantillon	Fructose	Glucose	Turanose	Maltose	Trealose	Raffinose	F+G	F/G
ME	39.9± 0.6	30.3±0.6	0.6± 0.0	1.8±0.7	0.6 ± 0.0	N/D	70.2	1.3

I.4. Propriétés du miel

I.4.1. Propriétés physico-chimique du miel

L'évaluation de la qualité du miel passe essentiellement par la vérification de son authenticité ainsi que l'estimation de sa maturité et sa fraîcheur. Ainsi, afin d'offrir au consommateur un produit de qualité, le *Codex Alimentarius* (2001) et le *Journal Officiel de la Communauté Européenne* (2002) ont établi des limites pour certains paramètres physicochimiques du miel.

Plusieurs techniques ont été mises au point pour l'analyse de ces paramètres. En effet, afin d'éviter des divergences de résultat entre les laboratoires, une harmonisation de la plupart de ces méthodes d'analyse a été publiée, par la Commission Européenne du Miel en 1997, dans un numéro spécial de la revue *Apidologie* (Bogdanov *et al.*, 1997). Les principaux paramètres physico-chimiques permettant de contrôler la qualité des miels sont :

a. Densité

La densité peut être définie comme le rapport entre le poids de l'unité de volume d'un corps et le poids du même volume d'eau pure à 4°C. La densité du miel varie entre 1,39 et 1,44. Le

le poids spécifique du miel peut varier légèrement selon l'origine florale et notablement selon la teneur en matières minérales (**Louveaux, 1959**).

b. Viscosité

La viscosité est l'une des caractéristiques physique la plus significatives, car elle affecte la qualité du produit et la conception des équipements de traitement. Elle est influencée par la température, l'humidité et la présence des sucres (**Recondo et al., 2006**). La majorité des miels ont une viscosité normale, d'autres possèdent une viscosité anormale ; ils sont thixotropes. Cette propriété est due à la présence de protéine particulière (miel de callune). (**Yanniotis et al., 2006**).

c. Solubilité

Le miel est soluble dans l'eau et dans l'alcool dilué, mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme et le benzène (**Homrani, 2020**).

d. Hygroscopicité

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, le fructose a un grand pouvoir hygroscopique. Ainsi, un miel contenant 18% d'eau peut contenir au bout de trois mois 55% d'eau si on le laisse en atmosphère humide (**Huchet et al., 1996**).

e. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est une propriété optique qui caractérise toute substance transparente. Il est en fonction de la teneur en eau et de la température. L'indice de réfraction du miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est basse (**Ravazzi, 2007**). L'indice de réfraction varie de façon presque linéaire avec la teneur en eau, de telle sorte qu'il est possible de connaître très rapidement cette teneur en mesurant l'indice de réfraction (**Clément, 2009**).

f. Conductivité électrique

Ce paramètre permet de distinguer aisément des miels de miellat de ceux des fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (**Huchet et al., 1996**). Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée. Les miels de nectar à l'exception des *Banksia*, *Erika*, *Eucalyptus*, *Eucryphia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Tilia* et les mélanges du miel de nectar et

de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm. Les miels de miellat et le miel de châtaignier ont une conductivité supérieure à 0,8 mS/cm (**Bogdanov et al., 2001**).

g. pH et l'acidité

Comme déjà cité, les miels ont tous un caractère acide et leurs pH oscillent entre 3,5 et 5,5 et ce à cause de la présence d'acides organiques. Cette acidité participe à la conservation du produit vis-à-vis des micro-organismes. L'acide dominant est l'acide gluconique et son dérivé lactone présents dans différents équilibres, ce qui constitue l'acidité libre et l'acidité liée des miels. Il a été prouvé que l'acidité libre et le pH avaient un pouvoir de discrimination entre les monofloraux alors que l'acidité lactonée (liée) était trop variable pour donner des indications utiles (**Bogdanov et al., 2004**).

h. Teneur en eau (l'humidité)

La teneur en humidité du miel d'abeille représente une grande importance à sa stabilité contre la fermentation et la granulation. Les réglementations internationales CEU (Council of European Union), TSE (Turkish Standard Institute) et AFNOR fixe cette valeur en une fourchette de 15 à 20% (**Sib, 2007**). La faible teneur en humidité protège le miel de la contamination microbiologique et donc il peut être conservé pendant des périodes plus longues (**El-Sohaimy et al., 2015**).

i. Teneur en minéraux (cendres)

La teneur en cendres est un critère de qualité pour les miels d'origine botanique, les miels de fleurs ayant une teneur en cendres plus faible que les miels de miellat. Cette mesure est généralement remplacée par la mesure de la conductivité électrique. La teneur en cendres pourrait être conservée comme facteur de qualité pendant une période de transition, jusqu'à ce que la conductivité soit acceptée comme norme mondiale. (**Bogdanov et al., 1999**).

j. Teneur en sucre

Les sucres du miel influencent sa viscosité, son hygroscopie, sa vitesse de cristallisation et la stabilité de sa structure. Les miels contiennent au minimum six sucres (fructose, glucose, saccharose, maltose, isomaltose et turanose) (**Avisse, 2014**). Les laboratoires utilisent généralement des techniques chromatographiques (sur couche mince, chromatographie liquide à haute performance, chromatographie en phase gazeuse) ou spectroscopiques (UV-visible ou infrarouge) pour réaliser le dosage des sucres dans le miel. Les critères de qualité du miel en ce

qui concerne les sucres sont d'une part la quantité totale de glucose et fructose, d'autre part, la teneur en saccharose. D'autres sucres tels que l'isomaltose, l'erlose, le mélézitose, le tréhalose, le raffinose, le palatinose, le mélibiose, le nigérose, le turanose, le kojibiose, etc. peuvent être détectés. La quantité et la nature des sucres présents dans le miel sont influencées par les enzymes de l'abeille et de la nature des plantes mellifères dont il est issu. De plus, le dosage des sucres et les rapports glucose/eau et fructose/glucose sont nécessaires pour préciser le potentiel de cristallisation du miel. La teneur en mélézitose est plus élevée dans les miels de miellat que dans les miels de nectar (**Deschamps, 1998**). Le spectre des sucres représente une grande importance dans la détection des fraudes (**Cotte et al., 2003 ; Cordella 2003**).

k. Teneur en hydroxyméthylfurfural

Ce facteur majeur de qualité du miel est un indicateur de fraîcheur et de surchauffe du miel. Dans les miels frais, il n'y a pratiquement pas d'hydroxyméthylfurfural (HMF), mais il augmente au stockage, en fonction du pH du miel et de la température de stockage. Certaines fédérations apicoles européennes (Allemagne, Belgique, Italie, Autriche, Espagne) commercialisent une partie de leur miel en « miel de qualité », avec un maximum de 15mg/kg. Dans le commerce international, une valeur maximale de 40 mg/kg s'est révélée satisfaisante. Dans le contrôle de routine à long terme du miel. Au cours de la dernière 10 ans, plus de 90 % des échantillons de miel brut (30 000) et plus de 85 % des échantillons de miel vendus au détail (2 000) contenaient moins de 30 mg de HMF/kg (**Lüllmann , 1989–1997**). La proposition du Codex donne un maximum de 60 mg/kg. La proposition d'une valeur maximale plus élevée est basée sur l'expérience que HMF augmente sur le stockage du miel dans les pays à climat chaud. La dernière proposition de norme de l'UE exige un maximum de 40 mg/kg, car dans les conditions européennes, cette norme s'est avérée valide. Ici aussi, comme dans le cas de la diastase, il existe une différence importante entre les deux normes : alors que la norme Codex fait référence au miel après transformation et mélange, la norme UE est valable pour toute la durée de vie du miel vendu au détail. En réalité, cela signifie que la norme de l'UE est beaucoup plus sévère que la norme du Codex, car le HMF devrait augmenter lors du stockage. (**Bogdanov et al., 1999**).

l. Activité invertase

L'activité invertase est particulièrement sensible à la chaleur et aux dommages de stockage et est utilisée comme indicateur de fraîcheur. Il a été proposé que les miels frais et non chauffés aient un indice d'invertase (IN) supérieur à 10 ; pour les miels à faible activité enzymatique un

(IN) supérieur à 4 est recommandé (Duisberg *et al.*, 1966). Bien que, comme la diastase du miel, l'activité de l'invertase présente une grande variation naturelle son utilisation a été prouvée dans le contrôle de la qualité du miel. (Persano Oddo ; Piazza & Pulcini, (1999). Une norme de fraîcheur invertase est également utilisée dans les normes de miel des associations d'apiculteurs d'Allemagne, de Belgique et d'Espagne.

m. Teneur en matières insolubles

La mesure des matières insolubles est un moyen important pour détecter les impuretés du miel qui sont supérieures aux maximums autorisés. Il a été établi à l'époque où une partie importante du miel mondial était récoltée en pressant les rayons. Cependant, presque tout le miel commercial est récolté par centrifugation. Il nous semble que le maximum autorisé dans le Codex et les normes européennes de 0.1g/100 g de miel est trop élevé. Des valeurs généralement inférieures, comprises entre 0,005 g et 0,05 g/100 g sont trouvés. La cire, qui n'est pas déterminée par la méthode du Codex, est une source majeure de contamination insoluble dans l'eau. À cette fin, une autre technique de filtration peut être utilisée, par exemple avec un filtre en papier, mais une telle méthode n'a pas encore été officiellement proposée. (Bogdanov *et al.*, 1999).

Tableau 6: Recommandations et exigences internationales des critères de qualité du miel
(Codex Alimentarius, 2001 ; UE, 2002)

Caractéristique qualitative	UE	Codex Alimentarius
Eau (g/100g)		
Miel, en général	max. 20	max. 20
Miel de bruyère, miel de trèfle	Max.23	Max.23
Teneur apparente en sucres réducteurs (g/100 g)		
Miel de fleurs	min. 60	min. 60
Miel de miellat, ou mélanges avec miel de fleurs	min. 45	min. 45
Sels minéraux (g/100g)		
Miel en général	max. 0,6	max. 1
Miel de miellat ou mélanges de miel de fleurs	max. 1	Pas d'indication
Indice d'amylase (en unités de Schade)		
Miel en général	≥ 8	≥ 8
Miels pauvres en enzymes, comme le miel d'acacias	≥3	Pas d'indication
Acides libres (milliéquivalent/kg)	40	40

Hydroxyméthylfurfural (mg/kg)	≤40	≤40, ≤60 pays à climat chaud
----------------------------------	-----	---------------------------------

I.4.2. Propriétés organoleptique du miel

a. Cristallisation

La cristallisation du miel est un processus naturel, sa vitesse dépend surtout de la teneur en glucose du miel. Les miels dont la teneur en glucose est < 28 g/100 g ou dont le rapport glucose/eau est $< 1,7$ restent plus longtemps liquides. Les miels à cristallisation rapide se cristallisent le plus souvent très finement, alors que les miels à cristallisation lente ont tendance à avoir une cristallisation grossière (**Bogdanov et al., 2003**). 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 (**Emmanuelle et al., 1996**).

b. 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 (**Alvarez, 2010**), 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 (**Donadieu, 2008**). 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 clairs ; les plus foncés étant les plus minéralisés (**Emmanuelle et al., 1996**).

c. Odeur et goût

L'odeur du miel est variable (**Blanc, 2010**). L'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les tournesols, par

exemple, donne un miel jaune d'or ; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair à une saveur plus délicate (**Bradbear, 2005**).

I.4.3. Propriétés nutritionnelles

Le miel contient essentiellement des glucides, des protéines, des lipides, des enzymes et des vitamines. C'est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories. Son apport énergétique est un peu moins important que celui du sucre (316 kcals pour 100 g contre 400 kcals pour 100 g). C'est une alternative au sucre de table convenant aux personnes portant une attention particulière à leurs apports énergétiques (**Velghe, 2016**). Une cuillère à soupe de miel fournit 60 calories et contient 11 g de glucides, 1 mg de calcium, 0.2 mg de fer, 0.1 mg de Vitamine B et 1 mg de vitamine C. Les quantités que nous recommandons pour absorber sont, en général, de 1 à 2g de miel par kilogramme de poids (pour une personne pesant 60 kg : 60 à 120 g de miel) (**Bazoche, 2011**). Il est donc conseillé, autant que possible, de remplacer dans l'alimentation le sucre par du miel car il a non seulement de bonnes propriétés nutritives, mais surtout de bonnes propriétés thérapeutiques.

I.4.4. Propriétés biologiques

a. Propriétés thérapeutiques

Depuis toujours, il a été attribué au miel des vertus thérapeutiques, ce qui a ancré son utilisation dans les médecines traditionnelles et les pratiques folkloriques. Des premières études sur l'effet des miels dans la cicatrisation et le traitement des brûlures, sur l'effet antimicrobien et ses différents aspects, il est considéré comme un aliment fonctionnel qui améliore l'état de santé général et qui devra jouer un rôle important dans la ration alimentaire (**The National Honey Board, 2004**).

b. Propriétés Antioxydantes

La notion de « radicaux libres », de « stress oxydant » ou d'« antioxydants » est de plus en plus souvent utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leur approche thérapeutique. En fait, ces différents vocables se rapportent à un véritable monde chimique ayant de grandes conséquences métaboliques : l'état d'oxydoréduction, dont dépend la formation de « radicaux libres ». Du fait d'une implication majeure dans l'homéostasie énergétique, mais aussi dans l'organisation des mécanismes de défense et de signalisation cellulaire en général, ces espèces particulières représentent un véritable point de rupture entre

survie et destruction des structures vivantes, expliquant l'extrême ambiguïté et la difficulté de cette question. (Xavier, 2009).

Le stress oxydatif décrit le déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (réactives) de l'oxygène (ERO) et la capacité d'un organisme à détoxifier ces intermédiaires réactifs. (Halliwell & Gutteridge, 2015). Les ERO comprennent les radicaux libres (R°), sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ce sont des espèces chimiques, capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps de demi-vie extrêmement court ($10^{-9} - 10^{-6}$ S).

Les R° peuvent être d'origine exogène : produits des radiations (rayons X et lumière UV), polluants de l'air (N, NO), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, xénobiotiques. Lorsqu'ils sont d'origine endogène, ils sont produits, en majorité, au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies. (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Tableau 7 : Caractéristiques des espèces actives dérivées de l'oxygène moléculaire.
(Tessier & Marconnet, 1994)

O₂ Oxygène moléculaire	Bi-radical, stable, faible pouvoir oxydant
O ^{2-°} Radical anion super oxyde	Radical peu réactif, mais toxique, oxyde les catécholamines, peut former HO [°]
O₂ Oxygène	Non radical, très réactif, peut initier LIPOX
H ₂ O ₂ Peroxyde d'hydrogène	Non radical, stable, faiblement toxique, diffusible, antiseptique, peut former HO [°]
HO [°] Radical hydroxyle	Très réactif, peu diffusible, initiateur principal de la lipoperoxydation altère protéines, ADN

Le stress oxydatif peut être causé par une diminution de l'activité des enzymes de défense antioxydantes, ou par la surproduction des ERO par des phagocytes activés de manière inappropriée. Les conséquences du stress oxydatif incluent les lésions tissulaires, par exemple les dommages causés aux protéines, aux lipides (peroxydation des lipides), à l'ADN et

provoque également la mort cellulaire (**Halliwell & Gutteridge, 2015**). Chez l'homme, la pathogenèse de plusieurs maladies chroniques telles que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose et la maladie d'Alzheimer semble être liée au stress oxydatif (**Parthasarathy et al., 1992 ; Kadenbach et al., 2009**).

La consommation d'aliments ayant une activité antioxydante naturellement est le moyen le plus efficace pour lutter contre le stress oxydatif et les conséquences qu'il engendre à l'organisme. En effet, certaines molécules dérivées de ces aliments, appelés antioxydants, constituent une source d'élément antioxydant.

Les antioxydants sont des substances qui, présentent à faible concentration, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et ses conséquences. Les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action :

- Les antioxydants primaires ou antiradicalaires (type I) : leurs actions reposent sur leurs capacités à inactiver les radicaux libres, car ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents. Les composés phénoliques appartiennent à cette classe ;
- Les antioxydants secondaires ou préventifs (type II) : ils préviennent la formation des radicaux libres par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydants des ions ; c'est le cas de certains acides organiques et de certaines protéines. D'autres sont des piègeurs d'oxygène comme par exemple l'acide ascorbique, les β -carotènes ou certains systèmes enzymatiques. Certains composés phénoliques possèdent à la fois les modes d'action de type I et II (**Genot et al., 2004**).

L'activité antioxydante du miel est due à la présence dans ce produit naturel, des 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, les protéines et plus de 150 composés phénoliques comprenant les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Dimitrova et al., 2007**). De plus, l'activité antioxydante des miels est très variable d'un miel à un autre. Elle dépend essentiellement de son origine botanique. Selon **Paramas et al., (2006)**, les composés phénoliques du miel contribuent de manière significative à son pouvoir antioxydant. Les variations du pouvoir antioxydant dans le miel pourraient être dues en partie à la nature qualitative et quantitative des polyphénols qui y sont présents. Ces variations sont étroitement dépendantes de l'origine botanique et la raison est que la structure de ces composés phytochimiques joue un rôle important dans la détermination de l'activité antioxydante (**Heim et al., 2002**). Bon nombre d'études ont abouti à l'identification de

nouveaux composés naturels et la sélection des espèces botaniques prometteuses en termes de leurs utilisations prévues pour l'isolement des constituant bioactifs (**Augustyniak et al., 2010**).

D'après **Rigal (2012)**, certaines vitamines et certains oligoéléments sont également impliqués dans l'activité antioxydante du miel. La vitamine C est piègeur des radicaux libres. Elle se transforme en radical ascorbyle au contact des radicaux libres, stoppant ainsi la réaction radicalaire en chaîne. En application topique, elle diminue considérablement les dommages causés par les rayons UV. Les oligo-éléments tels que le sélénium (Se) et le zinc (Zn) jouent eux aussi un rôle important dans l'équilibre peroxydant-oxydant. Ils ont un fort pouvoir antiradicalaire et interviennent au niveau du fonctionnement des enzymes qui préviennent le photo-vieillessement.

Autre que le miel, d'autres substances naturelles sont aussi dotées par leur pouvoir antioxydants. Les huiles essentielles (HE) représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Barkat & Imène, 2011 ; Toure, 2015**). Le rôle de ces essences comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Houbairi et al., 2015**).

Chapitre II : Généralité sur l'Huile Essentielle Eucalyptus (HEE)

L'aromathérapie se définit littéralement selon le **Petit Larousse, (2002)** comme : « la partie de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles ». Dans le domaine médical, l'aromathérapie est « une thérapeutique utilisant les huiles essentielles végétales par voie interne ou externe (**Garnier et al., 2002**).

Cependant, certains auteurs (**Grosjean ; Telphon , 2003**) souhaitent respecter à la lettre l'étymologie du mot « aromathérapie » (du latin *aroma*, arôme, et du grec *therapia*, traitement) pour définir cette thérapie comme le traitement des maladies par les arômes.

D'une manière générale, l'aromathérapie peut se définir comme une thérapeutique naturelle utilisant les extraits de plantes aromatiques pour soigner ou prévenir les maladies ; elle s'intègre dans le cadre de la phytothérapie qui, elle, fait appel à toutes les plantes dotées de vertus médicinales (**Pénoël , 1991**). L'aromathérapie est préventive et curative.

Néanmoins, le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**). Les huiles volatiles ou essences aromatiques végétales nommées huiles essentielles, car elles renferment la « *Quinta essentia* », la fragrance de la plante (**Lamarti et al., 1994**). Elles sont des substances odorantes, volatiles, huileuses, de nature hydrophobe totalement solubles dans les alcools, l'éther et les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras et uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles, liquides à la température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, saffran et girofle), volatiles, insolubles dans l'eau, rarement colorées, et elle convient de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière (**Duval, 2012**).

L'association française de normalisation (**AFNOR NF T-75-006, 2000**) a défini l'huile essentielle comme étant : « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Parmi les huiles essentielles connus par ces vertus thérapeutiques, l'huile d'eucalyptus font partie des huiles essentielles les plus utilisées sur le marché. Elles sont devenues très courantes

et il est possible de les retrouver dans tout type de commerces ce qui implique que l'on en trouve tout type de qualité. Cette banalisation de leur utilisation engendre des risques car les huiles essentielles sont des produits très concentrés et comme l'exprimait Paracelse, « c'est la dose qui fait le poison ». (Nathalie Koziol, 2015)

II.1. Eucalyptus

Les *Eucalyptus* sont pour la plupart de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées grande famille de 72 genres et 300 espèces (genres *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Melaleuca*, *Myrta*). Plus de 500 espèces différentes d'*Eucalyptus* ont été dénombré. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'acclimater. Chimiquement cette famille est riche en composé phénoliques et en tannins. Elle est aussi reconnue comme une des principales familles qui produit des flavonoïdes C-méthylés (Huq & Misra, 1997 ; Wollenweber *et al.*, 2000).

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « *eu* » qui signifie « bien » et « *calyptos* » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des *Eucalyptus*, les capsules. C'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous les *Eucalyptus* (Nathalie Koziol, 2015).

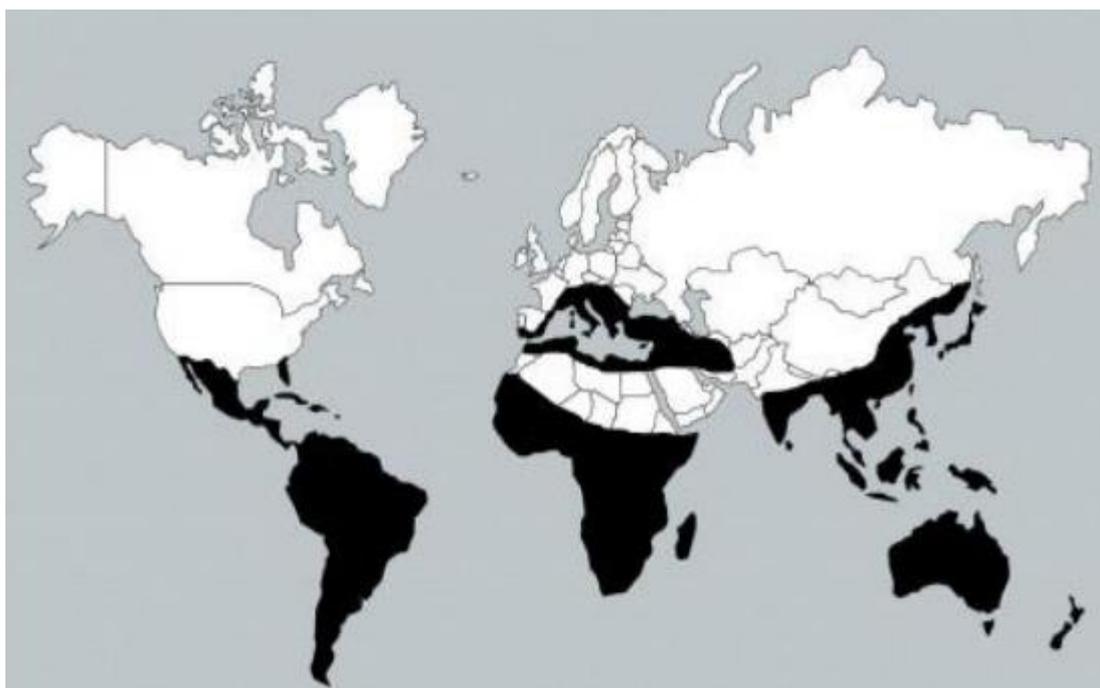


Figure 4: Aire de répartition des Myrtaceae dans le monde (Heywood, 1996)

II.1.1. Classification botanique d'eucalyptus

Synonymes : Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Arbre fièvre, Eucalyptus officinal.

- **Règne** : Plantae.
- **Sous-règne** : Tracheobionta.
- **Division** : Magnoliophyta.
- **Classe** : Magnoliopsida.
- **Sous-classe** : Rosidae.
- **Ordre** : Myrtales.
- **Famille** : Myrtaceae.
- **Genre** : Eucalyptus.



Figure 5: Fleurs Eucalyptus (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus>)

II.2. Composition chimique de l'huile essentielle

Un mélange complexe de constituants hétérogènes, ces constituants appartiennent quasi exclusivement, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts : le groupe des terpènes et des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes). (**Bruneton, 1999**).

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles des feuilles et des fruits d'Eucalyptus, et plus de 30 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le 1,8

cineole, camphène, α -pinene, globulol, β -pinene, p-cymene, myrcene, g-terpinene, α -terpineol et le limonène (Pereira *et al.*, 2005 ; Songa *et al.*, 2009). Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit ; dont les monoterpènes (50,4%), les sesquiterpènes (49,6%). Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrene (25,1%), suivi de phellandrene (17,2%), 1,8-cineole (11,7%), ledene (5,83%) et du globulol (5,23%) (Pereira *et al.*, 2005). 47 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles des feuilles : le 1, 8-eucalyptol (72,71 %), α -pinene (9,22 %), α -terpineol (2,54%), globulol (2,77%), α terpineol acétate (3,11%), et d'alloaromadendrene (2,47 %) (Songa A *et al.*, 2009). Le composé majoritaire : L'eucalyptol ou le 1,8 cineole avec une concentration de 70 à 85% (Opdyke, 2002; Zhiri & Baudoux, 2005).

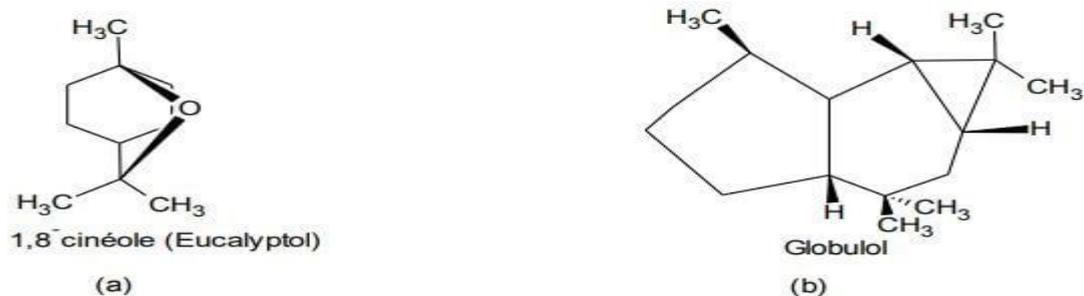


Figure 6: Structure chimique des deux composants principaux de l'HE d'*Eucalyptus globulus* (Bharti *et al.*, 2012)

D'après la pharmacopée, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* doit contenir au minimum 70% de cinéole (Figure 7). Si elle n'est pas dans les normes, elle ne pourra pas être vendue en pharmacie. En comparant les résultats des chromatographies de plusieurs laboratoires pharmaceutiques qui commercialisent des huiles essentielles, il s'est avéré que ce n'était pas toujours le cas.

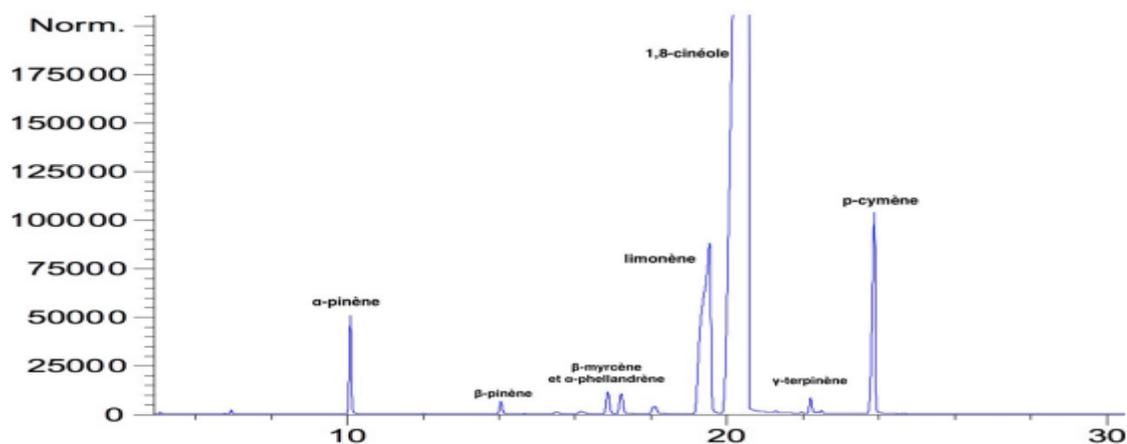


Figure 7 : Chromatogramme type d'une huile essentielle d'Eucalyptus Globulus (Pranarôm International, 2014)

II.2.1. Terpènes

Les composés de type terpénique sont largement rencontrés dans les HE, ils sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1,3-diène ou appelé encore isoprène (C_5H_8). On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes ($C_{20}H_{32}$), les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpènes $(C_5H_8)_n$ ou n peut-être de 9 à 30 (**Hernandez-Ochoa, 2005**). Aussi, parce que les terpènes proviennent de l'isoprène, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes.

Les terpènes les plus rencontrés dans les HE sont les terpènes les plus volatils, c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée tels que les mono et les sesquiterpènes (**Langenheim, 1994**). En outre, la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux parce que le squalène, ainsi que son nom l'indique, est un terpène abondant chez les requins, ainsi que les sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les coelentérés (**Guignard, 2000**).

a. Mono terpènes (C_5)

Ils sont formés de deux unités d'isoprène (C_5H_8) et utilisés dans de nombreuses pathologies infectieuses. Leurs propriétés pharmacologiques sont multiples : décongestionnantes, expectorantes, assainissantes de l'atmosphère, antalgiques ou encore toniques et stimulantes. Néanmoins, ils sont dermocaustiques et néphrotoxiques. (**Virginie Laguerre, 2015**).

b. Sesquiterpènes (C15)

Les composés de trois unités isoprène (C₅H₈), et présents en faible quantité dans de nombreuses plantes, ils sont très utilisés dans les pathologies inflammatoires ou allergiques et ne présentent pratiquement aucune toxicité aux doses physiologiques (**Virginie Laguerre, 2015**).

II.2.2. Composés aromatiques dérivés de phenylpropane

Les composés aromatiques sont des dérivés de phenylpropane (C₆-C₃) et sa production est moins fréquente que les terpènes. Généralement, il s'agit d'allyle de propénylphénols et parfois des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles, telle celle de girofle (Eugénol) (**Ghestem et al., 2001**). Également, ces composés est présente dans les HE des composés en C₆-C₁, plus rares, comme le safrole, la vanilline (assez fréquente) et l'anthranilate de méthyle (**Belaiche, 1979 ; Bruneton, 1999**).

II.2.3. Composés d'origine diverses

Les huiles essentielles peuvent contenir d'autres produits résultant de la dégradation d'acides gras comme : le (3Z)-hexen-1-ol et d'autres composés issus de la dégradation des terpènes comme les ionones (**Teisseire, 1991**). D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

II.3. Propriétés des HEs

II.3.1. Propriétés physique des HEs

Dans le (**Tableau 8**) sont données les propriétés physiques de certaines HEs. Les HEs sont liquides à température ambiante, elles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau. Elles sont liposolubles, en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (**Cohen, 2013**). La liposolubilité des HE est une propriété majeure qui leur confère une grande diffusibilité dans l'organisme quel que soit la voie d'administration utilisée.

Tableau 8: Caractéristiques physiques d'huiles essentielles Eucalyptus

Aspect	Liquide, mobile, limpide
Couleur	incolore à jaune pâle
Densité à 20°C	0, 905 à 0, 925

Indice de réfraction à 20°C	1,455 à 1,475
Rotation optique à 20°C	-5° à +10°

II.3.2. Propriétés biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques (antibactérienne, antifongique, antivirale, cicatrisante, antioxydante, anti-inflammatoire). Certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés.

a. Propriétés antioxydantes

Les HEs sont reconnues comme étant des antioxydants naturels, capables de piéger les radicaux libres et réduire leur formation (Li *et al.*, 2014). Cette faculté est principalement attribuée aux phénylpropanoïdes et terpénoïdes à noyaux phénoliques contenues dans celles-ci (Amorati *et al.*, 2013) qui agissent via différents mécanismes : le piégeage direct des espèces réactives oxygénées, l'inhibition des enzymes les générant, la chélation d'ions de métaux de transition, responsables de leur production, ainsi que la stimulation de la synthèse d'enzymes antioxydantes (Leopoldini *et al.*, 2011).

Plusieurs études *in vitro* ont démontré que l'HE d'*Eucalyptus globulus* possède des propriétés antioxydantes. Ces propriétés sont supposément assignées au 1,8-cinéole qui pourrait agir en synergie avec d'autres composants, particulièrement ceux à structure phénolique (Mishra *et al.*, 2010). C'est le cas des α -pinène et β -pinène, composés terpéniques, qui possèdent des activités antioxydantes (Salehi *et al.*, 2019).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (le tinalool, le 1,8-cinéole, le gèranial/néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone) et quelques monoterpènes : α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène (Edris, 2007).

D'après plusieurs travaux récemment publiés dans des revues scientifiques au sujet de l'activité antioxydante des huiles essentielles, il est possible d'enregistrer une telle diversité sur l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. La tendance des HE à inhiber l'oxydation d'acide linoléique est due principalement à la présence ou l'absence des composés phénoliques et ce résultat a été approuvé par plusieurs travaux (Mighri *et al.*, 2010; Aidi Wannes *et al.*, 2010). De même, certains auteurs ont utilisé les méthodes de DPPH, FRAP pour déterminer le pouvoir antioxydant (Mothana *et al.*, 2010; Saleh *et al.*, 2010).

b. Propriétés thérapeutiques et utilisation

L'HEE était utilisée depuis l'antiquité comme remède, principalement pour lutter contre les maladies respiratoires. Elle est dotée de nombreuses propriétés thérapeutiques (**Figure 8**) : antipyrétique, antiseptique, tonique, astringente et hémostatique, antiparasitaire, antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et anti tumorales (**Boukhatem et al., 2017 ; Salehi et al., 2019**). De même, elle peut être employée dans la conservation d'aliments ou comme bio insecticide contre les moustiques et les mouches domestiques (**Koziol, 2015**).

En cas de brûlures ou blessures, elle peut accélérer le temps de cicatrisation, aide à renfermer les plaies et peut également calmer les douleurs musculaires et rhumatismales (**Koziol, 2015**). Elle est utilisée aussi, comme désinfectant atmosphérique au niveau des hôpitaux pour combattre les maladies nosocomiales et les contaminations à transmission aérienne (**Boukhatem et al., 2017**).

Dans les troubles respiratoires et bronchiques, lorsque l'HE atteint les poumons, elle excite les cellules sécrétrices pulmonaires, élimine l'irritation au niveau des zones réflexogènes, soulage la toux et agit comme expectorant et mucolytique (**Wichtl et Anton, 2003**).



Figure 8 : Utilisation et propriétés thérapeutiques de l'HE d'Eucalyptus Globulus

II.4. Toxicité des huiles essentielles d'eucalyptus

D'après les recherches scientifiques, l'huile essentielle d'Eucalyptus est interdite chez les femmes enceintes et à une forte dose peut provoquer des brûlures gastriques, des nausées et

vomissements, de la tachycardie ainsi qu'une hypertension, des suffocations et une paralysie cérébrale et même des cas de décès (Foggie , 1991 ; Vincenzi *et al.* , 2002).

Par voie orale, une dose trop élevée pourrait irriter les reins à cause des monoterpènes : α et β -pinène ainsi que le limonène contenu dans les feuilles (Anton *et al.*, 2003). Le 1,8- cinéole favorise la sécrétion de certaines glandes exocrines. Cela lui confère ses propriétés expectorantes par stimulation des glandes à mucines des muqueuses respiratoires. Cela explique également que les huiles essentielles riches en 1,8-cinéole vont stimuler les glandes digestives et vont augmenter les sécrétions gastriques, d'où une apparition d'ulcères gastriques lors d'intoxications aux huiles essentielles d'Eucalyptus.

Plusieurs cas d'intoxications aux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus radiata* (de composition proche) ont été publiés, notamment chez l'enfant. Les signes d'intoxications seront : nausées, vomissements, diarrhées, brûlures épigastriques, suivis de vertiges, ataxie, désorientation, perte de connaissance voire coma. Parfois, des bronchospasmes ont aussi été observés. Certains cas de convulsions ont aussi été rapportés chez des enfants. La Commission allemande, quant à elle, recommande une dose allant de 300 à 600 mg par jour et une concentration de 5-20% pour les applications dermiques. Elle contre-indique cependant, son utilisation interne dans le cas d'inflammation du tractus gastro-intestinal, des voies biliaires ou dans les maladies hépatiques sévères. En Australie, L'HE d'*Eucalyptus globulus* est classée en 6^{ème} position dans le tableau des poisons (Tisserand & Young, 2014).

II.5. Voies d'administration d'huile essentielles Eucalyptus

Au regard de ses propriétés et selon les indications qui en découlent, les voies d'administration de l'HE d'*Eucalyptus globulus* seront différentes. Toutefois, il a été remarqué que cette HE est beaucoup plus efficace par voie cutanée (massage, friction thoracique, bain) et par diffusion aérienne (voie respiratoire) que par voie orale (Mailhebiau, 1999).

En effet, la voie respiratoire est la voie la plus avantageuse pour les infections des voies respiratoires hautes et basses car les HE sont rapidement absorbés par les cellules ciliaires qui tapissent l'arbre respiratoire depuis les fosses nasales jusqu'aux alvéoles pulmonaires. La voie cutanée est, quant à elle, aussi très recommandée en raison de son efficacité et de sa grande innocuité si les recommandations sont appliquées : les HE lipophiles pénètrent facilement dans le corps via les différentes couches cutanées (Avril, 2013), elles sont ensuite véhiculées dans la microcirculation périphérique puis dans la circulation sanguine générale (au bout de 30

minutes) jusqu'à l'organe cible pour lequel elles présentent une affinité spécifique. Pour plus de rapidité, les HE sont donc appliquées en regard de l'organe cible affecté : comme nous l'avons vu précédemment, l'HEE. *Globulus* cible les poumons, elle est donc appliquée au niveau du dos ou du thorax afin d'avoir une activité sur les bronches. (**Anton R, 2018 ; Baudoux D, 2002**).

Ainsi, les voies cutanées et respiratoires sont les deux voies à privilégier lors des traitements. La voie orale étant plutôt réservée aux médecins ou pharmaciens aromatoles (**Anton R, 2018**). La voie rectale est, quant à elle, intéressante pour les problèmes broncho-pulmonaires des enfants d'autant plus que cette HE semble favoriser l'absorption rapide du suppositoire. Cela est peut-être dû à l'hyper diffusibilité du 1,8-cinéole (**Mailhebiau P, 1999**). Cependant, tout comme la voie orale, cette voie est plutôt réservée aux médecins ou pharmaciens aromatoles (**Anton R, 2018**).

Chapitre III : Matériel & Méthodes

III.1. Rappel sur les objectifs

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de recherche à l'université de Saida-Dr. Moulay Tahar, dont l'objectif principal est porté sur la contribution à l'étude de l'activité antioxydante de certains produits naturels (ME & HEE). Dans la présente étude, le pouvoir antioxydant individuel et de mixture du miel et de l'huile essentielle d'eucalyptus a été évalué. Pour cela deux méthodes DPPH et FRAP ont été utilisées pour tester ces propriétés biologiques (**Figure 9**).

La 1^{ère} partie de ce volet expérimental, est une étude des caractéristiques physico-chimiques du (ME) (fourni par Mr. ZIANI, date de récolte Juin 2019), l'ensemble des analyses faites sont portées à la fois sur certains paramètres participant à l'identification et la confirmation de l'origine florale d'un miel tels que la conductivité électrique, la couleur, la teneur en polyphénols totaux (PT), et la teneur en flavonoïdes totaux (FT); ou bien sur l'humidité, le pH et l'acidité pour avoir une idée sur sa qualité (état de fraîcheur) et sa stabilité dans au cours du stockage.

Dans la 2^{ème} partie, l'huile essentielle choisie (HEE) (*Eucalyptus Globalus*, laboratoire pureessentiel®, Bruxelles, Belgique, 07/2025) pour cette expérience a aussi subi une série des analyses physicochimiques (pH, la densité et l'indice d'acidité), ces derniers tests reflètent sur l'état de la fraîcheur et les conditions de conservation de cette huile ; et une détermination de la teneur en polyphénols (PT), la teneur en flavonoïdes (FT) a été aussi réalisée.

L'analyse proprement dite a été étudiée l'activité antioxydante du ME, d'HEE et des mixtures (M1, M2, M3) par deux méthodes : DPPH et FRAP.

Toutes les analyses ont été effectuées en triple exemplaire pour fournir une plus grande fiabilité des résultats.

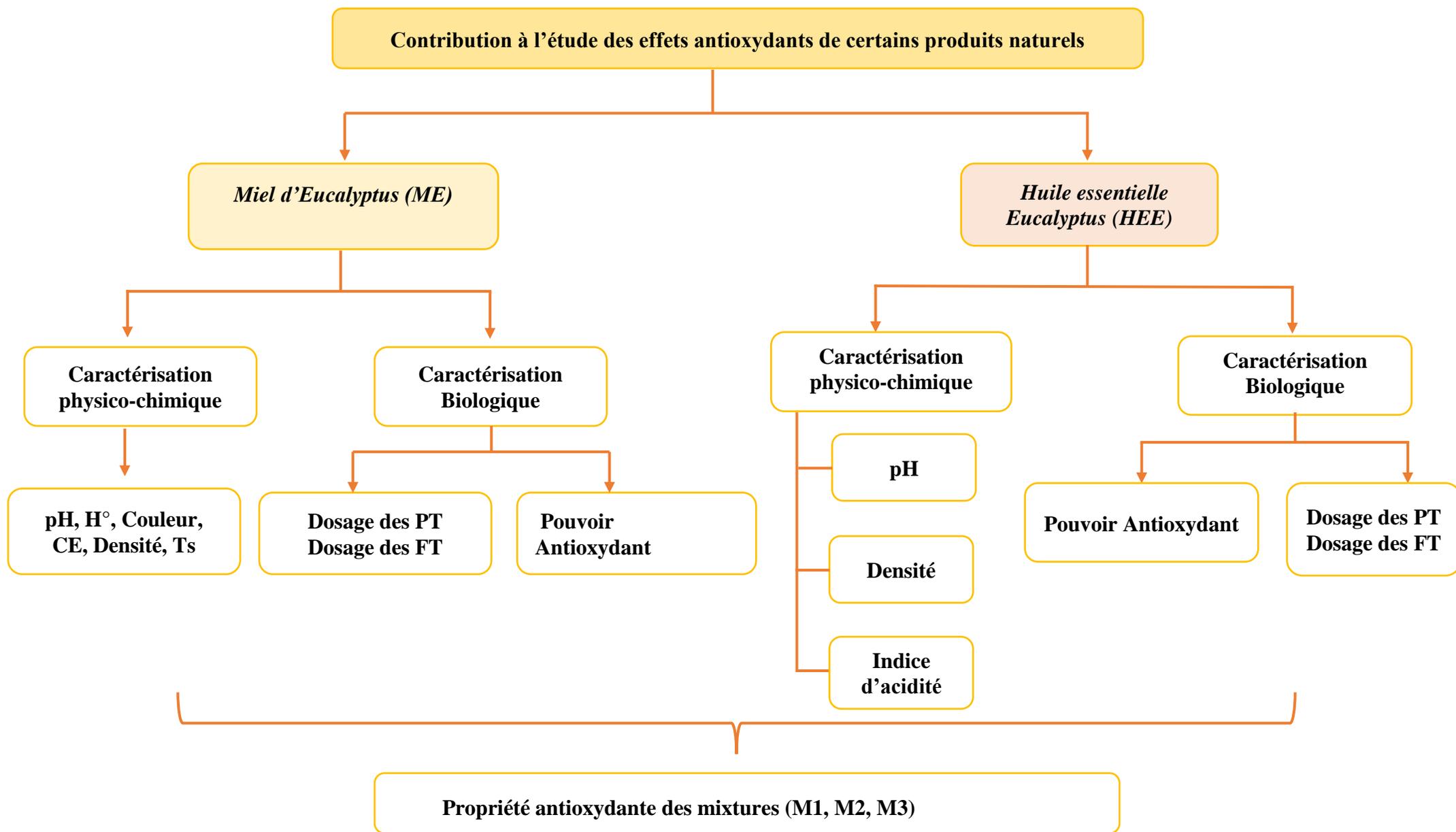


Figure 9 : Schéma générale sur les analyses effectuées

III.2. Étude des caractéristiques physicochimiques du ME

III.2.1. Taux d'humidité

L'humidité (teneur en eau) est déterminée par la méthode réfractométrique. Cette technique est basée sur le fait que l'indice de réfraction augmente avec la teneur en solides. Dans le miel, cet indice a été converti en teneur en eau (en pourcentage) tout en se rapportant au tableau de **Chataway *et al.* (1932) (Annexe.1)**.

À l'aide d'une spatule, une goutte de miel a été déposée sur la platine du prisme du réfractomètre (HAND-HELD, 040-514317-0, Germany) réparti en couche mince. La valeur de réfraction a été lue à 20°C. Dans le cas où la mesure est effectuée à une autre température, la lecture doit être corrigée. La correction est additive si la mesure est faite au-dessus de 20°C, soustractive dans le cas contraire, le facteur de correction est de 0,00023 par degré Celsius (**Bogdanov *et al.*, 1997**).

III.2.2. Taux des sucres

Le taux de sucres dans le miel est déterminé aussi par le réfractomètre, sur une échelle qui indique le degré de BRIX qui se trouve en parallèle avec l'échelle de l'indice de réfraction. Toutes les mesures ont été effectuées à la température ambiante et les lectures ont été corrigées pour une température standard de 20°C (**AOAC, 1990**).

Les résultats sont lus basant sur le tableau de conversion : Indice de réfraction (IR)-Brix-Humidité (Miel) pour déterminer la teneur en eau (**Tableau 7**).

Tableau 9 : Table de conversion IR-Brix-Humidité (miel)

IR a 20 C°	Degré Brix (%)	Teneur en eau (%)
1,48295	77,00	21,4
1,48552	78,00	20,4
1,48811	79,00	19,3
1,49071	80,00	18,3
1,49333	81,00	17,3
1,49597	82,00	16,3
1,49862	83,00	15,2
1,50129	84,00	14,2

III.2.3. Taux de cendres

La détermination de taux des cendres dans le miel est considérée comme paramètre de qualité. La teneur en cendres est liée à l'origine du miel, par exemple, les miels de fleurs ont une teneur en cendres inférieure à celle du miel de miellat (**Bogdanov, 2009**).

Un creuset vide est mis dans le four à 650 °C pendant quelques minutes, puis dans un dessiccateur jusqu'au refroidissement total. Le creuset vide est pesé (m_0), puis 5 à 10 g du (ME) ont été déposé dans le creuset (m_1). Ce dernier est introduit dans le four réglé à 650°C pendant 18 heures, jusqu'à l'obtention de cendres blanches. Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset est pesé avec les cendres (m_2).

Le calcul est réalisé selon formule suivante :

Équation 1.
$$A = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \times 100$$

Où :

A : exprimé en g/100 g ;

m_0 : poids de miel ;

m_1 : poids de la plate cendre ;

m_2 : poids du plat ;

III.2.4. Acidité libre

L'acidité libre (AL) est déterminée selon la méthode recommandée par l'**AOAC (1990)**. La commission internationale du miel a proposé 50 milliéquivalents comme acidité maximale autorisée dans le miel (**Bogdanov, 2009**). En outre, la directive 2001/110/CE de la **commission européenne (CE, 2001)** mentionne l'acidité libre comme qualité mesurée du miel. Le principe de la méthode est reposé sur le dissous d'un échantillon de miel dans l'eau distillée et l'acidité libre est mesurée par titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1M à pH 8,0.

Dans une fiole, 10 g de miel sont dissouts dans 75 ml d'eau distillée. La solution est mélangée par agitation magnétique. L'électrode du pH-mètre immergée dans la solution donne une lecture directe du pH. Cette même solution est titrée avec du NaOH 0,1 M jusqu'au pH de 8,30. Le volume de titrage enregistré servira au calcul de l'acidité libre. Le titrage ne doit pas dépasser deux minutes. L'acidité libre sera calculée selon la relation suivante :

Équation 2.

$$AL \left(\frac{meq}{kg} \right) = V * 10$$

Où

V : Volume de titrage (ml) ;

10 : Normalité x 100 (1kg).

III.2.5. Conductivité électrique (EC)

La conductivité électrique utilise la mesure de la résistance électrique et a été déterminée à 20 C° en utilisant un conductimètre. Les déterminations ont été effectuées sur une solution aqueuse de miel à 20% (m/v) (**Leo et al., 2011**).

La détermination de la conductivité électrique dépend de la teneur en cendres et en acides du miel. À titre d'exemple, plus les cendres et les acides sont élevés, plus le résultat de la conductivité électrique est élevé. Ce paramètre est considéré aussi comme un critère déterminant de l'origine botanique du miel (**Bogdanov, 2009**). Conformément à la réglementation européenne (**CE, 2001**), la conductivité électrique du miel de fleurs doit être < 0,8 mS/cm (Mili siemens) d'EC, tandis que la conductivité électrique du miel de miellat et du miel de châtaignier doit être > 0,8 mS/cm. Les exceptions sont les miels d'Arbutus, Banksia, Erica, Leptospermum, Melaleuca, Eucalyptus, Tilia, et mélanges (**De-Melo et al., 2017**).

III.2.6. Intensité de la couleur ABS 450

La coloration est une caractéristique physique importante du miel, car elle est en rapport avec leur origine florale et sa composition chimique, elle témoigne aussi sur le pouvoir antioxydant du miel (**Annexe 7**).

La mesure de l'intensité de la couleur est déterminée selon la méthode décrite par **Bath & Singh (1999)**. L'échantillon de miel est dilué à 50 % (p/v) avec de l'eau chaude (45-50°C). La solution obtenue est filtrée à travers un papier filtre pour assurer une absence totale de particules grossières dans les solutions de miel. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (ANADEO RS 232) à 450 nm.

III.2.7. Densité

La densité est exprimée par le rapport de la masse d'un volume de miel avec la masse du même volume d'eau. Elle se détermine au pèse sirop ou au densimètre. La valeur moyenne de la densité du miel est de 1,4225 à 20°C (**Homrani, 2020**).

III.2.8. Dosage des polyphénols totaux (PT)

Le dosage des (PT) a été réalisé, en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu proposée par **Singleton & Rossi (1965)** et adaptée, pour le miel, par **Singleton *et al.*, (1999)**. C'est une méthode spectrophotométrique basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange de complexe d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune, formant un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu. Cette coloration bleue produite, proportionnelle au taux de composés phénoliques, possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Le dosage des (PT) a été effectué par la comparaison de l'absorbance observée de l'échantillon à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentrations connues.

Un volume de 1 ml d'une solution de miel (0,3 g/ml), diluée dans de l'eau distillée, a été mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 10 ml d'eau distillée. Après 2 minutes d'incubation, 4 ml de $NaCO_3$ ont été ajoutés et le mélange a été ajusté à un volume final de 25 ml avec de l'eau distillée. Tous les échantillons ont été incubés à la température ambiante, dans l'obscurité pendant 1 heure et leurs absorbances ont été lues à 765 nm contre un blanc (4 ml $NaCO_3^{3+}$ 1ml de Folin-Ciocalteu, ajusté à 25 ml avec de l'eau distillée).

La teneur du miel en (PT), est exprimée en équivalent acide gallique (EAG), en mg/100 g (mg GAE/100 g du miel), a été déterminée en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une série de dilutions d'acide gallique, allant de 10 à 500 $\mu g/ml$.

III.2.9. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les différents miels est effectué suivant la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium décrite par **Al *et al.*, (2009)**. Un volume de 1ml d'une solution de miel (0,05g/ml) est mélangé avec 4ml d'eau distillée et 0,3ml de la solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$, 5 %). Après 5 min, 0,3 ml de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$, 10 %) sont additionnés suivie par l'ajout de 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium ($NaOH$, 1M). Six minutes plus tard, l'absorbance du mélange est lue à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par 100 g de miel (mg EC/100 g).

III.3. Étude de l'activité antioxydante du ME

III.3.1. Activité anti radicalaire de miel (piégeage de radical libre DPPH)

L'évaluation de l'activité anti radicalaire du miel a été effectuée par le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par **Velásquez *et al.*, (2020)** avec une légère modification. Dans ce test, les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl-picrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphényl picryl -hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance.

En bref, 1 ml de solution de miel (0,5 g du (ME) dans 4,5 ml d'eau distillée) a été mélangé avec 200 µl de la solution de DPPH et l'absorbance a été mesurée à 517 nm après 30 min. La solution de DPPH a été préparée avec 10 ml de la solution mère (24 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol) et 45 ml de méthanol. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec des solutions connues de Trolox à une concentration comprise entre 20 à 100 mg/ml. L'absorbance d'un blanc est également mesurée en utilisant un mélange de 1 ml d'eau distillée à la place de la solution de miel et 200 µL de solution de DPPH. L'activité antiradicalaire des miels est exprimée en % RSA (Radical Scavenger Activity) et est calculée par la formule suivante :

Équation 3.
$$RSA\% = \left[\frac{(AB - AT)}{AB} \right] \times 100$$

Où :

AB = Absorbance du radical vierge (DPPH sans miel)

AT = Absorbance de l'échantillon de test (DPPH avec miel)

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

Le IC_{50} qui est la concentration de miel en mg/ml, requise pour réduire de 50% l'activité du DPPH, ou encore, la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et de DPPH et a été calculée par l'utilisation d'une courbe linéaire.

III.3.2. Essai FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le principe de cette méthode est basé sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Oyaizu, 1986).

Un millilitre de solution de miel (0,5g du (ME) dans 4,5 ml méthanol (20%) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés et mélangé au vortex pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. Après, un volume de 2,5 ml du surnageant a été récupéré pour mélanger avec une quantité égale d'eau distillée et 0,5 ml de $FeCl_3$ à 0,1% fraîchement préparé. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant le miel par de l'eau distillée. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; Le Butylhydroxytoluène (BHT) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

III.4. Étude des caractéristiques physicochimique d'HEE

III.4.1. Densité

La densité relative à 20°C varie d'une huile à l'autre, ce qui est inférieur à la densité de l'eau, de sorte que l'huile flotte au-dessus de l'eau. La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse égale de volume d'eau distillée à 20°C.

La détermination de ce paramètre s'effectue en pesant 1 ml de (HEE) transvasée dans un tube à essai taré, ensuite, la même opération est réalisée en pesant 1 ml d'eau distillée. L'expression des résultats est donnée par la formule suivante :

Équation 4.
$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Avec :

m_0 : la masse en g du tube à essai vide ;

m_1 : la masse en g du tube à essai rempli d'eau ;

m_2 : la masse en g du tube à essai rempli d' (HEE).

III.4.2. Indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaires pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de matière grasse (**Houmba et al., 2016**). L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne leur altération durant le stockage.

Une quantité de $2g \pm 0.005$ g (HEE) sont pesés dans un ballon taré d'avance, puis ils sont dilués dans 5 ml d'éthanol à 95%. Ensuite, 5 gouttes de phénol phtaléine sont ajoutées au mélange qui est aussitôt neutralisé avec la solution d'hydroxyde de potassium 0.1 N.

L'indice d'acide est calculé en utilisant la formule suivante :

Équation 5.
$$I_a = \frac{5,61 * V}{m}$$

Avec ;

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

V: le volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

III.4.3. pH

Pour cette mesure nous avons utilisé des un papier pH. Quelques gouttes d'HEE ont été déposé dans le bout de papier pH, après le virage et la stabilisation de la couleur, le pH est lu en utilisant la gamme de couleurs correspond a chaque valeur du pH fourni avec ce papier.

III.5. Étude phytochimiques d'huile essentiel Eucalyptus

III.5.1. Dosage des polyphénols totaux (PT)

La méthode est fondée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungestique et l'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Cette oxydation entraine la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungestène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents (**Hadouchi et al., 2016**).

Dans une fiole jaugée de 100ml, une quantité de 40µl de (HEE) est mélangée avec 1,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 1,5ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%(m/v). Ensuite, la fiole est complétée avec de l'eau distillée. Le tout est laissé pendant 30 minutes à la température ambiante, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme (mg GAE/g).

III.5.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence de chlorure d'aluminium, grâce aux groupements hydroxyles libres. Ainsi la couleur jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 2%) est ajouté à 1ml de l'échantillon de (HEE) a analysé contenant différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 10 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et elle est exprimée en μg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μg EQ/mg d'extrait) (Bahorun *et al.*, 1996).

III.6. Étude de l'activité antioxydante d'HEE

III.6.1. DPPH

Les activités de piégeage des radicaux libres des HEs ont été déterminées en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres au 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Brand-Williams *et al.*, 1995). Le DPPH sous forme oxydée donne une couleur violette foncé dans le méthanol. Un composé antioxydant donne l'électron au DPPH, provoquant ainsi sa réduction et réduit ses changements de couleur du violet foncé au jaune. Une solution fraîche à 0,024 % de DPPH a été préparée dans du méthanol et son absorbance a été enregistrée à 517 nm.

L'activité antioxydante d'HEE a été mesurée par le mélange d'un 1 ml de solution mère (30 μl d'HEE dans 2970 méthanol) avec 200 μl de solution de DPPH et laissés au repos dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a de nouveau été enregistrée à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition de DPPH par d'HE a été calculé en utilisant la formule suivante :

Équation 6.
$$RSA\% = \left[\frac{(AB - AT)}{AB} \right] \times 100$$

Où ;

AB est l'absorbance du DPPH pur sous forme oxydée tandis qu'AT est l'absorbance de l'échantillon prélevé après 30 minutes de réaction avec le DPPH. Une courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition de l'acide gallique a été tracée pour les concentrations (20, 40, 60, 80 et 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) afin de déterminer l'IC50 valeurs des extraits qui est la concentration à laquelle 50% de la solution DPPH est balayée.

III.6.2. FRAP

L'activité réductrice du fer des extraits préparés a été déterminée selon la méthode décrite par (**Yildirim et al., 2001**), basée sur la réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})$ en Fe^{2+} .

À 1 ml de (HEE) (30 μl HE dans 2970 méthanol) à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})$ 6 à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 30 mn. Par la suite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% y sont ajoutés pour arrêter la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 mn, puis 2,5 ml du surnageant recueilli sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique 0,1% préparée extemporanément.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel s'est faite à 700 nm contre un blanc identiquement préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui a permis de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif a été représenté par une solution d'acide ascorbique (un antioxydant standard) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Benzie et al., 1996**).

III.7. Étude de l'activité antioxydante de la mixture (ME & HEE)

Plusieurs mixtures entre ME & HEE ont été préparées à différents pourcentage : **M1** (25% ME+75%HEE), **M2** (50% ME+50%HEE) et **M3** (75% ME+25%HEE).

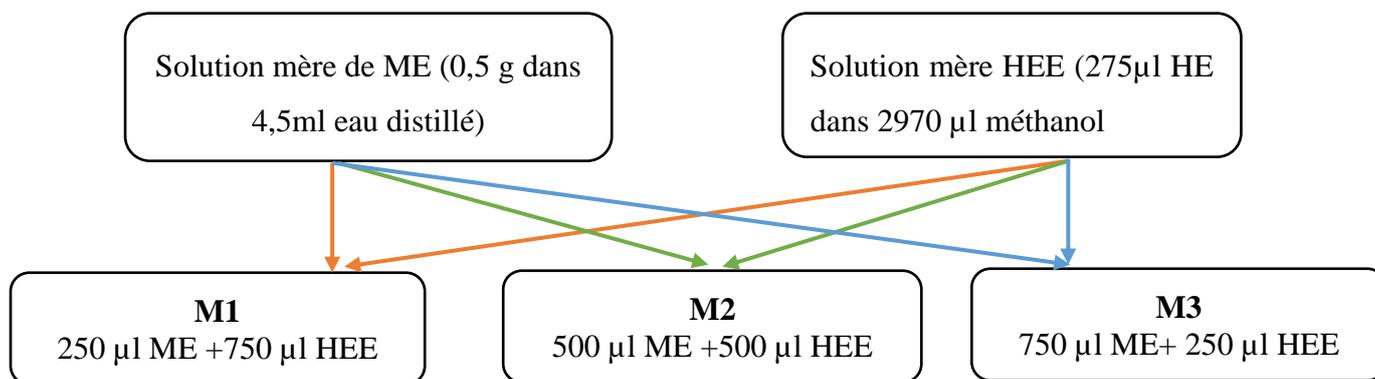


Figure 10 : Préparation des mixtures (M1, M2, M3) entre ME & HEE

III.7.1. DPPH

L'activité antioxydante de la mixture a été mesurée par le mélange d'un 1 ml de chaque mixture (M1, M2 et M3) de différente concentration avec 200 µl de solution de DPPH et laissés au repos dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a de nouveau été enregistrée à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition de DPPH a été calculé en utilisant la formule suivante :

Équation 7.
$$RSA\% = \left[\frac{(AB - AT)}{AB} \right] \times 100$$

Ou ;

AB est l'absorbance du DPPH pur sous forme oxydée.

AT est l'absorbance de l'échantillon prélevé après 30 minutes de réaction avec le DPPH.

III.8. Analyses Statistiques

Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écart types) ont été calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. Toutes les données obtenues sont la moyenne des trois essais.

Chapitre IV : Résultats & Discussion

Chapitre IV : Résultats & Discussion

IV.1. Analyse du miel

IV.1.1. Analyse physico-chimique du miel

Les résultats moyens des analyses physicochimiques sont résumés dans le (Tableau 10) :

Tableau 10 : Paramètre physico-chimique de miel Eucalyptus analysé

Échantillon	Eucalyptus algérien	Norme (Projet de l'UE)
%Humidité	16,3	17,5 < 21,0 g/100g
Conductivité (mS/cm)	0,4533	< 0,8
Cendre	0,2725	<0,6 g/100g
pH	4,52	3,5 < pH <4,5
Acidité (mg/kg)	40	< 50 méq/kg
La densité (kg/l)	1,3536	1,32-1,44

a. Taux d'humidité

La teneur en eau est un paramètre lié au degré de maturité. Il est responsable de la stabilité du miel lors de l'entreposage. La valeur moyenne enregistrée dans notre étude est de $16,3 \pm 0,01\%$ correspondant aux indices de réfraction 1,49597 (Tableau 10). Ces résultats sont presque similaires à ceux rapportés par **Marcucci et al., (2019)**, soit une valeur moyenne de $17,2 \pm 1,46\%$ pour les miels brésiliens, mais sont différents de ceux trouvés par **Kaid (2021)** sur même miel analysé en 2021 ($18 \pm 0\%$) et par **El Sohaimy et al., (2015)** sur les miels égyptiens ($18,32 \pm 0,67\%$), saoudiens, ($15,64 \pm 0,03\%$) et kashmiris ($14,73 \pm 0,36\%$). L'étude effectuée par **Amrouche & Kessi (2003)** sur les miels algériens a révélé des valeurs comprises entre 15,0 et 22,6% avec une moyenne de 17,7 %. La variation de la teneur en eau est due aux différentes conditions environnementales telles que le climat, l'origine florale des échantillons du miel, à la teneur en eau des nectars (**Nandaa et al., 2003; Bogdanov et al., 2004**) et les techniques de traitement et les conditions de stockage (**Ozcan et al., 2006**). Généralement, une quantité d'eau élevée provoque la fermentation de miel, la perte de saveur et la perte de sa qualité.

b. Taux des sucres (Brix)

Le taux des sucres obtenus dans cette étude est de $82 \pm 0,01\%$. Basant sur le tableau de conversion : Indice de réfraction (IR)-Brix-Humidité (Miel) pour déterminé la teneur en eau.

Cette valeur est parue normale selon la norme fixée par **Le Codex alimentarius, 2001**. Ce dernier considéré une teneur moyenne en degré de Brix au minimum 65 %.

En effet, les sucres représentent environ 80 % de la masse des miels, ce sont le glucose et le fructose (sucres réducteurs) qui dominant nettement et font à eux seuls près de 70%. La détermination de la teneur en sucres par une mesure réfractométrique, vient de confirmer l'origine du miel analysé car selon **Bogdanov et al., (2001)**, les miels qui présentent une teneur en sucres supérieure à 60% ont pour origine le nectar.

Grâce à la méthode de la réfractométrie, nous pouvons évaluer aussi le taux de matière sèche. La lecture est faite sur l'échelle qui indique la teneur en matière sèche ou « Degré Brix » qui se trouve en parallèle avec l'échelle de l'indice de réfraction. Selon les normes du *Codex Alimentarius* et le projet de l'Union européen, la teneur en sucre du miel ne doit pas dépasser une valeur de 82,5 Brix pour les miels issus du nectar et entre 60 et 81 Brix pour les miels de miellat.

c. Taux de cendre

La teneur en cendres observés dans nos échantillons du miel eucalyptus analysés varie de 0,207 à 0,338% avec une moyenne de $0,273 \pm 0,07\%$. Ces valeurs trouvées étaient en dessous de 0,6%, c.-à-d. inférieures à la limite autorisée par *Codex Alimentarius (2001)* pour les miels de nectar.

De plus, nos résultats sont proches à celle trouvées par **Doukani et al., (2014)** de 0,09 à 0,45%, mais supérieur a ceux trouvé par **Kaid (2021)** de $0.16 \pm 0.01\%$ sur même échantillon de miel analysé en 2021. Cependant, **Nandaa et al., (2003)** signalent que la limite permise de la teneur en cendres des miels de nectar est de 0,6%.

Il est admis que, la teneur en cendres est un critère de qualité, montre également que cette teneur est liée à l'origine botanique du miel. Le taux de cendre est présent en pourcentage majeur dans les miels sombres que dans les miels clairs (**Bogdanov, 2003**).

La variation en matières minérales peut être liée aux procédés de récolte, aux techniques de l'apiculteur et aux matériels collectés par les abeilles lors de la recherche de nourriture sur la fleur (**Finola et al., 2007**) et principalement déterminée par le sol et le climat (**Acquaron et al., 2007**).

d. pH

Les valeurs de pH de miel étudié tendent vers l'acidité, elles sont comprises entre 4,22 et 4,83 avec une moyenne de $4,52 \pm 0,17$. Ces valeurs sont en accord avec les recommandations du *Codex Alimentarius*, où le pH est varié de 3,5 à 4,5 et de 4,5 à 5,5 respectivement pour les miels de nectar et de miellat. Un pH extrême révèle une dégradation biochimique suite à de mauvaises conditions de récolte ou de conservation (**Deschamps, 1998**).

Nos résultats sont conformes avec ceux rapportés par **Bogdanov et al., (1999)** qui ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5.

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par **Kaid (2021)** sur le même miel analysé en 2021 de ph varie de 4,2 à 4,9 avec une moyenne de 4,55. D'après **Doukani et al., (2014)**, tous les miels Algériens étaient de nature acide avec un pH qui varie entre 3,70 et 4,05. Ces valeurs sont similaires à celles rapportées pour d'autres échantillons de miels provenant de l'Inde, du Brésil, de l'Espagne et de la Turquie, qui auraient un pH entre 3,49 et 4,70 (**Azeredo et al., 2003; Saxena et al., 2010**). La variation du pH serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Louveaux, 1968**).

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu. Les miels sont généralement acides, en raison de la présence d'acides organiques, tels que les acides gluconiques provenant des sécrétions digestives des abeilles pendant l'élaboration du miel : l'acide pyruviques, l'acide maliques et l'acide citriques (**Achouri et al., 2015**).

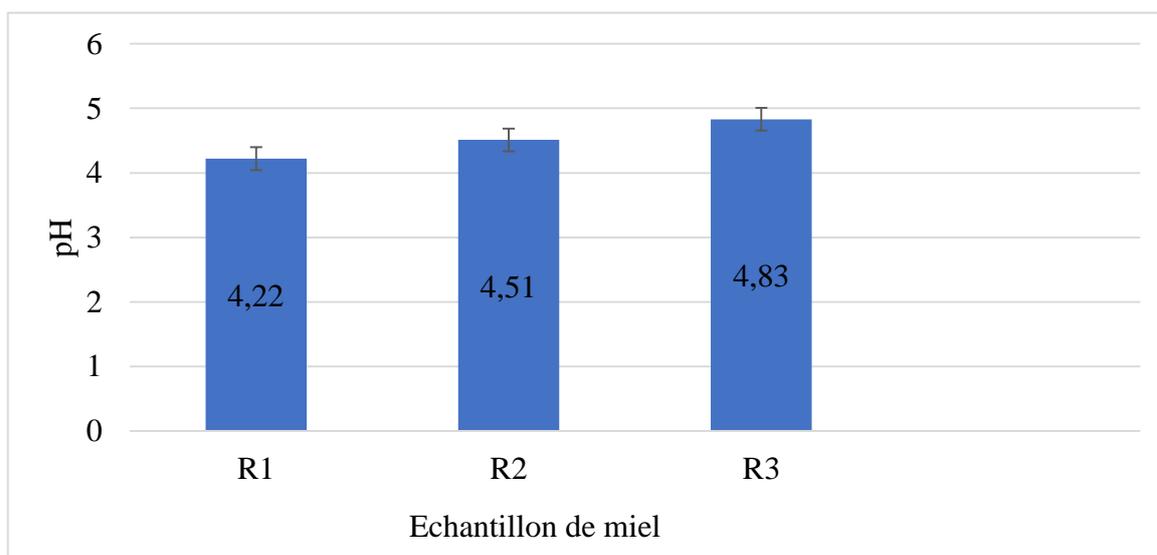


Figure 11 : Histogramme de variation de pH de miel eucalyptus analysé

e. Acidité libre

L'acidité du miel analysé est de 40 méq/kg. Cette valeur est proche à la norme fixée par le *Codex Alimentarius* (2001) qui est de 50 méq/kg, aux résultats trouvées par **Doukani et al., (2014)** (19,56 à 38,91) méq /kg et (10 à 40 méq/kg) cités par **Achour et al., (2014)**. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Kaid (2021) sur même échantillon de ME dont la valeur est de 12,6 méq/kg.

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou aux variations de la saison de la récolte (**Perez-Arquillue et al., 1995**). D'après **Schweitzer (2004)**, l'acidité naturelle du miel s'accroît lorsque le miel vieillit, lorsqu'il est extrait des rayons avec de la propolis et notamment lorsqu'il s'altère par fermentation. L'acidité est un critère important de qualité, elle donne des indications très importantes de l'état du miel et l'absence de fermentations indésirables (**Bogdanov, 1999 ; Gonnet, 1982**).

f. Conductivité électrique

La conductivité de miel analysé enregistre des valeurs se situant entre $0,42 \pm 0,002$ et $0,53 \pm 0,00$ mS/cm, avec une moyenne de $0,453 \pm 0,03$ mS/cm. Ces valeurs se rapprochent des résultats obtenus par **kaid (2021)** pour lequel la CE De ME est de $0,41 \pm 0,002$. Toutes les valeurs sont en accord avec les normes établies par le *codex Alimentarius* (2001), qui préconise une valeur seuil fixée à $< 0,8$ mS/cm pour le miel de nectar et $> 0,8$ mS/cm en ce qui concerne le miellat.

La mesure de la conductivité permet de différencier le miel de nectar des miels de miellat et elle est désignée aujourd'hui comme un paramètre de qualité fiable lors des contrôles de routine, qui remplace la teneur en cendres (**Bettar et al., 2015**). Selon **Chouia (2014)**, cette dernière est plus longue, coûteuse et comporte des erreurs plus élevées. De plus, la teneur en cendres représente une mesure directe de résidus inorganiques après carbonisation du miel, tandis que la conductivité électrique mesure toutes substances organiques et inorganiques (**Silva et al., 2017**).

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles. La teneur de ces derniers dans les solutions diluées est proportionnelle à la conductivité (**Amellal, 2008**). Selon **Rodier (1997)**, D'autres facteurs influent, également, sur la variabilité de la conductivité tels que l'acidité, sa composition en protéines et autres substances ionisables,

la variabilité de l'origine botanique de ces miels ainsi que les conditions climatiques de la région de récolte (Fechner *et al.*, 2016). C'est un bon critère lié à l'origine botanique du miel, et très souvent utilisé dans les routines de contrôle du miel au lieu de la teneur en cendres (Terrab *et al.*, 2003).

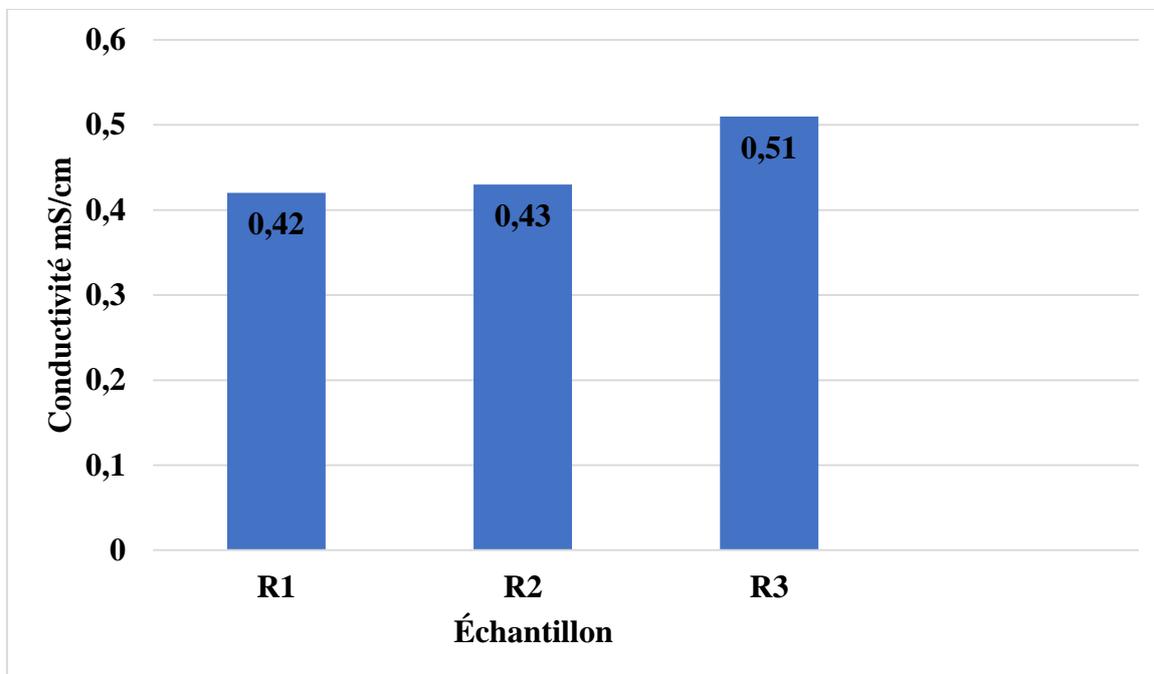


Figure 12 : Variation de la Conductivité électrique de miel *Eucalyptus* analysé

g. Couleur

Le miel analysé enregistre des absorbances qui varient de 1,458 à $1,496 \pm 0,03$, la couleur diffère d'un échantillon à l'autre. Cette différence de couleur pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que : la teneur en minéraux, colorants (caroténoïdes, flavonoïdes), qui sont également connus pour avoir des propriétés antioxydantes (Isla *et al.*, 2011). Nos résultats obtenus se rapprochent de celles de Saxena *et al.*, 2010 (0,524 à 1,678) pour les miels indiens.

Généralement, la couleur du miel d'*Eucalyptus* est foncée, comme elle peut être beige ou marron. L'intensité de cette coloration dépend de la teneur en éléments minéraux de chaque miel, autrement dit plus le taux de matières minérales est élevé plus la couleur est foncée (Louveaux, 1968). En effet, les miels d'*Eucalyptus* sont riches en éléments minéraux c'est pourquoi ils ont des couleurs plus ou moins foncées.

D'autant plus, la couleur représente une caractéristique très importante du miel et ses mesures peuvent être employées dans l'identification de l'origine florale du miel parce que les différences en origine et composition de miel sont sensiblement exhibées dans leur couleur (**Cimpoi** *et al.*, 2013).

h. Densité

Les valeurs de la densité d'échantillons de miel analysé varient entre 1,24 et 1,463 Kg/l, avec une moyenne de 1,3536 kg/l. Selon la législation et le codex Alimentarius, ainsi que l'Association française de normalisation (**AFNOR**) (2003), les normes préconisées pour la densité du miel doivent varier entre 1,32 à 1,42.

Selon Prost (2005) la densité d'un miel varie en fonction de sa teneur en eau, lorsque celle-ci augmente, la densité baisse, la non correspondance des valeurs de densité avec celle de la teneur en eau est probablement due à la présence d'impuretés (pollen, petits morceaux de cire, etc), ou bien cela peut être due à une longue conservation, étant donné que les miels sont hygroscopiques, il peut y avoir une absorption de l'humidité, quant à nos échantillons leurs densité correspond parfaitement aux valeurs de la teneur en eau trouvée, d'où une bonne maîtrise de la récolte, et que l'extraction est suivie d'une épuration par décantation ou centrifugation afin d'éliminer toutes impuretés. En général, plus un miel est riche en eau, moins il est dense et dans notre étude l'échantillon évoluent dans ce sens.

Tableau 11 : Tableau comparatif entre même miel d'eucalyptus analysé en 2020 (**Kaid, 2021**) et 2022 (présente étude).

Paramètres	Miel Eucalyptus algérien		Observations
	2022	2020	
%Humidité	16,3± 0	18± 0	Diminution
Conductivité (mS/cm)	0,4533	0,41± 0,02	Stable
%Cendre	0,2725	0.16±0.01	Augmentation
pH	4,52	4,55	Stable
Acidité (mg/kg)	40	12,6	Augmentation
La densité (kg/l)	1,3536	-	Dans les normes

D'après ce tableau qui montre les résultats des analyses physicochimiques de même (ME) analysé en 2020 par Kaid (2021) et durant cette année. Nous avons enregistré une stabilité de la conductivité électrique et du pH comparativement avec résultats de **Kaid (2021)**. On outre, nous remarquons que l'humidité est

diminuée, au profil de l'augmentation de taux des cendres et de l'acidité. Cela peut indiquer que le miel a subi des changements durant ces «3 ans» de conservation, cependant ces valeurs restent toujours dans les normes et n'ont pas témoigné d'une altération. Il est évident que la perte d'eau provoque l'augmentation de la matière sèche y compris les molécules organiques acides et les sels minéraux ce qui explique l'augmentation de l'acidité de miel et cendre.

IV.1.2. Quantification des composés phénoliques du ME

Les résultats obtenus des teneurs en polyphénols totaux (PT) oscillent entre 0,0158 et 0,0161 mg EAG/100g avec une moyenne de 0,01602 mg EAG/100g. Cependant, des échantillons appartenant au même miel (ME) ont été analysés en Portugal 2020, ont montré des valeurs variant entre 1,2 et 1,4 (mg GAE/100 g) (**Kaid, 2021**). Cela témoigne que la teneur en (PT) est affectée par la durée de stockage.

Néanmoins, la teneur en (PT) dans le miel est variée d'un miel à un autre voir même d'une région à une autre, ou bien dans la même région mais diffère d'une année de récolte à une autre. Les résultats obtenus par **Homrani, (2020)** confirment notre opinion, en effet, les miels de la région du Béchar présentent une teneur moyenne en (PT) de 20,890 vs 182,267±0,37 mg EAG/100 g dans région de M'sila, respectivement.

Selon la littérature, les teneurs du miel en (PT) est fortement influencés par l'origine florale, la localisation géographique et le climat (**Kek et al., 2014**) et aussi la durée de stockage.

IV.1.3. Quantification des flavonoïdes du ME

La valeur moyenne obtenue, au cours de ce travail, des flavonoïdes totaux (FT) du (ME) est de 0,870 mg EC/100 g (**Tableau 12**), avec une teneur minimale de 0,77±0,01 mg EC/100 g et une teneur maximale de 1,14 mg EC/100g. Ces valeurs sont presque similaires à celles trouvées par **Luis A (2018)** sur le miel d'eucalyptus de la région andine de l'Équateur, ainsi que **Ouchemoukh (2012)** dans les miels algériens, avec des concentrations allant de 0,47±0,06 à 3,61±0,06 mg EC/100g et de 0,30 à 35,61 mg EC/100g, respectivement. Cependant, elles sont inférieures à celles trouvées par **Ahmed (2014)**, avec une concentration de 5,41 à 21,77 mg EC/100g, et supérieur à celles trouvée par **Kaid (2021)** avec une concentration de 0,06 mg EQ/g de même ME que nous avons analysé.

Selon **Turksitha et al., (2018)**, la composition en flavonoïdes des miels varie en fonction des espèces de l'abeille productrice de miels. Tout comme les polyphénols totaux, cette

variation peut être également due à l'origine florale et à la situation géographique (Mouhoubi Tafinine *et al.*, 2016).

Les flavonoïdes font partie du groupe les plus important des polyphénols totaux (Pontis *et al.*, 2014). Ce sont les pigments responsables de la coloration des végétaux (Hadri, 2015). Certains flavonoïdes tels que kaempferol, Quercétine, lutéoline sont présents dans la majorité des miels. D'autre, en revanche, tels que l'hesperitine et la naringénine ne se trouvent que dans quelques variétés de miels (Petrus *et al.*, 2011 ; Erejuwa *et al.*, 2012).

Tableau 12 : Teneur en polyphénol et flavonoïdes totaux du miel eucalyptus

Miel eucalyptus	Dosage de polyphénol mg EAG/100g	Dosage de flavonoïde mg EC/100 g
Moyenne	0,016025	0,870

IV.1.4. Activité antioxydante du ME

a. DPPH

Les résultats de l'effet antioxydant de miel eucalyptus analysé, réalisée par l'évaluation de leur activité antiradicalaire en utilisant la méthode de piégeage du radical libre et exprimés en% RSA (Radical Scavenging Activity) sont illustré dans la (Figure 13).

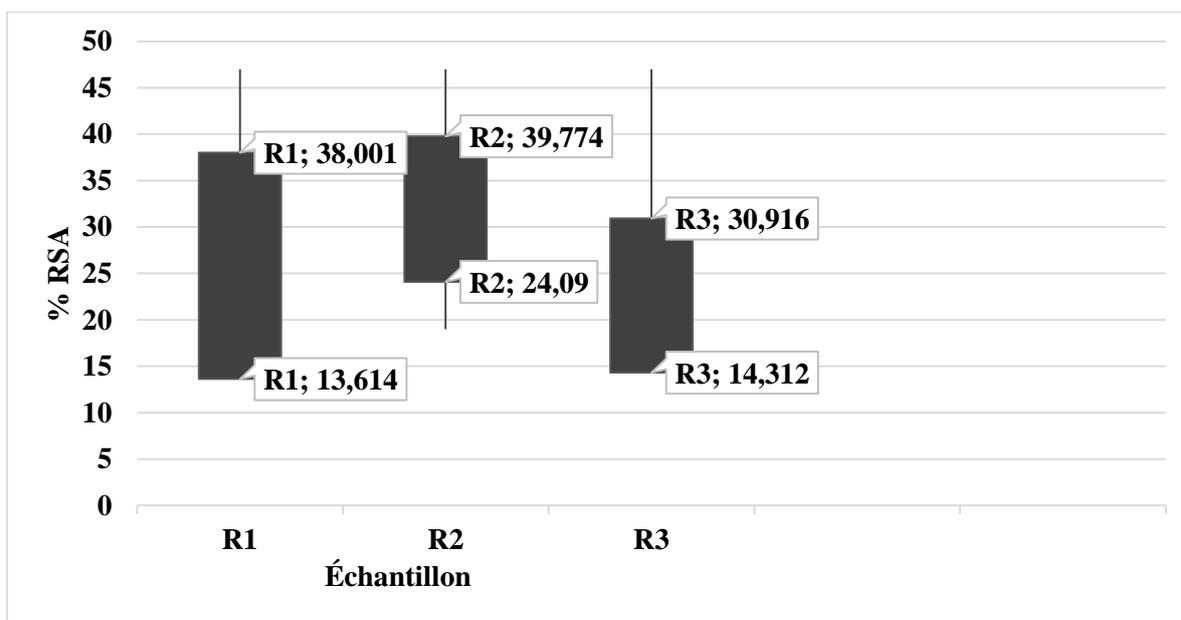


Figure 13 : Variation du pouvoir antioxydant de miel eucalyptus analysé

D'après les données obtenues, le miel eucalyptus étudié présente une activité antioxydante. Cependant, la puissance de cette activité varie considérablement d'un échantillon à un autre.

Ainsi, la valeur moyenne du pouvoir antiradicalaire de miel eucalyptus étudié est de 28,7569% varie entre 13,614 et 39,774 %. Selon l'étude réalisée par **Houmrani (2020)** sur ME présente l'activité antiradicalaire de $(43,71 \pm 5,04\%)$. Ensuite, l'étude réalisée par **Bouyahya et al., (2017)**, sur des miels Marocains, indique des pourcentages d'inhibition compris entre 36,38 et 61,94%. Selon **Džugan et al., (2018)**, l'activité du piégeage des radicaux libres des miels polonais dilués à 20% (p/v) est de $21,81 \pm 3,15\%$, tandis que celle des miels de toutes fleurs est de $39,89 \pm 15,08\%$.

La concentration inhibitrice à 50% ou IC₅₀ (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient Concentration 50%) exprimé en mg/ml qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres a été calculée graphiquement par les régressions linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des miels testés. Les résultats obtenus des IC₅₀ sont présentés dans la (**Figure 14**).

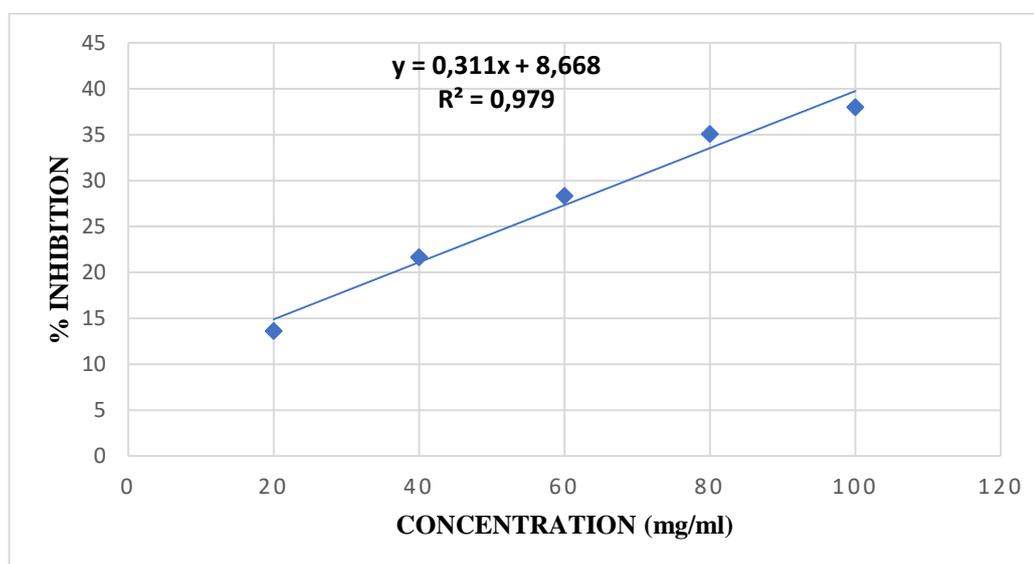


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition de miel *Eucalyptus*

Les données montrent que les IC₅₀ sont inversement proportionnelles aux pourcentages de piégeage des radicaux libres et donc plus l'IC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante du miel est élevée. Ces observations ont été apportées par plusieurs auteurs (**Boussaid et al., 2014 ; Sarwar et al., 2015 ; Seijo-Rodríguez, 2017**). La valeur moyenne de l'IC₅₀ de nos

échantillons est de 152,727 mg/ml, avec un maximum de 169,088 mg/ml et un minimum de 132,9 mg/ml. La valeur moyenne de l'IC50 du même miel obtenu par **Kaid (2021)** est de 0.02 ± 0.00 mg/ml. Autre étude réalisé par **Homrani (2020)** sur miel algérien montre une valeur moyenne de l'IC50 des échantillons est de $18,78 \pm 10,46$ mg/ml, avec un maximum de 49,28 mg/ml et un minimum de 6,28 mg/ml. Tous ces résultats de la littérature sont plus inférieurs à la valeur moyenne de nos résultats, cela est expliqué par l'effet de conservation à longue durée. Le miel perd une grande partie de sa puissance antioxydante avec le temps, plusieurs facteurs peuvent agir sur cette propriété citons essentiellement le vieillissement du miel, la température, la lumière, etc.

L'activité de piégeage des radicaux d'échantillon de miel testé varie en fonction du miel, en raison de la complexité de la composition chimique qui dépend de l'origine florale, des facteurs environnementaux et des conditions de stockage (**Vinson et al., 1995**). L'activité antiradicalaire, antioxydante et la teneur en composés phénoliques du miel est fortement affectées par les sources florales (**Sagdic et al., 2013**). De nombreux auteurs ont démontré que le miel est une source d'antioxydants naturels, qui sont efficaces pour réduire le risque de maladies cardiaques, de cancer, de faiblesse du système immunitaire et des différents processus inflammatoires (**Gheldof et al., 2002**). Dans le miel, les composants responsables de l'effet antioxydant sont les flavonoïdes et les acides phénoliques. La quantité de ces composants varie largement en fonction de l'origine florale et géographique du miel. En outre, la transformation, la manutention et le stockage du miel peuvent influencer sur sa composition (**Gheldof et al., 2002**). Plusieurs études ont montré que l'activité antioxydante est fortement corrélée avec le contenu des composés phénoliques totaux. À côté de cela, une forte corrélation a été trouvée entre l'activité antioxydante et la couleur du miel (**Al-Mamary et al., 2002 ; Beretta et al., (2005)**).

Tableau 13: IC50 et FRAP de l'échantillon du miel analysé

Échantillon	DPPH IC ₅₀ (mg/ ml)	FRAP (BHT en mg/ ml)
R1	132,900	0,02332
R2	156,192	0,01511
R3	169,088	0,17026
Moyenne	152,727	0,01848

b. FRAP

Les résultats de l'activité antioxydante dosée par le test de FRAP des échantillons étudiés sont représentés dans le (**Tableau 13**). Les valeurs d'activité antioxydante de miel étudié varie entre 0,00624 à 0,0359 mg/ml, avec une moyenne de 0,0184 mg/ml. Ces résultats sont presque similaires à celle trouvée par **Bakchiche et al., (2017)** sur quatre variétés de miels locaux Algérie (Laghout, Hassi R'mel, Ellassafia, Ksar Elhيران) qui varie entre 0,032 à 0,056 VCEAC en mg/ ml (Vitamine C équivalent acide gallique).

D'après **Bakchiche et al., (2017)**, l'activité antioxydante des différents échantillons de miel dépend principalement de la source florale de miel. Cependant, ils ont suggéré que l'espèce botanique est la principale source de miel, mais n'est pas le seul facteur qui contribue à ses propriétés antioxydantes. Les différences de l'activité antioxydante peuvent être attribuées à la présence de différents composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, et d'autres composés phénoliques qui ont différents effets antioxydants.

IV.2. Caractéristiques organoleptiques de l'HEE

Les résultats des caractéristiques organoleptiques de l'HEE analysée sont représentés dans le (Tableau 14) :

Tableau 14 : Caractéristiques organoleptiques d'HEE analysée

	HE eucalyptus	AFNOR (2000)
Aspect	Limpide	Liquide mobile limpide
Couleur	Jaune pâle	incolore à jaune pâle
Odeur	Forte, désagréable	/

IV.3. Caractéristiques physicochimiques de L'HEE

IV.3.1. Densité

La densité est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume. La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est définie comme le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. La densité moyenne de (HEE) est de 0,9634 avec un minimum de 0,89 et un maximum de 1,0034. Ces résultats sont conformes à la norme AFNOR (NF T-75-006, 2000).

Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction. La détermination de la densité des huiles essentielles des plantes médicinales est très importante pour évaluer la qualité des huiles dans différents domaines de la vie (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, chimique, etc.) (Boughendjioua, 2015).

IV.3.2. Indice d'acide (IA)

Cet indice (IA) est de moyenne de 2,2443 mg dans nos échantillons de (HEE) analysé qui varie entre 1,9635 et 2,5245 mg. Ces observations sont incluses dans la fourchette normale fixée par AFNOR (0,84-3,74 mg). Un (IA) inférieur à 2 indique que l'HE est bien conservé selon (Boukhatem *et al.*, 2010).

IV.3.3. pH

Le pH de l'HEE est de l'ordre de 6. Les résultats montrent que cette huile a un pH relativement neutre ce qui nous permet de dire que le taux d'acidité est relatif avec le potentiel d'hydrogène. En outre, plus le pH est élevé plus le taux d'acidité est faible.

Tableau 15: Récapitulatif les caractéristiques d'HEE.

Propriété	Valeur Pratique	AFNOR(2000)
Densité (kg/l)	0,963425	0,905-0,921
Indice d'acide (mg)	2,2443	0,84-3,74
pH	6	4-6

IV.4. Activité Antioxydante d'HEE

IV.4.1. DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire d'HEE exprimés en pourcentage sont illustrés par la figure ci-dessous :

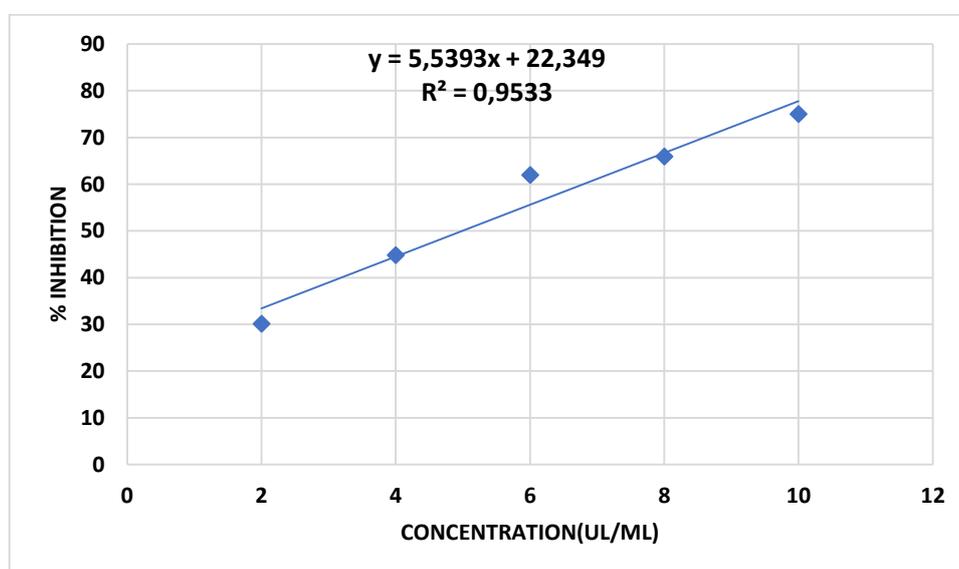


Figure 15 : *Activité anti radicalaire (DPPH) d'HEE*

Les pourcentages d'inhibition notés pour HEE varient de 25,218 à 75%, ces résultats sont supérieurs à celle trouvé par **Zakia (2014)** sur HEE de feuille et fruit qui présent un pourcentage d'inhibition varie de (11,72 à 60,63%) et (22,35 à 63,73%) respectivement.

Les résultats de notre étude montrent des valeurs des IC50 variant de 4,991 à 6,884 µg/ml plus importantes que celle de **Zakia (2014)** qui est de 27,0413 et 33,3290 µg/ml pour HEE de fruits et feuille respectivement. Selon **Martins et al., (2014)**, le faible taux d'inhibition du radical DPPH pourrait être attribué à l'inefficacité des composés monocarbonés. D'après **Ruberto & Baratta, (2000)** citée dans **Martins et al. (2014)**, les monoterpènes suivant : α pinene, β pinene, limonène, β myrcene, sabinene et terpinolene ont des propriétés antioxydantes, mais certains d'entre eux peuvent montrer une activité faible dépendante du mécanisme utilisé dans la réaction.

Les HEs comprennent plusieurs composés, chacun d'entre eux contribue à leurs activités biologiques. Une activité antioxydante modérée du terpinène et ses dérivés a été citée dans la littérature, par contre le pinene et le cymene possèdent une activité relativement non significative. Par ailleurs, une forte activité antioxydante des HEs est attribuée à leurs groupements phénoliques comme le thymol, le carvacrol et probablement aux 1,8 cineole (**Jubril Olayinka et al., 2012**).

IV.4.2. FRAP

La **Figure 16** montre que le pouvoir réducteur est fonction de la concentration. Dans ce test la couleur jaune de la solution a viré au bleu vert selon le pouvoir réducteur de HEs. La présence de molécules réductrices induit la conversion du fer ferrique en fer ferreux (**Zakia, 2014**).

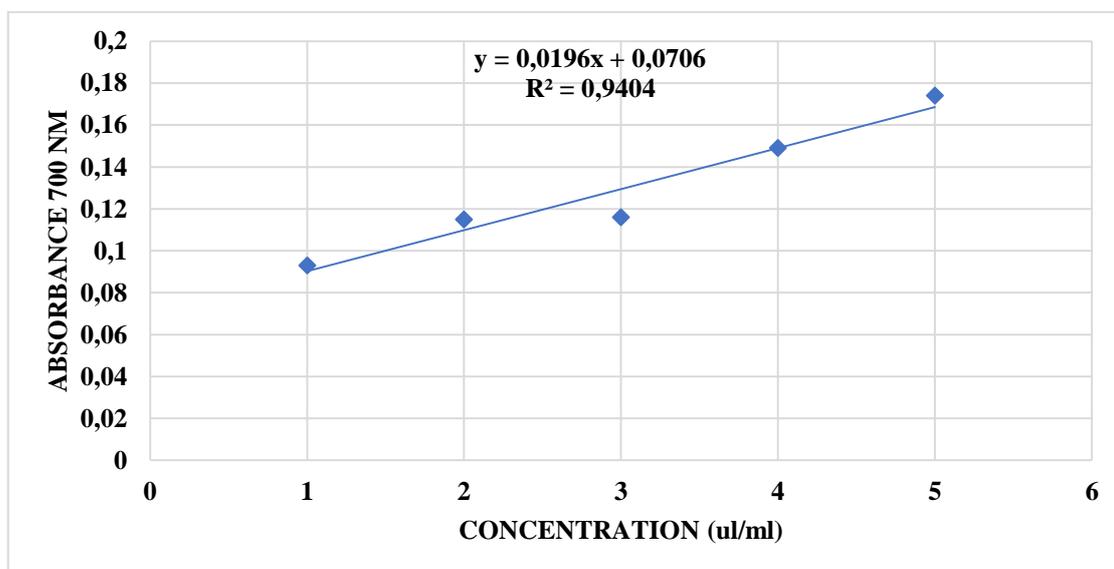


Figure 16 : Pouvoir réducteur du HEE

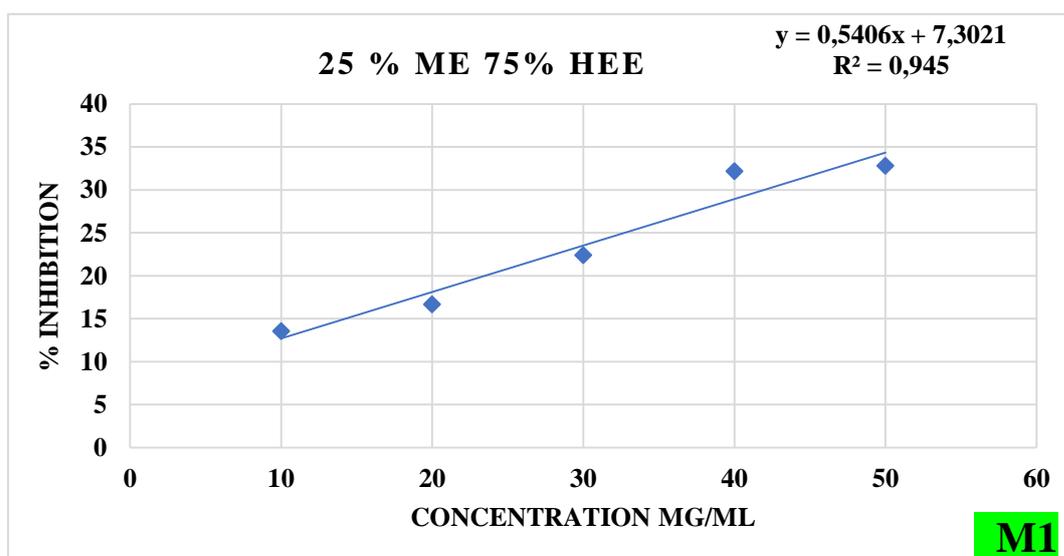
L'huile essentielle eucalyptus étudiée présente une activité antioxydante, dont la valeur d'IC₅₀ est de 21,359 mg/ml, ces valeurs sont inférieures à celle trouvée par **ZAKIA (2014)** sur HEE de fruit et de feuilles qui présentent un IC₅₀ de 32,862±1,841 et 115,393 ± 1,453 mg/ml respectivement. Les résultats montrent clairement que notre HEE possède un pouvoir antioxydant supérieur à celui de **ZAKIA (2014)**.

L'activité antioxydante d'une HE est tributaire de plusieurs paramètres tels que : les facteurs génétiques, phase de développement, et environnement, La saison de la récolte (**Neffati et al., 2009**), les composés majoritaires, qui doivent être pris en considération, car il existe une interaction entre les différents constituants qui affectent les activités biologiques des HEs (**Zakia, 2014**), ainsi que la présence des structures phénoliques dans ces derniers (**Geethalakshmi et al., 2013**). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques : le tinalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol., le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes : α-terpinène, γ-terpinène et α-terpinolène.

IV.5. L'activité antioxydante de la mixture

IV.5.1. DPPH

Les résultats de l'effet antioxydant de la mixture entre le ME et HEE avec des pourcentages différents sont présentés dans la (**Figure 17**).



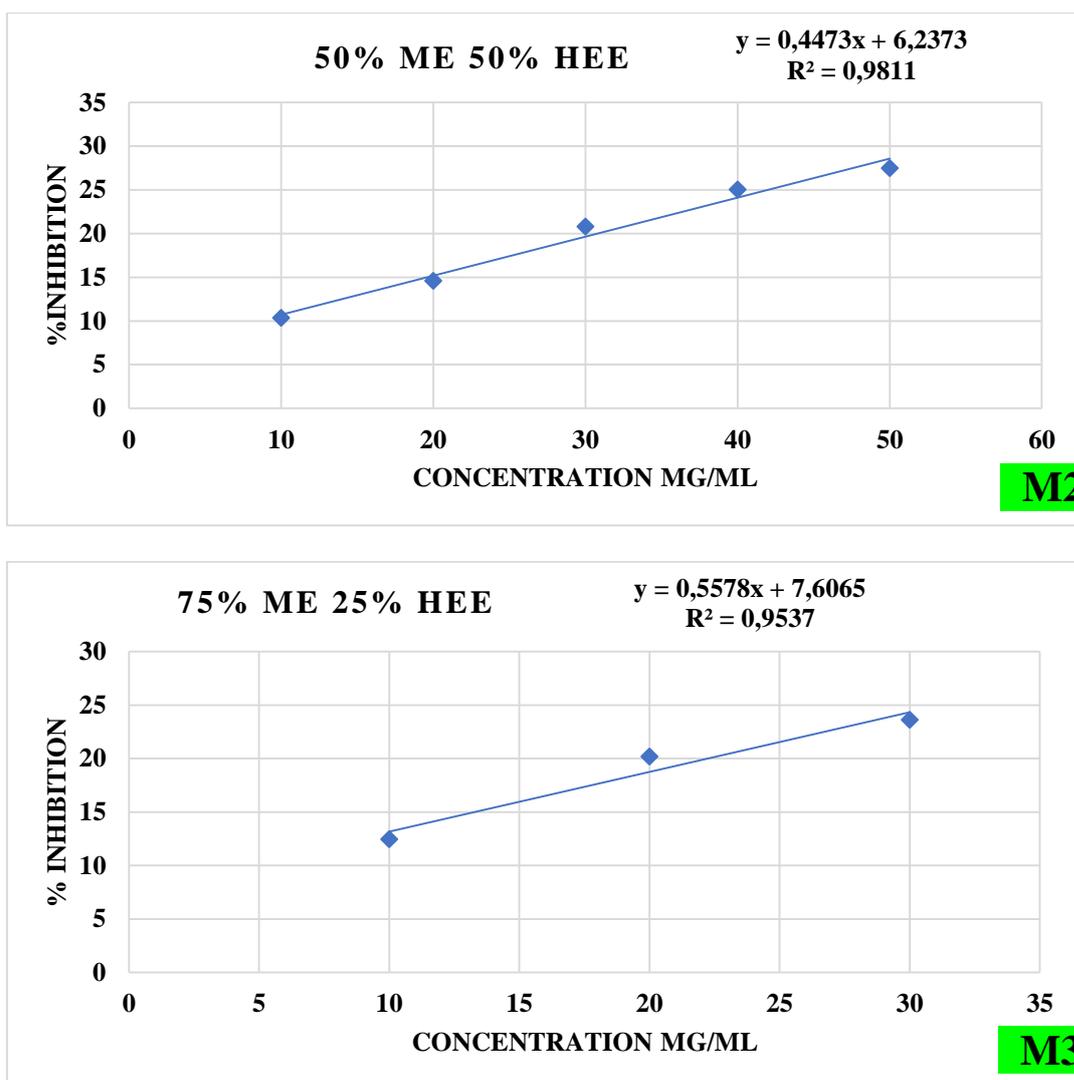


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydant de la mixture (M1, M2 et M3)

Sur la base des résultats obtenus, la mixture entre ME et HEE présentes une activité antioxydante qui diffère d'un pourcentage à l'autre. Les pourcentages d'inhibitions de la mixture M1 varient entre 4,261 à 32,812%, tandis que M2 présentes un pourcentage d'inhibition qui varie entre 3,965 à 27,484% et pour M3 présente un pourcentage qui varie entre 6,955 à 23,630%, avec une moyenne de (18,631%), (16,573%) et (15,865%) respectivement.

Les résultats de notre étude montrent des valeurs des IC50 de 94,581 mg/ml, 99,064 mg/ml et 98,227 mg/ml pour M1, M2 et M3 respectivement. Ces valeurs sont pratiquement similaires, et les pourcentages utilisés n'influent pas significativement sur l'activité antioxydante.

Tableau 16 : Concentration inhibitrice IC50 des mélanges

Mixture	DPPH (IC50 mg/ml)
M1	94,581
M2	99,064
M3	98,227

Conclusion & Perspectives

Conclusion

Le miel est de plus en plus étudié pour ces effets nutritifs et thérapeutiques dans le monde. La présente étude a permis de donner des informations pertinentes sur les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de miel *Eucalyptus*.

L'analyse des paramètres physico-chimiques est un bon critère de qualité du miel, souvent utilisé dans la routine de contrôle. Elles dépendent de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche, les facteurs climatiques, l'origine botanique, et l'espèce d'abeille.

Notre intérêt s'est orienté aussi vers l'activité antioxydante du miel dans le cadre de la recherche de nouveaux antioxydants d'origine naturelle, afin d'épargner l'utilisation des antioxydants synthétiques dont certains d'entre eux peuvent être toxiques. Cette importante activité à la fois antimicrobienne et antioxydante est due principalement aux polyphénols.

Le miel *Eucalyptus* analysé est caractérisé par un taux faible en composés phénoliques, ce qui explique un effet antioxydant moins puissant. La perte de son pouvoir antioxydant est liée principalement à longue durée de stockage.

Dans l'autre côté des produits naturels d'origines végétales, les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus*, est l'une de ces produits naturels à usage médicinale. Cette huile est marquée par une odeur très forte. Ces caractéristiques physicochimiques telles que la densité, d'acidité et le pH sont conforme aux exigences de la norme AFNOR. Cette huile est douée d'une activité antioxydante très puissante. Nous permettons de le recommandé autant qu'un agent antioxydant et conservateur très prometteur pour l'industrie alimentaire capable d'empêcher l'oxydation des aliments et de réduire la croissance microbienne responsable de l'altération des denrées alimentaires.

L'idée de mélanger deux ou plusieurs produits naturels pour renforcer l'activité antioxydante de l'un des autres est nécessite une attention particulière. En effet, l'obtention d'un pouvoir antioxydant de mélange supérieur aux chaque produit séparé peut favorise l'efficacité de ces produits naturels et réduit l'usage simultané de plusieurs antioxydants.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Achour, H., Khali, M. (2014).** Composition physico-chimique des miels algériens : Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Sci.* 10 : 127 – 136.
- **Acqarone C., Buera P., and Elizalde B. (2007).** Pattern of PH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chem.* 101: 695-703.
- **AFNOR, 2000.** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6ième édition, Paris.
- **Ahmed, M. (2014).** Caractérisation, Propriétés Physico-chimiques, Qualités Microbiologiques et Valeur Thérapeutique de Quelques Miels de l’ouest Algérien. Thèse de Doctorat de Laboratoire de pharmacognosie et Api-phytothérapie. Université ABDELHAMID IBN BADIS - Mostaganem p 2-99.
- **Aidi Wannas W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jmia M., Ouchikh O., Hamdaoni G., Kchouk M.E. and Marzouk B. (2010).** Antioxidant Activities of the Essential Oils and Methanol Extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) Leaf, Stem and Flower. *Food Chem Toxicol.* 48 (5): 1362-1370.
- **Al ML, Daniel D, Moise A, Bobis O, Laslo L et Bogdanov S. (2009).** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chem.* 112, 863-867.
- **Al-Mamary M., Al-Meeri A., Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22:1041-1047.
- **ALVAREZ L.M., (2010)** - Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p.
- **Amellal H. (2008).** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes: formulation d’un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en Technologie Alimentaire. Université M’hamed Bouguera. Boumerdes. 127p.
- **Amira OUIBRAHIM, Yasmina TLILI-AIT KAKI, Salima BENNADJA, Roukaya MANSOURI, Sabrina AIT KAKI, Samiha KHBIZI et Mohamed-Reda DJEBAR, (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l’huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d’El Kala (Nord–Est Algérien), *Algerian J. Nat. Products*, 3:3 209-216.
- **Amorati, R., Foti, M.C. et Valgimigli, L. (2013).** Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of agricultural and food chemistry.* Vol n° 61. American chemical society. P : 10835–10847.

- **Amrouche L., et Kessi L. (2003).** Étude de la qualité physico-chimique de quelques miels. Mémoire Ingénieur, USTHB Alger. 49 p.
- **Anand, J., Sun, Y., Zhao Y., Nitiss, K.C., Nitiss J.L. (2018).** Detection of Topoisomerase Covalent Complexes in Eukaryotic Cells. *Methods Mol Bio.* 1703 :283-299
- **ANON. (1995)** .Manuel alimentaire suisse, Chapitre 23 A, Miel.Eidgenössische Druck und Materialzentrale Bern.
- **Anton R. (2018).** Chevallier V, Faucon M, Guillemin E, Hilpiper C. Aromathérapie scientifique : préconisations pour la pratique clinique, l’enseignement et la recherche, argumentaire version longue. 177 p.
- **Anton, Robert., Bernard, Martine. et Wichtl , Max,(2003).** Plantes 99 thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Paris%: Cachan, France : Editions Tech & Doc%; Editions médicales internationales.
- **AOAC., (1990)** - Official Methods of Analysis. 1 5th Ed. In Helrich.www.docteurabeille.com.
- **Augustyniak, A., Bartosz, G., Cipak, A., Duburs, G., Horáková, L., Luczaj, W., Majekova, M., Odysseos, A.D., Rackova, L., Skrzydlewska, E., Stefek, M., Strosová, M., Tirzitis, G., Venskutonis, P.R., Viskupicova, J., Vraha, P.S., Zarković, N. (2010).** Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, 44 : 1216-1262.
- **Avisse, I. (2014).** **Grand traité des miels, Editions Le Sureau, 344p.** **Azeredo, L.D.C., Azeredo, M.A.A., De Souza, S.R., Dutra, V.M.L. 2003.** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80 : 249–254.
- **Azeredo L. D. C., Azeredo M. A. A., De Souza S. R. and Dutra V. M. L. (2003).** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80: 249–254.
- **B. BAKCHICHE, M. HABATI, A. BENMEBAREK, A. GHERIB. (2017).** Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* (2018) 6 (1):118-123.
- **BADREN M.A. (2016)** .La situation de l’apiculture en Algérie et les perspectives de développement.26p
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *.ArzneimlForsch /Drug Research*, 46(11) : 10861089p.

- **Barkat, M. & Imène, L. (2011).** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Revue de génie industriel*, 6 : 46-54.
- **Bath P K et Singh N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chem.* 67, 389-397.
- **Baudoux D. (2002).** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, volume 1 : pédiatrie. Amyris. 304 p.
- **Bazoche, M. (2011).** «Les produits de la ruche». Edition GFA. Paris, 159 p.
- **Belaiche P. (1979).** Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome 1: l'Aromatogramme. Ed. Maloine S. A., Paris, 201p.
- **Belhaj, O., Oumato, J., Zrira, S. (2015).** Etude physico-chimiques de quelques types de miels marocains. *Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc.*3(3): 71-75
- **Benzie I.F., Strain J.J., (1996).**- The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry.* 239: 1:70-76.
- **Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M. Orioli, M., Facino, R M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica chimica,* 533:185–191.
- **Bettar, S., Gonzalez-Miret L.M., Hernanz, D., Marconi, A, Heredia F.G., Terrab, A. (2015).** Characterisation of maroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physico-chemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry.* <https://doi:10.1016/j.arabjc.2015.01.003>
- **Bharti P, Bai S, Seasotiya L, Malik A et Dalal S(2012).**Antibacterial activity and Chemical Composition of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against selected Bacteria *International Journal of Drug Development & Research.* Vol. 4 . Issue 4. ISSN 0975-9344.
- **BLANC M., (2010)** - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- **Bogdanov S, Bieri K, Figar M et al. (1995)** Kapitel 23 Bienenprodukte: 23A Honig. *Schweiz.Lebensmittelbuch* (11).
- **Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R et al. (2006).** Honey for nutrition and health: A review. *Am. J. Coll. Nutr.,* 27: 677-689.
- **BOGDANOV S., BIERI K., GREMAUD G., IFF D., KANZIG A., SEILER K., STOCKLI H. et ZURCHER K., (2003)** - Produits Apicoles. 23 A Miel, 1-37.

- **Bogdanov S., Lullman C., et Martin P. (1999).** Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la Commission Internationale du miel. *Bee world* 80:61-69.
- **Bogdanov S., Ruoff K., and Persano L. (2004).** Physico-chemical methods for characterization of unifloral honeys: a review. *Apidologie* 35:4-17.
- **BOGDANOV, S et al. (1999)** Honey quality and international regulatory standards: review of the work of the International Honey Commission. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 90(1): 108–125.
- **Bogdanov, S. (2009).** Harmonised methods of the international honey commission. International Honey Commission. Retrieved from <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>.
- **Bogdanov, S., Imdorf, A., Charrière, J.D., Fluri, P., Kilchenmann. (2003).** Qualité des produits apicoles et sources de contamination. Centre suisse de recherches apicoles. 12P.
- **Bogdanov, S., Lullmann, C., Martin P. (2001).** Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la commission internationale du miel. *Abeille Cie N°71-4.1* 2p.
- **Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (1997).** Harmonized methods of the European Honey Commission. *Apidologie Extra Issue*, 1–59.
- **Bogdanov, S; Ruoff, K; Persano Oddo, L .(2004).** Méthodes physico-chimiques pour la caractérisation des miels unifloraux : un bilan. *Apidologie* 35 (numéro spécial) : 4-17.
- **Bogdanov, S. Tomislav, J. Sieber, R. Gallmann, P. (2008).** «Honey for Nutrition and Health». *American Journal of the College of Nutrition*, vol. 27, p. 677-689.
- **Bogdanov, S. (2003).** miel. *Apidologie*. 23(A) :1-31.
- **Bonte F, Desmouliere A. (2013).** Honey: origin and composition. *pharmaceutiques* 52 . 531 , p. 18-21.
- **Boughendjioua H. (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Citrus limon.
- **Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F., Hakim Y. (2010).** Extraction, composition et propriété physico-chimique de l'huile essentielle du Géranium rosa (*Pelargonium graveolens* L) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Revue « Nature et Technologie »* 3 : 37-45p.
- **Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A. et Mekarnia, M. (2017).** Eucalyptus globules (Labill) : un arbre à essence aux mille vertus. Lavoisier SAS. Doi : <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3>.

- **Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig L., Hellal R., Donsi F., Ferrari G., Hamdi S., (2014).** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. Arab. J. Chem. 11(2): 265–274.
- **Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touvs. A., Lagrouh. F., Dakka, N., Barki, Y. (2017).** Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. Phytothérapie, 1-5.
- **BRADBEAR N., (2005)** - Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.
- **Brand-Williams, Cuvelier ME, Berset CLWT. (1995).** Utilisation d'une méthode radicalaire pour évaluer l'activité antioxydante. LWT-Food Science and Technology; 28(1):25-30.
- **Bruneau E. (2002).** Le miel. In «Le Traité Rustica de l'Apiculture». Edition Rustica, p: 354-364.
- **BRUNEAU E. (2009).** Chapitre IX: Les produits de la ruche in Clément H. et al. Le Traité Rustica de l'apiculture Edition Rustica, Paris, 354-387.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier 3ème édition, Paris, 1120p.
- **Buba, F., Gidado, A., Shugaba, A. (2013).** Analysis of biochemical composition of honeysamples from North-East Nigeria. Biochem Anal Biochem. 2 (3), 139.
- **Burt, S., (2004).** Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods– A Review, International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- **Chataway, H.D. (1932).** The determination of moisture in honey. The Canadian Journal of Research. 6(5) : 532-547.
- **Chen HY, Lin YC, Hsieh CL (2007)** Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. Food Chem 104: 1418-1424.
- **Chouia, A., (2014).** Analyses polliniques et caractérisation des composées phénoliques du miel naturel de la région d'Ain Zaâtout. Thèse de doctorat en Biologie Université de Biskra, 102 p.7
- **Chua, L.S., Norul, L. Rahaman, A., Nur A.A., Ti Tjih E.T., (2013).** Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 8 ID 313798.
- **Cimpoi C, Hosu A, Miclaus V et Anitta Puscas. (2013).** Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. Spectrochim. Acta. 100, 149– 154.
- **CLÉMENT. HENRI (2009).** L'abeille, sentinelle de l'environnement. Edition Alternatives, 33 Rue SAINT-ANDRÉ-DES-ARTS 75006 Paris.

- **Codex Alimentarius, (2001)**- Programme Mixte Fao/Oms Sur Les Normes Alimentaires. Commission du Codex Alimentarius. ALINORM. 31p.
- **Codex Alimentarius, (2001)**. Commission Standards, Codex Standards for Honey, (1981/ revised1987/revised 2001), FAO– Rome, 2001, 1-7.
- **Cohen D. (2013)**. les huiles essentielles à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier de Grenoble. p 6,7.
- **Cometto, P. M., Faye, P. F., Caccavari, M., Baroni, M. V., and Aldao, M. A. (2006)**. Relationship between interannual variation of amino acid profile and pollen content in honey from a small Argentinian region. *J Agric Food Chem* 54, 9458-64.
- **Commission European. (2001)**. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. Retrieved from <http://www.ihc-platform.net/honeydirective2001.pdf>.
- **Communautés Européennes. (2002)**. Journal officiel des Communautés européennes (2002). Directive 2001/110/CE relative au miel : 47-52.
- **Cordella, C., Militao, J.S.L.T., Clément, M.C., Cabrol-Bass, D. (2003)**. Honey characterization and adulteration detection by pattern recognition applied on HPAEC-PAD profiles. 1. Honey floral species characterization. *J. Agric. Food Chem.* 51 : 3234–3242.
- **Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., and Grenier-Loustalot, M. F. (2004a)**. Chromatographic analysis of sugars applied to the characterisation of monofloral honey. *Anal Bioanal Chem* 380, 698-705.
- **Cotte, J.F, Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., Grenier-Loustalot, M.F.(2003)**. Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity.*J. Chrom. A*, 1021 : 145–155.
- **Da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira-Costa, A.C., Fett R. (2016)**. Honey : Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Food Chemistry.* 196 : 309–323.
- **De-Melo, A. A. M., Almeida-Muradian, L. B., Sancho, M. T., & Pascual-Mate, A. (2017)**. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5–37. doi:10.1080/00218839.2017.1338444.
- **Deschamps, V C. (1998)**. Production et commercialisation du miel, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 118 p.
- **Dimitrova, B, Gevrenova, R, Anklam, E., (2007)**. Analysis of phenolicacids in honeys of different floral origin by solid-pase extraction and high-performance liquid chromatography. *Phytochem Anal.* 8 (1) : 24–32.
- **Donadieu Y., (1978)** - Le miel thérapeutique. 2ème Ed Maloine S.A .Paris.28 p.

- **DONADIEU Y., (2008)** - Les Produits De La Ruche. Thérapeutiques naturelles. Edit, Maloine S. A, Paris.
- **DONER, LW. (1977)** Les sucres du miel - une revue. *Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture* 28 : 443- 456.
- **Doukani, K., Tabak, S., Derrriche, A., Hacini, Z. (2014).** Étude physico-chimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* 10: 37-49.
- **DUISBERG, H; HADORN, H (1966)** Welche Anforderungen sind an Handelshonige zu stellen? *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 57: 386–407.
- **Duval L. (2012).** Les Huiles Essentielles à l’Officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Rouen, France, 155p.
- **Dżugan, M., Tomczyk ,M., Sowa P., Grabek-Lejko ,D., (2018).** Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23, 2069.
- **Edris A. E. (2007).** Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and their Individual Volatile Constituents. A Review, *Phytother Res.* 21 (4): 308-323.
- **El abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M N., Ben Hadj A S. (2014).** Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. *International journal of pharmaceutical research and bio-science* 3(4) : 770-789.
- **El-Sohaimy, S.A. Masry, Sh.D. Shehata, M.G. (2015).** « Physicochemical characteristics of honey from different origins». *Annal of Agricultural Sciences*, vol.60, n°2, p. 279-287. (Science directe).
- **EMMANUELLE H., JULIE C. et LAURENT G., (1996)** - Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.
- **Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A., Wahab, M.S. (2012).** Honey - A Novel Antidiabetic Agent. *International Journal of Biological Sciences.* 8 (6) : 913-934.
- **F Tessier, P Marconnet.(1994).** Laboratoire de biomécanique et biologie de l’exercice, Faculté’ des sciences du sport, université’ de Nice Sophia Antipolis, 155, route de Grenoble, 06200 Nice, France.
- **FAOSTAT. (2018).** Production quantity of honey (natural) in 2017, *LivestockPrimary/World Regions/Production Quantityfrompicklists"*. United Nations, Food and Agriculture Organization, Statistics Division (FAOSTAT). 2018. Retrieved 18 March 2019.
- **Faucon M. (2012).** *Traité d’aromathérapie scientifique et médicale. Sang de la terre.* 880p.

- **Fechner, D.C., Mores, A.L., Riuz Díaz, J.D., Pellerano, R.G., Vazquez, F.A., (2016).** Multivariate classification of honeys from Carrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. *Food Biosci.* 15 : 49–54.
- **Fernandez X. (2012).** Chemat F. La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert. 288p.
- **Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Tomas-Lorente, F., and Tomas-Barberan, F. A. (1993).** Hesperetin: A marker of the floral origin of citrus honeys. *Journal of science and food Agriculture* 61, 121-123.
- **Finola M S., Lassagno M C. and Marioli J.M. (2007).** Microbiological and chemical characterisation of honeys from central Argentina. *Food Chem.* 100:1649-165
- **FIORI, J; SERRA, G; SABATINI, AG ; ZUCCHI, P; BARBATTINI, R; GAZZIOLA, F (2000).** Dextrines Analyse HPLC dans le miellat de *Metcalfa pruinosa* (Say). *Industrie Alimentaire* 39 (391): 463-466.
- **Foggie , W. E. (1991)** Eucalyptus Oil Poisoning. *British Medical Journal.* 1(2616) :359-360.
- **Franchomme P. (2001).** Pénéol D. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois. 445p.
- **Garnier M, Delamarre V.** Dictionnaire des termes de médecine. Paris, Éditions Maloine, 27e édition, 2002, 1095 pages.
- **Geethalakshmi R.; Sarada D.V.L (2013).** Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Trianthema decandra* L. *Journal of pharmacy research* 6- 101 -1060.
- **Genot, C., Eymard, S., Viau, M. (2004).** Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? *Oléagineux, corps gras, lipides.* 11(2) :133- 141.
- **Gheldof N., Wang H. et Engeseth N., (2002).** Identification et quantification de composés Antioxydants de miels provenant de diverses sources florales. *Journal de la chimie agricole et alimentaire,* 50:5870-5877.
- **Gheldof, N., Engeset, H. (2002).** Capacité antioxydante des miels de diverses sources florales basée sur la détermination de la capacité d'absorption des radicaux d'oxygène et l'inhibition de l'oxydation in vitro des lipoprotéines dans des échantillons de sérum humain. *J Agric Food Chem.* 50 (10) : 3050-3055.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A. M. (2001).** Le Préparateur en Pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec et Doc, Paris, 273p.

- **GONNET M. & VACHE G. (1998).** Analyse sensorielle et description de quelques miels monofloraux de France et d'Europe. Editions Abeille de France, Paris, 85p.
- **Gonnet M. (1982).** Le miel : composition, propriété, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture ,1982 :1-18.
- **Gonnet M., (1982).** Le miel : composition, propriétés, conservation. Ed. Echauffour. Argentan. Ornes. 9-12 pp.
- **Grosjean N.** Aromathérapie 2 : des huiles essentielles pour votre santé. Éditions Graveson. La Chevêche association
- **Guide pratique :** les 46 huiles essentielles. Laboratoires Phytosun Arômes. 38 pages, 2006.
- **Guignard J. L. (2000).** Biochimie Végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, 274 p.
- **Hadorn H.(1962)** "über wärme und lagerschädigungen von bienenhonig". Trac. Chim. Alim. Hyg. (Berne). 53 (3) , 191-192.
- **Hadouchi, F., Gaouche, T., Halla, N., (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, 1-9p.
- **Hadri, N., (2015).** Etude phytochimique et activité antioxydante d'extrait de plantes Sedum villusum L. (Orpin) et Anabasis articulata Moq. (Forsk). Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et biochimie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, pp. 106.
- **Haliwell B, Gutteridge JMC. (1989)** in: Haliwell B, Gutteridge JMC, eds. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford, 543 p.
- **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2015).** Free Radicals in Biology and Medicine. 5th Edition, Oxford University Press, New York.
- **Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoïds antioxydants : chemistry ; metabolism and structure-activity relation ships. The journal of Nutritional Biochemistry, 13 : 572 -584.
- **Helvey, T.C. The natural concentration of deuterium in honey, Science See Saiensu, (1953),** vol. 117. <http://ekladata.com/ViQw1ofEIIaHI2KAwpYI47zYG08>.
- **Hernandez-Ochoa L. R. (2005).** Substitutions des Solvants et Matières Actives de Synthèse par Combiné 'Solvant/Actif'. D'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse, Spécialité : Sciences des Agroressources, France, 225p.
- **HeywoodV.H.(1996).** Flowering plants of the world. B.T. Batsford, Ltd, London.Cité par Grattapaglia D., Vaillancourt R.E., Shepherd M., Thumma B.R.,

- Foley W., Kulheim C., Potts B.M., Myburg A.A. (2012). Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. *Tree Genetics & Genomes* 8 :463–508 .
- **HOMRANI Mounia (2020).** Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. thèse de doctorat. UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM.
 - **Houbairi, S., Elmiziani, I., Lamiri, A., & Essahli, M. (2015).** Comparison of the Antioxidant Activity of Aromatic Medicinal Plants of Moroccan Origin. *European Journal of Medicinal Plants*, 10 (4): 1-10.
 - **Houmba GNR, GANDONOU CB, Houssou AP, Capo-Chichi M, Houngbeme A et Gbaguidi F. (2016).** Evolution des caractéristiques physico-chimiques de la graine et de l'huile de pourghère (*Jatropha curcas*) en fonction du degré de maturité des fruits. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(2): 599-608. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i2.12>.
 - <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>.
 - **Huchet, E., Coustel, J., Guinot, L. (1996).** Les constituants chimiques du Miel- Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment - Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.1, Avenue des Olympiades, 91744 Massy CEDEX – France.
 - **Huq, F. and L. N. Misra. (1997).** Analkenol and C-methylated flavones from *Callistemon lanceolatus* leaves. *Planta Medica* .63: 369-370.
 - **Isla M I, Craig A, Ordonez R, Zampini C, Sayago J, Bedascarrasbure E, Alvarez A, Salomon V et Maldonado L. (2011).** Physico-chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Sci. Technol.* 44 (9), 1922-1930.
 - **J. Louveaux. LA TECHNOLOGIE DU MIEL (1).** Les Annales de l'Abeille, INRA Editions, 1959, 2 (4), pp.343-354. fahal-00890128f
 - **Jean-Prost P., Medori PA. (2005).** Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher : Editions Tec & Doc. Paris - 7e édition revue et complétée, par Yves Le Conte, 698 p.
 - **Jeffrey A.E, Echazarreta C.M. (1996).** Medical uses of honey. *Rev. Biomed.*, 7: 43 – 49.
 - **Jubril Olayinka A, Akolade, Olutayo Olawumi. O., Michael Olalekan A., Sarah Abimbola A, Doyinsola Idiat I and, Abayomi Theophilus O.(2012)** Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north-central Nigeria *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012, 2 (1):1-8

- **Kadenbach, B., Ramzan, R., Vogt S. (2009).** Degenerative diseases, oxidative stress and cytochrome oxidase function. *Trends Mol. Med.* 15 : 139-147.
- **Kaid Seloua, Soraia I. Falcão, Andreia Tomás, Ziani Kaddour, Miguel Vilas-Boas (2021).** Characterization of Algerian honeys by phenolic compounds LC-DAD-ESI/MSn analysis: Eucalyptus, Jujube, Spurge and multifloral. *7 PYCHEM (Portuguese Young Chemists Meetings), 20-22 May 2021 Bragança*
- **Karagozler A., Erdag B., Calmaz Emek Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chem*;111:400-407.
- **Kek, S.P., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Tan, S.W., Chua, L.S. (2014).** Total phenolic contents and colorintensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. And *Trigona* spp. bees. *Agric Sci Proc.* 2 : 150–155.
- **Khalil M.I., Moniruz zaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam MA., Islam MN., Sulaiman SA., Gan SH. (2012).** Physico-chemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 17:11199–11215.
- **Koziol, N. (2015).** Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité. Thèse pour l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 11 septembre 2015.
- **Küçük, M., Kolay, H. Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltaci, C., Candan, F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 100 : 526-530.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. et Carde J. P. (1994).** Biogénèse des Mono terpènes : la Chaîne Isoprenique. *Bull Soc Pharm Bordeaux.* 133: 79-99.
- **Langenheim J. H. (1994).** Higher Plant Terpenoids: a Phytocentric Overview of their Ecological Roles. *J Chem Ecol.* 20 (6):1223-1280.
- **Lefief-Delcourt, A. (2010).** Le miel malin. Luduc.s éd. Paris, 175 p.
- **Leo P. Vanhanen, Andrea Emmertz, Geoffrey P. Savage(2011).** Mineral analysis of mono –floral New Zealand honey .*Food Chemistry, Volume 128, Issue 1 Pages* 236-240.
- **Leopoldini, M., Russo, N. et Toscano, R. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry, Vol n°125.* Edition Elsevier. P : 288-306.
- **Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S. et Chemat, F. (2014).** "Essential Oils as Antioxidants". Chap 3 dans : *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry.* Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability. P : 21-27.
- **Louppis, P.A., Karabagias, I.K., Kontakos, S., Kontominas, M.G., Papastephanou, C. (2017).** Botanical discrimination of Greek unifloral honeys

- based on mineral content in combination with physicochemical parameter analysis, using a validated chemometric approach. *Microchem J.* 135, 180–189.
- **LOUVEAUX J. & ABED L. (1984).** Les miels d’Afrique du Nord et leur spectre pollinique. *Apidologie* 15 (2) : 145-170.
 - **Louveaux J. (1968a).** Composition, propriétés et technologie du miel. In: CHAUVIN R. *Traité de biologie de l’abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 277-324
 - **Luchese, R.H., Prudencio, E.R., Guerra, A.F. (2017).** Honey as a Functional Food, *Honey Analysis*, Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, IntechOpen, DOI: 10.5772/67020. Available from: <https://www.intechopen.com/books/honey-analysis/honey-as-a-functional-food>.
 - **Luis A Valdés-Silverio, Gabriel Iturralde, Marilyn García-Tenesaca, Jonathan Paredes-Moreta, David A Narváez-Narváez, Maira Rojas-Carrillo, Eduardo Tejera, Pablo Beltrán-Ayala, Francesca Giampieri et José M Alvarez-Suarez (2018)** : Paramètres physicochimiques, composition chimique, capacité antioxydante, contamination microbienne et activité antimicrobienne du miel d’eucalyptus de la région andine de l’Équateur, *Journal of Apicultural Research*. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1426349>
 - **LÜLLMANN, C (1989–1997)** Annual reports of the Institute for Honey Analysis. IHA; Bremen, Germany.
 - **Mailhebiau P. (199).** La nouvelle aromathérapie ; caractérologie des essences et tempéraments humains ; biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. *Jakin*. 640 p.
 - **Makhloufi, Ch. (2010).** «Melissopalynologie et étude des élément bioactifs des miels Algérienne». Thèse d’obtention du diplôme de doctorat en science agronomiques. Université Alger.
 - **Marcucci, M.C., Toledo, D.B., Sawaya, A.C., Lopez, B., Gonçalves, I.D., Camargo, T.C., Gonçalves, C.P., (2019).** Quality control parameters, antioxidant activity and chemometrics of Brazilian honey. *Electronic J Biol*, 15:1.
 - **Marshall, T., and Williams, K. M. (1987).** Electrophoresis of honey: characterization of trace proteins from a complex biological matrix by silver staining. *Analytical Biochemistry* 167, 301-303.
 - **Massaux, C. (2014).** Polyphénols : des alliés pour la santé. *Abeilles & cie*, vol.4, n°149, p.3.
 - **Meda A, Lamien C E, Romito M, Millogo J et Nacoulma O G. (2005).** Determination of total,phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571– 577.

- **Merah, M. Bensaci-Bachagha, M. Boudershem, A. (2010).** «Etude de l'effet antimicrobienne de trios échantillons du miel naturel récoltes du territoire Algérien». *Annales des Science et Technologie*, vol. 2, n°2, p. 115-125.
- **Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H. and Neffati M. (2010).** Antimicrobial and Antioxidant Activities of Artemisia herba-alba Essential Oil Cultivated in Tunisian Arid Zone. *C.R. Chim.* 13 (3): 380-386.
- **Mishra, A.K., Sahu, N., Mishra, A., Ghosh, A.K., Jha, S. et Chattopadhyay, P. (2010).** Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf. *Pharmacognosy Journal*, Vol n°2. Edition Elsevier. P : 25-28.
- **Moniruzzaman, M., Khalil, M. I., Sulaiman S. A., Gan, S. H., (2011).** Advances in the analytical methods for determining the antioxidant properties of honey : are view. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 9(1) : 36–42.
- **Mothana R. A., Al-Rehaily A. J. and Schultze W. (2010).** Chemical Analysis and Biological Activity of the Essential Oils of Two Endemic Socotri Commiphora species. *Molecules*. 15 (2): 689-698.
- **Mouhoubi- Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., Tamendjari A. (2016).** Antioxidant activity of some Algerian honey and propolis. *Indust Crop Prod.* 88 : 85-90.
- **Mouhoubi, Z., & Aissani, D. (2007).** Stability of the Inventory-Backorder Process in the (R; S) Inventory/Production Model. *Pliska Studia Mathematica Bulgarica*, 18(1), p: 255-270.
- **Nadir, S. (2014).** « Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens ». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, Algérie
- **Nanda V., Sarkar B., Sharma H. K. and Bawa A.S. (2003).** physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis* ,16 :613-619.
- **Nandaa V., Sarkara B.C., Sharma H.K. and Bawa A.S.J. (2003).** Determination of Some major and minor elements in the east of Morocco honeys through inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Food Comp. Anal.* 16:613-619.
- **Nathalie Koziol. (2015).** Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora : qualité, efficacité et toxicité. *Sciences pharmaceutiques* ffhal-01733789f.
- **Nicolay, J. (2014).** Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Angers.

- **Noor, N., Sarfraz, R.A., Shaukat, A., Shahid, M. (2014).** Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys. *Journal of food chemistry*. 143 : 362-366.
- **Opdyke D.L.J. (2002).**Eucalyptus oil .P107.
- **Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biocimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaïa. 90p.
- **Ouchemoukh, S. 2012.** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biocimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaïa. 90p.
- **Oyaizu M. (1986)** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nut.* 44, 307–315.
- **Ozcan M., Arslan D .and Ceylen D.A.(2006).** Effects of inverted saccharose on some properties of honey .*Food chemistry* ,99 :24-29.
- **Ozcan M.D. and Arslan D.A. (2006).** Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Chem.* 99:24-27.
- **PAP-ENPARD-Algérie. (2019).** Rapport final : mise en valeur des produits de l'apiculture locaux dans les wilayas Aïn Temouchent, Laghouat, Sétif et Tlemcen. Pp : 1-87. <http://papenpardalgerie.com/>
- **Paramas, A.M.G., Barez, J.A.G., Marcos, C.C., Garcia-Villanova, R.J., Sanchez, J.S. (2006).** HPLC-fluorimetric method for analysis of aminoacids in products of the hive (honey and beepollen). *Food Chem.* 95 :146–156.
- **Parthasarathy, S., Steinberg, D., Witztum, J.L. (1992).** The Role of Oxidized Low-Density Lipoproteins in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Annual Review of Medicine.* 43(1) : 219- 225.
- **Pénoël D, (1991).** Médecine aromatique, médecine planétaire. Vers la fin d'une survie artificielle. Éditions Roger Jollois.
- **Pereira S., Freire S.R.C.; Neto P., Silvestre J. D., and Silva M.S.A.(2005).** Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal .*Flavour and fragrance journal* flavour fragr. J. 2005; 20: 407–409.
- **Pereira, V., Pontes, M., Camara, J. S., and Marques, J. C. (2008).** Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. *J Chromatogr A* 1189, 435-43.

- **Pérez-Arquillue C., Conchello P., Ariño A., Juan T. and Herrera A. (1995).** Physico-chemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chem.* 54:167–172.
- **Persano Oddo, L., Bladi, E., and Piazza, M. G. (1986).** Acidità e pH nei principali mieli uniflorali Italiani. *Apicoltura* 2, 145-154.
- **Persano Oddo, L; Piazza, M; Pulcini, P (1999)** The invertase activity of honey. *Apidologie* 30(1): 57–66.
- **Petit Larousse illustré.** Édition Larousse, 2002.
- **Petrus, K., Schwartz, H., Sontag, G., (2011).** Analysis of flavonoids in honey by HPLC coupled with coulometric electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 400 : 2555–2563.
- **Piazza, M G; Persano Oddo, L. (2004).** Bibliographical review of the main European unifloral honeys. *Apidologie* 35 : pp 94-111.
- **Pontis, J. A., Costa, L.A. M.A, Silva, S. J.R., Flach, A. (2014).** Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Sci. Technol, Campinas*, 34(1): 69-73.
- **Pranarôm International (2014).** Fiche d'analyse d'une huile essentielle d'Eucalyptus globulus biologique. juin 2014.
- **Prost Pierre Jean. (2005).** Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher. 7ème Edition, J.B. BAIUIERE, Paris.
- **RAVAZZI G. (2007).** Abeille et Apiculture, Edition De Vecchi S. A, Paris.
- **Ribéreau-Gayon, P., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Paris, Dunod, 254p.
- **Rocondo M.P .,B.E. Elizalde, M.P . Buera (2006).** Modeling temperature dependence of honey viscosity and of related supersaturated model carbohydrate systems. *Journal of Food Engineering* , Volume 77, Issue 1, Novembre 2006, Pages 126-134.
- **Rodier J., (1997).** L'analyse de l'eau, eau naturelle, eau résiduaire, eau de mer. 8ème Ed. Dunod. France. 57- 65pp.
- **Rogers, K.M. (2017).** Melissopalynologie et caractérisation physico-chimique des miels de la Polynésie Française. Lower Hutt (NZ): GNS Science. 171p. (GNS Science international consultancy report2017/05F).
- **Rossant A.(2010).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse Pharm : Université de Limoges.
- **Sagdic O., Silici S., Ekici L. (2013).** Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *International Journal of Food Properties* 16:658–666.

- **Saleh M. A., Clark S., Woodard B. and Deolu-Sobogun A. A. (2010).** Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils. *Ethn Dis.* 20 (1 Suppl 1): S1-78-82.
- **Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A., Trombetta, D., Ezzat, S., Salem, M.A., Zayed, A., Salgado Castillo, C.M., Emamzadeh Yazdi, S., Sen, S., Acharya, K., Sharopov, F. et Martins, N. (2019).** Insights into Eucalyptus genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. *Journal Science Direct. Trends in Food Science & Technology*, Vol n°91. Edition Elsevier. P : 609-624. (a).
- **Salehi, B., Upadhyay, S., Orhan, I.E., Jugran, A.K., Jayaweera, S.L.D., Dias, D.A., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W.C. et Sharifi-Rad, J. (2019).** Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, Vol n°9. MDPI. P : 1-34. (b).
- **Sánchez-Moreno C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 8: 121-137.
- **Sancho, M.T., Muniategui, S., Sanchez, M.P., Huidobro, J.F. and Simal, J.(1991).** Relationship between electrical conductivity and total and sulphated ash contents in Basque honeys. *Apidologie*.22.487-494.
- **Sarwar, R., Farooq, U., Khan, A., Naz, S., Khan, S., Khan, A., Rauf, A., Bahadar Hand Uddin, R. (2015).** Evaluation of Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activity of *Quercus incana* Roxb. *Front. Pharmacol.* 6:277.doi: 10.3389/fphar.2015.00277.
- **Saxena S, Gautam S et Sharma A. (2010).** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem.* 118, 391-397.
- **Saxena S., Gautam S. and Sharma A. (2010).** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem*; 1(3): 202-203.
- **Schweitzer P. (2004).** Le monde des miellats. *Revue l'abeille de France* n°908. Laboratoire d'analyse et d'Ecologie Apicole, 02p.
- **SCHWEITZER. (2005).** Un miel étrange... *L'abeille de France* n°920, Décembre 2005.
- **Seijo-Rodríguez, A. (2017).** Caracterización de variedades de patata y seguimiento aerobiológico y fenológico para la predicción de *Phytophthora infestans* (Mont.) Tesis Doctoral. de Bary 2017.Université de vigo.
- **Sib, A. (2007).** «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe».

- Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
- **Sib, A. 2011.** «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importée». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
 - **Siddiqui, Ir. (1970)** .Les sucres du miel.Progrès dans la chimie et la biochimie des glucides25 : 285- 309.
 - **Silva, L. R., Sousa, A., Taveira, M. (2017a)**. Characterization of Portuguese honey from Castelo Branco region according to their pollen spectrum, physicochemical characteristics and mineral contents. *Journal of food science and technology*. 54(8) : 2551–2561.
 - **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999)**. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
 - **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.
 - **Song A., Wang Y., Liu Y. (2009)**. Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4 (4) PP.
 - **Spano, N., Piras, I., Ciulu, M., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., and Sanna, G. (2009)**. Reversed-phase liquid chromatographic profile of free amino acids in strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *J AOAC Int* 92, 1145-52.
 - **Teisseire, P.J., (1991)**. Chimie des substances odorantes. Technique et documentation Lavoisier.
 - **Telphon T, (2003)**. ABC des huiles essentielles. Éditions Grancher. 358 pages.
 - **Terrab A., Diez M.J. and Heredia F.J. (2003)**. Palynological, Physicochemical and color characterization of Moroccan honeys: Orange (*Citrus* sp.) honey. *International Journal of Food Science and Technology*; 38: 387-394.
 - **The National Honey Board (2004)**. Honey-Health and Therapeutic Qualities. pp. 1-28. www.nhb.com, Longmont, CO 80501-6045.
 - **Tisserand, R. et Young, R. (2014)**. Essential Oil Safety. Deuxième édition. Edition Churchill Livingstone Elsevier. China.
 - **Tomas-barberan, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., and Anklam, E. (2001)**. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 485-496.

- **Toure, D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de cote d'ivoire. Thèse de Doctorat. Organic chemistry. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, French.
- **Turksitha, L., Chen, Y.L.S., Wong, K et Peng, C.C. (2018).** Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 21(2) : 563-570.
- **Velásquez, P., Montenegro, G., Leyton, F., Ascar, L., Ramirez, O., & Giordano, A. (2020).** Composés bioactifs et propriétés antibactériennes du miel Ulmo monofloral. *CyTA - Journal de l'alimentation*, 18(1), 11–19.
- **Velghe, C. (2016).** «Miel valeurs nutritionnelle et bienfaits». Santé-MGC Prévention. En ligne < www.mgc-prevention.fr > Nutrition > Aliments et santé >. Consulté le 17 février 2017.
- **Vestalys H. & Andrianarivelo Andriatoavina M. S. (2008).** Analyse de la filière apiculture dans les régions Analamanga et haute Matsiatra. Rapport dans le cadre du Programme de soutien aux pôles de micro-entreprises rurales et aux économies régionales (PROSPERER). MAEP, Antananarivo, 43p.
- **Vincenzi, M., Silano, M., De Vincenzi, A., Maialetti, F., Scazzocchio, B. (2002).** Constituents of aromatic plants: eucalyptol. *Fitoterapia*. 73(3) : 269-275.
- **Vinson J.A., Dabbagh Y.A., Serry M. M., Jang J. (1995).** Plant flavonoids, especially tea flavonols are powerful antioxidants using in vitro antioxidants model for heart disease. *J. Agr. Food Chem*, 43: 2800–2802.
- **Virginie Laguerre. (2015).** Huiles essentielles et 1,8-cinéole. *Sciences pharmaceutiques*. fhal-01770640f.
- **Von Der Ohe, W ; Von Der Ohe, K (1996).** Caractérisation du miel de miellat guidée avec des saccharides. *Charakterisierung von Honigtau Honig anhand spezifischer Saccharide. Apidologie* 27 (4): 270-272.
- **Vorlová L. & Elechovská O. (2002).** Activity of enzymes and trace element content in bee honey. *Acta Vet. Brno*. 71, 375–378.
- **Weiss K, (1985).** L'apiculture de week-end édition européennes apicoles Bruxelles. 252p.
- **White J.W, Subers M.H.(1964a)** Studies on honey Inhibine: 4. Destruction of the peroxide accumulation system by light. *J Food Sci* ;29:819–8.
- **White, Jw (1975).** Composition du miel., Dans Crane, E (éd.) *Le miel, une enquête complète*, Heinemann Édition; Londres; pages 157-206.
- **Wichtl, M. et Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques. 2ème édition. Edition Tec & Doc, Edition médicales internationales. Lavoisier.

- **Wollenweber, E., R. Wehde, M. Dorr, G. Lang, and J. F. Stevens. (2000).** CMethylflavonoids from the leaf waxes of some Myrtaceae. *Phytochemistry* .55: 965-970.
- **Xavier Levervea, (2009).** LBFA, Inserm U-884 « bioénergétique fondamentale et appliquée », université Joseph-Fourier, BP 53X, 38041 Grenoble cedex, France.
- **Yanniotis S.,Skaltsi S. and karaburnioti S.(2006).** Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperature.*Journal of food Engineering*, 72 :372-377.
- **Yildirim A., Mavi A., Kara A.A. (2001).**- Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 40834089.
- **Zakia Ould Si Said. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* (Mémoire magister, Université Abderrahmane Mira – Bejaïa).
- **Zhiri A et Baudoux D. (2008).**les huiles essentielles chémotyées : ISBN :2-919905-27-9 Edition Inspir Development. P7, P38.

Annexes

Annexe 1. Table de CHATAWAY (1932).

Indice de réfraction à (20°C)	Teneur en eau (g/100 g)	Indice de réfraction à (20°C)	Teneur en eau (g/100 g)
1,5044	13,0	1,4890	19,0
1,5038	13,2	1,4885	19,2
1,5033	13,4	1,4880	19,4
1,5028	13,6	1,487	19,6
1,5023	13,8	1,4870	19,8
1,5018	14,0	1,4865	20,0
1,5012	14,2	1,486	20,2
1,5007	14,4	1,485	20,4
1,4002	14,6	1,485	20,6
1,4997	14,8	1,4845	20,8
1,4992	15,0	1,4840	21,0
1,4987	15,2	1,4835	21,2
1,4982	15,4	1,483	21,4
1,4976	15,6	1,4825	21,6
1,4971	15,8	1,4820	21,8
1,4966	16,0	1,4815	22,0
1,4961	16,2	1,4810	22,2
1,4956	16,4	1,4805	22,4
1,4951	16,6	1,480	22,6
1,4946	16,8	1,4795	22,8
1,4940	17,0	1,4785	23,0
1,4935	17,2	1,4780	23,2
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,475	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4995	18,8	1,4740	25,0

Annexe 2. Matériel utilisé.



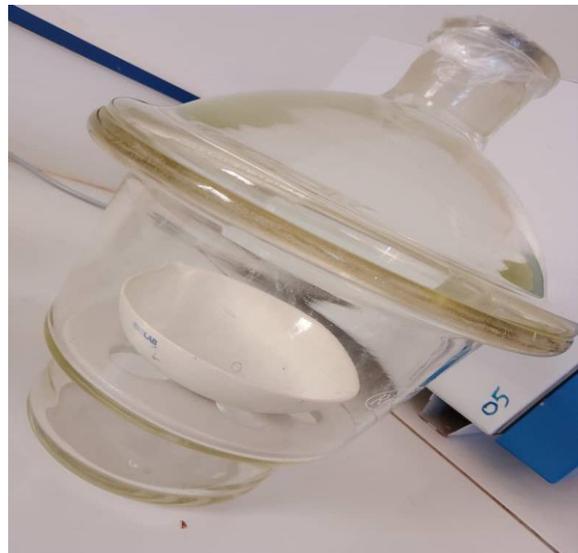
a) Réfractomètre



b) Conductimètre



c) Four et dessiccateur pour la cendre

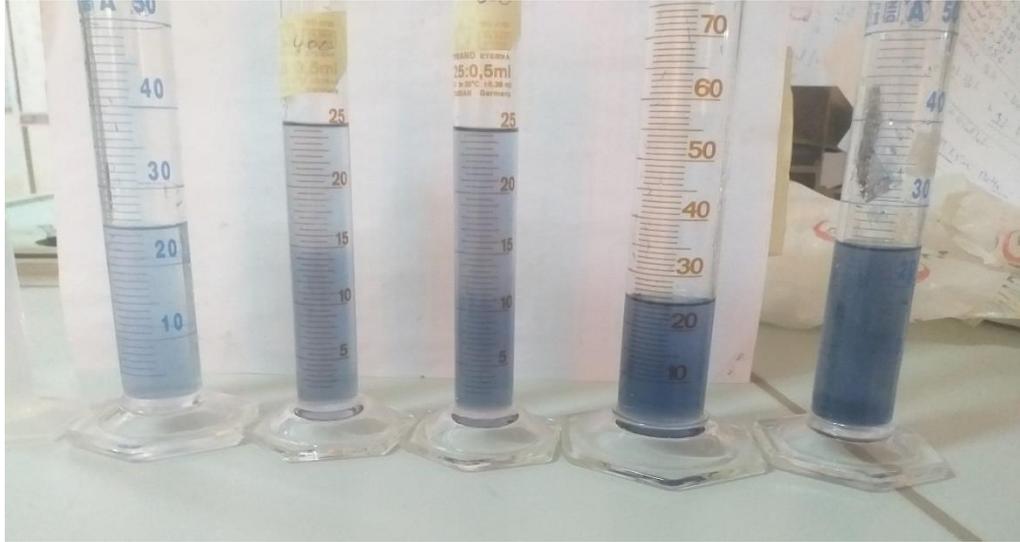


d) le miel après incinération à T° 600



e) Mesure de l'acidité libre de miel analysé

Annexe 3. Dosage des polyphénols du miel Eucalyptus



Annexe 4. Evaluation d'activité antioxydant de miel avec diffèrent concentration



Annexe 5. Essai FRAP de ME avec diffèrent concentration



Annexe 6. Mesure de pH d'HEE



Annexe 7. Echantillon de Miel et Huile essentielle Eucalyptus analysé

