

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Spécialité biochimie Appliquée.



Réf :.....

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

MASTER

Thème

*Profils polliniques et activités
antioxydantes et antibactériennes de
quelques miels d'Algérie*

Présenté par :

BENALI Thiziri & MEZADI Yasmina

Soutenu le: 23 juin 2018

Devant le jury composé de :

M^{elle} MOULAOUI k.

M^r OUCHEMOUKH S.

M^{me} AKSAS-DAHDOUH A.

MAA

MCA

MAA

Présidente

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la patience et nous a guidé à réaliser ce modeste travail. Dieu merci.

*Nos vifs remerciements vont directement à notre promoteur **M^r OUCHEMOUKH S.** pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien sa simplicité, sa collaborations, sa disponibilité ainsi à ces précieux conseils et pour nous avoir donnés les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de notre travail.*

*Je remercie **M^{elle} MOULAOUI K.** d'avoir accepté de présider mon jury et qui a pris le temps de lire et de corriger ce mémoire. C'est un honneur pour moi de vous avoir dans mon jury. Nous adressons également nous hommages les plus respectueux à **M^{me} AKSAS-DAHDOUH A.** qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être examinatrice de ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier le doctorant **Mr OTMANI A.** pour son aide précieuse ainsi qu'aux techniciens et ingénieurs des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment **M^{elle} TABTI N.** pour son aide, ses précieux conseils et sa gentillesse sans oublier tous les enseignants de laboratoire de biophysique à nos collègues en Master 2 et à toute personne ayant contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.*

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection.

Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail
que je dédie:*

*A la mémoire de ma grande-mère qui n'a pas pu partager avec moi cet
instant de bonheur et de joie et que Dieu ait son âme.*

*A la prunelle de mes yeux, l'espoir de ma vie, celle qui m'a entourée de
son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux
conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à
travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments
et de mon éternelle gratitude, à ma très chère **mère** que dieu la garde
et la protège.*

*A mon chère **père** qui mérite de me voire un jour franchir le seuil de la
réussite en m'offrant une éducation digne, pour son amour, sa
confiance qu'il a placée en moi depuis mon très jeune âge, son soutien
moral surtout et pour son encouragements tout au long de mes études
dieu me le garde.*

A tous mes chers frères et sœurs.

*Mes spéciales dédicaces à mon petit frère **Tarek** et ma sœur **Khalissa**
qui m'ont encouragé, aidé, rassuré dans les moments difficiles de ma
vie.*

*A mes petites adorables nièces **Alaa-errahmane & Marya.***

*A ma collègue: **Thiziri** et sa famille.*

A toutes mes amies et copines sans exception.

*A toute la famille **MEZADI, ZOUGHEBI et SAIDANI.***

A toute la promotion Master 2 Biochimie Appliquée 2017-2018.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

Yasmina

Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce
modeste travail que je dédie:*

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, mon très
cher père et ma très chère mère qui ont sacrifié les belles
années de leurs vie pour me voir un jour franchir le seuil de
la réussite en m'offrant une éducation digne ,pour leur
amour ,la confiance qu'ils ont placée en moi depuis mon très
jeune âge, leur soutien moral surtout et pour leur
encouragements tout au long de mes études.*

*A mes très chères sœurs et frères: Hamaou, Fatah, Hafit,
Karima, Yasmína, Saída, Sihem, Kamila, Warda et Meriem
qui m'ont encouragé, aidé, rassuré dans les moments
difficiles de ma vie.*

A tous mes nièces adorables sans exception.

*A mes très chères amis: Saadi, Sara, Lydia, Imane, Fouzia,
Fadila, Yamina, Dalia et Mahrez.*

A ma collègue Yasmína et sa famille.

*A toute la promotion master 2 biochimie appliquée
2017/2018.*

*A tous mes amis et à toutes les personnes qui m'ont aidé de
près comme de loin et à tous ceux qui me sont chers.*

Thiziri

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1-Généralités sur le miel..... 2

I.1.1-Définition 2

I.1.2-Origine et variétés 2

I.1.2.1-Miel de nectar 2

I.1.2.2-Miel de miellat 2

I.1.3-Elaboration..... 3

I.1.4-Composition chimique 3

I.1.4.1-Teneur en eau 3

I.1.4.2-Glucides..... 4

I.1.4.3-Protéines et acides aminés 4

I.1.4.4-Composés phénoliques 4

I.1.4.5-Sels minéraux 4

I.1.4.6-Acides organiques 4

I.1.5- Caractéristiques physico-chimiques 5

I.1.5.1-Indice de réfraction et humidité 5

I.1.5.2- Conductivité électrique..... 5

I.1.5.3-pH et acidité 5

I.1.5.4- Couleur 5

I.1.5.5- Pouvoir rotatoire..... 5

I.1.5.6-Teneur en HMF 5

I.1.6-Conservation 6

I.2-Propriétés biologiques..... 6

I.2.1-Activités antioxydantes 6

I.2.2-Activités antibactériennes 6

I.2.3-Activité cicatrisante 9

I.2.4-Activité anti-inflammatoire..... 9

I.2.5-Propriété énergétique 9

I.2.6-Propriété antianémique..... 10

I.2.7-Propriété anticancéreuse..... 10

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1-Echantillons de miels	11
II.2-Analyses polliniques	12
II.3-Analyses physico-chimiques	12
II.3.1-Protéines	12
II.3.2-Proline.....	12
II.3.3-Hydroxyméthylfurfural(HMF).....	13
II.4-Dosages phyto-chimiques	13
II.4.1-Dosage des composés phénoliques totaux.....	13
II.4.2-Dosage des flavonoïdes.....	14
II.5-Etude d'activités antioxydantes	14
II.5.1-Test de FRAP	14
II.5.2- Pouvoir réducteur	14
II.5.3-DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl).....	15
II.5.4-ABTS	15
II.6-Activités antibactériennes	16
II.6.1-Souches bactériennes utilisées	16
II.6.2-Méthode de diffusion sur gélose.....	16
II.6.3-Technique de macro-dilution pour la détermination de la CMI.....	17
II.7-Analyses statistiques	18

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1- Analyses polliniques	19
III.2- Parametres Physico-Chimiques	22
III.2.1-Protéines	23
III.2.2-Proline	23
III.2.3-Hydroxyméthylfulfural.....	23
III.3-Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes	24
II.3.1- Antioxydants.....	24
II.3.1.1- Teneur en composés phénoliques totaux	24
III.3.1.2- Teneur en flavonoïdes.....	24
III.3.2- Activités antioxydantes	25
III.3.2.1- Pouvoir réducteur.....	25
III.3.2.2- Test de FRAP.....	25
III.3.2.3- DPPH	25
III.3.2.4-ABTS	26

III.4- Activités antibactériennes	26
III.4.1- Méthode de diffusion sur gélose	26
III.4.2- Technique de macro-dilution.....	28
III.5-Corrélations	35
III.5.1- Corrélations antioxydants et activités antioxydantes.....	35
III.5.2- Corrélations activité antibactérienne, antioxydante et antioxydants	36
III.6- Analyses en composantes principales (ACP)	36
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38
ANNEXES	

Liste d'abréviations

- + ABTS⁺ : Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
- + ACP: Analyse en Composante Principale
- + ANOVA: Analysis of one variance
- + ATCC: Américan type culture collection
- + Bax: Bcl-2 associated protéine
- + Bcl2: B-cell lymphome protéine- 2
- + BSA : Serum Albumin Bovin.
- + CMI: Concentration Minimale Inhibitrice
- + DHA : Dihydroxyacétone
- + DPPH : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl
- + EAG : Equivalent Acide Gallique
- + EBSA : Equivalent Bovin Serum Albumin
- + *E. coli*: *Escherichia coli*
- + EQ : Equivalent Quercitine
- + Fe³⁺: Fer ferrique
- + Fe²⁺: Fer ferreux
- + FRAP: Ferric reducing antioxydant power
- + GOX : Glucose oxydase
- + H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
- + HMF : Hydroxyméthylfurfural
- + Kcal : kilocalorie
- + kDa : Kilodalton
- + M : Miel
- + meq/Kg : Milliéquivalent/kilogramme
- + MGO : Méthylglyoxal
- + NF κ B : Nuclear Factor-kappa B
- + nm: Nanomètre
- + NO : Nitrique oxyde
- + OH: Radical hydroxyle
- + p53: Phosphoprotéine p53
- + PR : Pouvoir réducteur
- + r : Coefficient de corrélation

✚ ***S. aureus* FRI:** *Staphylococcus aureus* food research institute

✚ **TPTZ :** Tripyridyletriazine

✚ **UV:** Radiation ultraviolette

Liste des figures

N°	Figure	Page
01	Photographie des échantillons de miels analysés.	11
02	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en mm du miel (100 %) sur les souches testées (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> FRI, <i>S. aureus</i> LGA).	26
03	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en mm du miel (50 %) sur les souches testées (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> FRI, <i>S. aureus</i> LGA).	26
04	Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre <i>E. coli</i> .	31
05	Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre <i>S. aureus</i> FRI.	32
06	Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre <i>S. aureus</i> LGA.	32
07	Tracé des poids factoriels de l'ACP.	36

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Différents échantillons de miel étudiés.	11
II	souches bactériennes utilisées.	16
III	Différentes dilutions pour chaque échantillon de miel.	17
IV	Spectres polliniques et pourcentages de pollens des miels analysés.	20
V	Résultats des paramètres physico-chimiques, teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes des miels étudiés.	21
VI	Résultats des CMI sur <i>E. coli</i> .	28
VII	Résultats des CMI sur <i>S. aureus</i> FRI.	28
VIII	Résultats des CMI sur <i>S. aureus</i> LGA.	29



INTRODUCTION


Le miel fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité, il est connu et utilisé par l'homme depuis les anciens temps. Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Le miel est une solution hautement concentrée en sucres. Dont les principaux sont le fructose et le glucose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs (les minéraux, les protéines, les vitamines, les acides organiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes...) et les éléments figurés (pollens, levures) (Azeredo *et al.*, 2003).

Le miel n'est pas seulement un aliment sucré mais également un produit médicinal car il possède plusieurs propriétés biologiques qui sont dues essentiellement à sa composition chimique notamment les polyphénols (Da Silva *et al.*, 2016). De nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel. Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques.

L'usage du miel en médecine refait surface à travers le monde d'où la création de l'apithérapie, pratiquée depuis des décennies sous une forme simple et naturelle, utilisant du miel pour son effet antibactérien qui est montré par plusieurs agents (pH, osmolarité, inhibine à activité peroxydique et la non peroxydique), cicatrisant, anti-cancer et anti-ulcère et ceci grâce à ses propriétés physico-chimiques et biologiques (Meda *et al.*, 2005).

Afin de déterminer la qualité des miels, le codex alimentaire et la commission internationale du miel ont établi des normes concernant certains paramètres (humidité, teneurs en sucres, hydroxyméthylfurfural (HMF), pH, proline,...etc.). Par ailleurs, Al-Mamary *et al.* (2002) considèrent aussi que les composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel sont des critères de qualité.

Ce travail vise justement à renforcer ces études par l'usage qui fait du miel concernant ses activités antioxydantes et antimicrobiennes de quelques échantillons de miels Algériens. Les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du miel, ses différents types, sa composition biochimique et ses propriétés physico-chimiques et biologiques dans la première partie. Dans la deuxième partie, le matériel d'étude et les méthodes analytiques utilisées pour l'analyse pollinique, physico-chimiques et activités antioxydantes ainsi que activités antibactériennes seront évoquées. La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions en comparant aux travaux effectués auparavant.



*CHAPITRE I: REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE*

I.1-Généralités sur le miel

I.1.1-Définition

Le miel est défini comme: « une substance sucrée naturelle, produite et traitée par des abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant des parties vivantes des plantes ou des excréments laissés par des insectes suceurs qu'elles butinent, transforment et combinent avec des matières spécifiques propres emmagasinées et laissées mûrir dans les rayons de la ruche » (Codex alimentarius, 2001)

I.1.2-Origine et variétés

Le miel est élaboré par les abeilles ouvrières butineuses âgées de plus de 22 jours (Chauvin, 1987). Il existe deux origines de miels : miels de miellat et du nectar. Leur composition chimique diffère selon plusieurs paramètres (pH, teneur en cendres et en minéraux, couleur, profil des glucides...) (Janscova *et al.*, 2014).

I.1.2.1-Miel de nectar

Le nectar est le liquide sucré sécrété par les glandes dites nectarifères présentes sur de nombreuses plantes. Il est généralement la source principale de miel. Les nectaires qui abritent ces glandes sont situés le plus souvent dans les fleurs mais peuvent aussi se trouver à la base de certaines feuilles (Marchenay et Berard, 2007).

Le nectar est composé de plusieurs glucides et d'eau mais il renferme également d'autres substances dont il y a: les acides organiques, les protéines, les substances aromatiques et des composés inorganiques. Il se forme à partir de la sève de la plante et chaque plante à nectar présente ses caractéristiques conférant au miel sa couleur et sa saveur (Lacub, 2013).

I.1.2.2-Miel de miellat

Le miellat est un liquide sucré, provient par divers insectes piqueurs-suceurs (pucerons principalement) à partir de la sève des végétaux dont ils se nourrissent (Sanz *et al.*, 2005).

Le miellat représente une ressource alimentaire importante pour les abeilles lorsqu'elles ne disposent pas de fleurs à butiner. Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et en glucides complexes (comme le mélézitose) (Clément, 2014). Il existe deux variétés de miels possédant chacune des propriétés et des caractéristiques physicochimiques.

Les miels monofloraux qui sont élaborés à partir du nectar et/ou miellat provenant de maintes espèces florales avec une variété dominante, indiquée par l'analyse pollinique par la présence de plus de 45 % d'un seul type de pollen (Terrab *et al.*, 2002; Rossant, 2011) et les miels polyfloraux qui ont des pollens de plusieurs espèces végétales (Rossant, 2011).

I.1.3-Elaboration

Le premier stade de la formation du miel consiste dans l'aspiration du nectar ou de miellat des fleurs par la trompe de l'abeille qui le convoie dans son jabot (Chauvin, 1987). Le mélange sucré est régurgité et étalé en une goutte puis réabsorbé et transféré à plusieurs reprises d'une abeille à une autre par phénomène de trophallaxie en subissant à chaque fois l'addition de salive qui transforme les glucides (principalement l'invertase, qui hydrolyse le saccharose en fructose et en glucose). Lorsque la teneur en eau diminue en général, jusqu'à 17 %, les abeilles recouvrent les alvéoles remplies de miel d'un opercule de cire (Loubreau-Callen *et al.*, 1999).

I.1.4-Composition chimique

Le miel est un aliment naturel qui est composé principalement de glucides de l'eau et d'autres constituants comme les enzymes, les acides aminés, les acides organiques, les caroténoïdes, les vitamines, les sels minéraux, les substances aromatiques et des composés phénoliques. La composition, la couleur, l'arôme et la saveur du miel dépendent principalement des fleurs, des régions géographiques, du climat et d'espèces d'abeilles (Da Silva *et al.*, 2016).

I.1.4.1-Teneur en eau

La baisse quantité d'eau existante dans le miel est un paramètre important pour la prévention de la croissance bactérienne (Warner et Laccourey, 2011). Le nectar récolté contient 40 à 80 % d'eau et pour obtenir le miel, les abeilles doivent éliminer les trois-quarts par évaporation. En effet, la teneur moyenne en eau d'un miel varie de 17 à 20 % (Le Bihan, 2016).

I.1.4.2-Glucides

Les glucides du miel contiennent de fructose et de glucose (60-85%) comme des monosaccharides prédominants, le maltose, le saccharose, le mélézitose, l'erlose... Ces oses et osides sont responsables de nombreuses propriétés physicochimiques comme la viscosité, l'hygroscopicité et la granulation (Lazaridou *et al.*, 2004).

I.1.4.3-Protéines et acides aminés

Les protéines et les acides aminés sont présents en faible quantité dans le miel 0,2 %, ils sont issus de deux sources, l'une animale (abeilles) et l'autre végétale (pollen). Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines. Il y a également entre 50 à 80 % d'acides aminés dont la proline est la plus abondante (Ouchemoukh *et al.*, 2007).

I.1.4.4-Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les structures identifiées dans le miel: les acide phénoliques (acide benzoïque et cinnamique) et les flavonoïdes (flavones et flavonones) en proportions très variables (Al-Mamary *et al.*, 2002).

Les composés phénoliques sont parmi les groupes les plus importants dans les constituants de miel, qui agissent comme des antioxydants naturels. Ils sont de plus en plus populaires en raison de leur rôle potentiel dans la contribution à la santé humaine. Ces composés peuvent également être utilisés comme indicateurs dans les études sur les zones florales et géographiques (Gomaz-Caravaca *et al.*, 2006).

I.1.4.5-Sels minéraux

Le miel apporte de nombreux minéraux indispensables à la sante humaine, leurs concentrations sont variables selon les origines florales et géographiques. Un kilogramme de miel contient en moyenne 661 mg de potassium et 48 mg de calcium. Les autres sels minéraux ne se retrouvent qu'a l'état de traces, il y a également du fer, du cuivre et du manganèse (Le Bihan, 2016).

I.1.4.6-Acides organiques

Les acides organiques dérivent des glucides par des enzymes sécrétées à partir des abeilles lors de la transformation du nectar en miel. Tous les miels possèdent une légère acidité en raison de 0,57 % d'acides organiques. L'acide prédominant est l'acide gluconique qui provient de la glucose-oxydase que les abeilles synthétisent pendant la maturation de miel (Da silva *et al.*, 2016).

I.1.5- Caractéristiques physico-chimiques

I.1.5.1-Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction permet de calculer la teneur en eau en utilisant la table de chatway. Il oscille entre 1,47 et 1,50 pour une teneur en eau de 13 à 18 % à 20 °C (Rossant, 2011).

I.1.5.2- Conductivité électrique

La conductivité électrique représente la capacité d'un produit à transmettre un courant électrique. Elle dépend des cendres, des acides organiques, des protéines, des glucides et varie selon les origines. Elle est largement utilisée pour la différenciation entre le miel de miellat et miels de fleurs et aussi pour la caractérisation des miels unifloraux (Belay *et al.*, 2013).

I.1.5.3-pH et acidité

Le pH est utilisé pour la distinction entre le miel de miellat (pH élevé) et miels de fleurs (pH faible). L'acidité libre varie entre 12,0 et 134,5 méq / kg (Alqarni *et al.*, 2012).

I.1.5.4- Couleur

La couleur est un critère de classification des miels qui vont du jaune pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir). Cette diversité en couleur est à l'origine de différents composants du miel, notamment les minéraux, les caroténoïdes et les composés phénoliques. Plus le miel est foncé plus il est riche en ces composés (Gonzales *et al.*, 1999).

I.1.5.5- Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. Il est utilisé pour distinguer entre les miels de nectar et les miels de miellat (Yücel et Sultanolgu, 2013). En effet, les miels de nectar sont des miels lévogyres, ils font tourner à gauche la lumière polarisée. Par contre, les miels de miellats font tourner à droite la lumière polarisée, ce sont des miels dextrogyres (Bogdanov *et al.*, 2004).

I.1.5.6-Teneur en HMF

La détermination de la quantité d'HMF (hydroxyméthyl-furfural) est utilisée pour évaluer la qualité du miel. Généralement, cette substance est absente dans le miel frais, son contenu augmente pendant le stockage. L'HMF est formé au cours de la déshydratation des hexoses en milieu acide, il dépend des propriétés chimiques du miel comme le pH, l'acidité totale et la teneur en minéraux (Zappalà *et al.*, 2005).

I.1.6-Conservation

La température idéale de conservation est de 18 °C. Le miel peut se conserver plusieurs années et ne s'abîmera pas si les conditions de conservation sont remplies, c'est-à-dire un local sec et une température ambiante. Le miel est hygroscopique, il absorbe l'humidité de l'air donc il ne faut pas laisser les pots ouverts pour que le taux d'humidité ne dépasse pas les 19 % (Eon, 2011).

I.2-Propriétés biologiques

Le miel est un aliment important, il occupe une classe d'aliments qui favorise la santé et empêche l'apparition des maladies grâce à ses multiples valeurs nutritionnelles et à ses propriétés biologiques comme des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, gastroprotectives, hépatoprotectrices, reproductrices, hypoglycémiantes, antihypertenseurs, immunomodulatrices et anticancéreuses (Ansari *et al.*, 2018).

I.2.1-Activités antioxydantes

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre de la balance (oxydant/antioxydant) en faveur des oxydants (Pincemail *et al.*, 2002). Il joue un rôle significatif dans l'apparition de nombreuses maladies telles que le cancer, la cataracte, l'athérosclérose ... (Aljadi et Kamaruddin, 2004).

Les antioxydants jouent un rôle important dans la préservation de la santé humaine, notamment ceux qui sont présents dans le miel. Ce dernier contient des antioxydants enzymatique (catalase, glucose peroxydase, peroxydase) et non enzymatique (les acides phénolique, les flavonoïdes, les caroténoïdes et l'acide ascorbique) (Ferreira *et al.*, 2009).

Selon Al-Mamary *et al.* (2002), l'activité antioxydante varie d'un miel à un autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants. Ainsi, les composés phénoliques présents dans le miel sont des piègeurs efficace des radicaux libres (Meda *et al.*, 2005).

I.2.2-Activités antibactériennes

Les maladies infectieuses sont causées par diverses souches bactériennes pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *salmonella spp* (Khan *et al.*, 2018). Le miel contient des agents antibactériens qui inhibent la croissance des micro-organismes ou bien des agents antibactériens qui éliminent complètement la croissance des bactéries (Bogdanov *et al.*, 1997).

Depuis longtemps, la médecine utilise les antibiotiques pour le traitement des maladies infectieuses et avec le temps les bactéries développent une résistance vis-à-vis de ces antibiotiques. En conséquence, les efforts des scientifiques sont faits pour étudier et développer de nouveaux composés utilisables pour la santé de l'homme (Basualdo *et al.*, 2007).

Le miel est utilisé depuis l'antiquité pour le traitement des maladies infectieuses et pour la cicatrisation des plaies cutanées. Il freine la croissance des bactéries en raison de ses diverses propriétés physiques et chimiques (la haute osmolarité et l'acidité, le peroxyde d'hydrogène, les composés phénoliques...) (Bogdanov et Blumer, 2001).

I.2.2.3- Agents antibactériens

➤ Osmolarité

L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. En effet, il est connu qu'une osmolarité importante présente un effet antibactérien. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des microorganismes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (khan *et al.*, 2018).

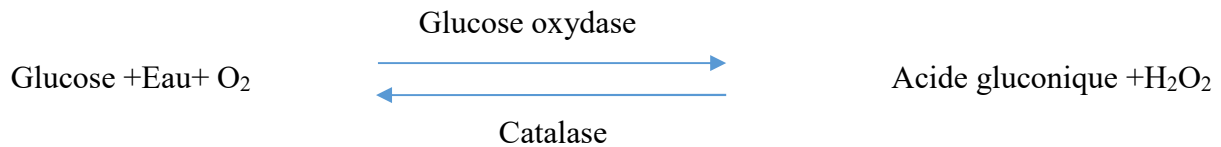
De plus, le miel étant une solution sursaturée, une forte interaction qui existe entre les glucides et l'eau ne laissent pas assez de molécules d'eau libre, ce qui est indispensable au développement et à la survie des microorganismes (Olaitan *et al.*, 2007). Ils ont défini un coefficient hydrique « aw » pour mesurer cette eau « libre ». La valeur moyenne de l'activité hydrique du miel se situe entre 0,56 et 0,62 (Rossant, 2011 ; khan *et al.*, 2018).

➤ pH acide

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 4,5. Ce pH contribue à inhiber la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes (Rossant, 2011).

➤ Inhibine à activité peroxydique

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel (Bogdanov et Blumer, 2001). Il est produit par la conversion du glucose en acide gluconique sous la médiation de la glucose oxydase (GOX) dans des miels dilués. La concentration de GOX dans les miels est positivement en corrélation avec l'accumulation de H₂O₂ et par conséquent, la GOX affecte l'activité antibactérienne totale de miel (Bucekova *et al.*, 2017).



Le peroxyde d'hydrogène formé agit sur les bactéries Gram négatif en provoquant l'oxydation de leurs protéines, conduisant à leur destruction et possède aussi la capacité de dégrader l'ADN bactérien et les plasmides. Par contre, l'acide gluconique ainsi formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes (Koechler, 2015).

➤ **Inhibine à activité non-peroxydique**

Lorsque le miel est mûr, le processus d'oxydation est bloqué, certains miels possèdent encore une activité antibactérienne, ceci serait dû à des substances spécifiques provenant des plantes, principalement les lysozymes, les flavonoïdes et les acides phénoliques (Bogdanov et Bulmer, 2001).

➤ **Composés phytochimiques**

L'activité antibactérienne de miel varie selon la différence de la composition phytochimique comme il est observé dans les miels de manuka, allant de miel totalement inactif à très actif (Brudzynski et Kim, 2011).

➤ **Lysozyme**

Le lysozyme est une enzyme qui a un effet antibactérien, catalyse l'hydrolyse de la liaison β -1,4 entre les résidus d'acide N-acétylmuramique et N-acétyl-D-glucosamine dans le peptidoglycane de la paroi bactérienne (khan *et al.*, 2018).

➤ **Defensine-1**

La défensine-1 est un peptide secrété par les glandes hypophrygiennes des abeilles, également connu sous le nom royalisin. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale (Kwakman *et al.*, 2012), ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne (bactéries Gram positif et Gram négatif, champignons, virus enveloppés) (Jonard *et al.*, 2006).

➤ **Méthylglyoxal (MGO)**

Le méthylglyoxal (MGO) est un agent actif antibactérien très important qui se trouve dans le miel et plus particulièrement dans le miel de manuka dans lequel il est présent en grande quantité, c'est un dérivé de la conversion non enzymatique de dihydroxyacétone (DHA) (Karasawa *et al.*, 2016).

Le MGO agit sur l'expression des gènes impliqués dans la stabilité de la paroi cellulaire et chez les bactéries Gram +, il agit sur une enzyme appelée « autolysine » qui est impliquée dans le clivage des composants de la paroi cellulaire et de la division cellulaire (Marcet, 2017).

I.2.3-Activité cicatrisante

Les vertus cicatrisantes du miel tiennent à ses propriétés physiques, chimiques et enzymatiques. Le miel, par sa saturation en saccharose, entretient une pression osmotique trop basse pour favoriser la croissance des germes. Cette action est à la base du traitement des plaies par le miel. Cette pression entraîne une résorption de l'œdème péri lésionnel et un appel local de macrophages qui favoriserait le nettoyage des plaies. Une augmentation secondaire des fibroblastes producteurs de collagène favoriserait une cicatrice de bonne qualité (Attipou *et al.*, 1998).

I.2.4-Activité anti-inflammatoire

Le miel est efficace et rentable et ses propriétés curatives sont bien documentées. Il peut diminuer le temps de guérison via un double effet sur la réponse inflammatoire. Il supprime la production et la prolifération des cellules inflammatoires pour prévenir une réponse inflammatoire prolongée et inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires. Les cytokines pro-inflammatoires stimulent la production d'oxyde nitrique, un médiateur important d'inflammation. Cette production d'oxyde nitrique (NO) et l'activation de NF- κ B sont inhibées par les flavonoïdes présents dans le miel (Kassim *et al.*, 2010).

L'efficacité du miel dans les soins des plaies est supposée être due à son action anti-inflammatoire. Les antioxydants trouvés dans le miel sont responsables de son activité anti-inflammatoire (Kassim *et al.*, 2010).

I.2.5-Propriété énergétique

Le miel est une source d'énergie par excellence à cause de sa forte concentration en glucides. En effet, sa valeur énergétique est d'environ 350 kcal / 100 g. Par conséquent, Ajibola *et al.* (2007) affirment que le miel améliore les performances physiques en augmentant l'endurance et en facilitant les efforts prolongés, notamment pour les sportifs. Il contient des glucides simples (fructose et glucose) qui sont directement assimilables par l'organisme et qui ne passent pas par un processus complexe de digestion.

I.2.6-Propriété antianémique

La propriété antianémique serait en relation avec la présence de fer et de cobalt dans le miel. Le cobalt est un composant de la vitamine B12 qui intervient dans le fonctionnement de l'organisme lors de la biosynthèse de nombreuses substances et dans différents mécanismes, notamment comme activateur de l'hématopoïèse (Rossant, 2011).

I.2.7-Propriété anticancéreuse

Le miel peut avoir un potentiel préventif dans le développement du cancer grâce aux composés phénoliques qui exercent l'activité antioxydante. Parmi les mécanismes proposés par lesquels le miel peut exercer ses effets anticancéreux, il y a celui de l'induction de l'apoptose. D'une part, le miel induit l'apoptose dans divers types de cellules cancéreuses via la dépolarisation de la membrane mitochondriale et d'autre part, il augmente le niveau d'activation de caspases 3, p53 et proapoptotique Bax et régule aussi la baisse expression de la protéine Bcl2. Ainsi, il génère des espèces réactives de l'oxygène entraînant l'activation de p53. Le p53 à son tour module l'expression des protéines pro et anti-apoptotique (Ahmed et Othman, 2013).



*CHAPITRE II: MATÉRIEL
ET MÉTHODES*

II-Matériel et Méthodes

Différentes analyses chimiques et antibactériennes sont réalisées au niveau du laboratoire de biophysique sur dix échantillons provenant de quelques wilayas de l'Algérie.

II.1-Echantillons de miel

Le tableau I présente le codage utilisé pour différents échantillons de miels et leurs origines géographiques.

La figure 02 montre une photographie des échantillons de miels analysés.

Tableau I : Les différents échantillons de miel étudiés.

Echantillons	Provenance géographique
M1	Skikda
M2	
M3	Jijel
M4	
M5	Sétif
M6	
M7	Bejaia
M8	
M9	Tizi ousou
M10	

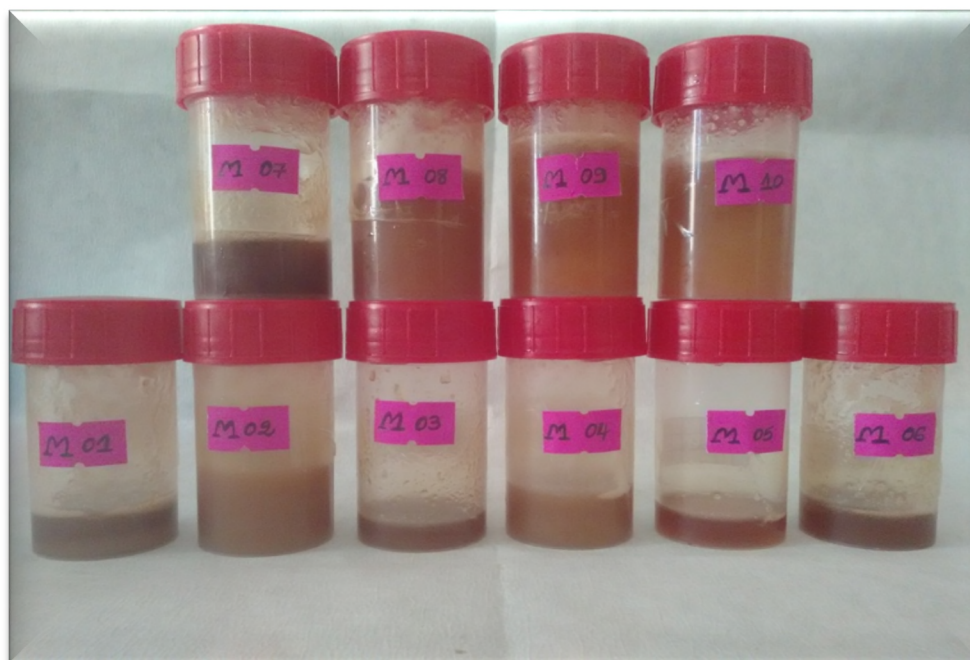


Figure 01: Photographie des échantillons de miels analysés.

II.2-Analyses polliniques

L'analyse pollinique est une méthode efficace pour la détermination de l'origine botanique. Le protocole consiste à centrifuger la solution de miel (3 g/12 ml d'eau distillée) à une vitesse 4500 tours/min pendant 10 min. Le surnagent obtenu est jeté avec précaution, puis 10 ml d'eau distillée sont ajoutées au culot. Une deuxième centrifugation est réalisée dans les mêmes conditions. Le surnagent est éliminé et le culot obtenu est homogénéisé. Un volume de 100 µl du dépôt est étalé sur une lame et recouverte avec une lamelle après séchage (Louveaux *et al.*, 1978). La lecture des lames est réalisée sous le microscope optique à grossissement (G×40) en se référant à une banque de données numériques et bibliographiques de CETAM (Centre d'Etude Technique Apicoles de Moselle, France).

II.3-Analyses physico-chimiques

II.3.1-Protéines

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode d'Azeredo *et al.* (2003). C'est une méthode colorimétrique qui permet d'avoir une coloration bleue qui reflète la formation du complexe entre le bleu de coomassie (G250) et les acides aminés aromatiques. L'intensité de la couleur augmente selon la formation du complexe protéine-bleu de coomassie. Le protocole consiste à mettre dans chaque tube à essai un volume de 100 µl de la solution de miel (50 %) ajouté par 5 ml de réactif de Bradford. Après deux minutes d'incubation à température ambiante, la lecture des absorbances est faite à 595 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de sérum-albumine bovine (BSA) par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage de BSA (figure 1, Annexe I).

II.3.2-Proline

Le dosage de la proline est réalisé selon la méthode de Bogdanov *et al.* (1997) dont le principe est basé sur l'action de la ninhydrine sur la proline en milieu acide pour donner une coloration rose au maximum d'absorbance de 510 nm, qui indique que le miel n'est pas falsifié. Le protocole consiste à introduire dans un tube à essai 0,5 ml de la solution de miel (5 %), 0,5 ml de l'eau distillé pour la solution de blanc pour le deuxième tube et 0,5 ml de la solution de standard de proline pour le troisième tube. 1 ml d'acide formique et 1 ml de la ninhydrine (3 %) sont additionnés à chaque tube. Ensuite les tubes sont fermés et placés dans un bain marie agitateur à 100 °C pendant 15 min. Les tubes sont transférés une autre fois au bain marie à 70 °C pendant 10 min.

Un volume de 5 ml de la solution de propanol-2 (50 %) est ajouté a chaque tube. Les absorbances sont lues à 510 nm après 45 min d'incubation. La teneur en proline est déterminée par cette formule.

$$\text{Proline (mg/kg)} = (E_s/E_a) * (E_1/E_2) * 80$$

Es : Absorbance d'échantillons de miel

Ea: Absorbance de la solution standard de la proline

E1 : mg de la proline pour la solution standard

E2 : Quantité de miel

80 : Facteur de dilution

II.3.3-Hydroxyméthylfurfural(HMF)

La teneur en HMF est déterminée par la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). Une quantité de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée et de 0,5 ml de la solution de carrez I (solution d'hexanocyanoférate de potassium à 15 %) et 0,5 ml de la solution de carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 %) y sont additionnés. La solution est ajustée avec de l'eau distillée jusqu'à 50 ml. Les premiers 10 ml sont éliminés et les solutions sont filtrées avec du papier-filtre whatman. Un volume de 5 ml de filtrat est additionné à 5 ml d'eau distillée (solution d'échantillons) et le même volume de filtrat est additionné à 5 ml de la solution de sodium bisulfate (0,2 %) (solution standard). Après homogénéisation, la lecture des absorbances est faite au spectrophotomètre UV à deux longueurs d'ondes 284 nm puis 336 nm. La teneur en HMF est déterminée par l'équation suivante:

$$\text{HMF (mg/kg)} = (A_{284} - A_{336}) * 149,7 * 5/W$$

A284: Absorbance à 284

A336: Absorbance à 336

W: Masse en gramme de l'échantillon de miel

149,7 : Constante

II.4-Dosages phyto-chimiques

II.4.1-Dosage des composés phénoliques totaux

Selon Naithani *et al.* (2006), la teneur en composés phénoliques totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La méthode est basée sur la formation de la couleur bleu qui reflète la réduction des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques de ce réactif de follin-ciocalteu par les composés phénoliques contenant dans le miel. Le protocole consiste à mettre dans chaque tube un volume de 100 µl de la solution de miel (10 %) ensuite l'ajout de 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (50 %, v/v) et 2 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃, 2 %).

Après incubation pendant 30 min, la lecture des absorbances est faite à 750 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (AG) par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage d'AG (figure 2, Annexe I).

II.4.2-Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon Al *et al.* (2009) qui est une méthode colorimétrique basée sur la formation d'un complexe entre l'atome d'oxygène des flavonoïdes et le chlorure d'aluminium qui donne une coloration jaunâtre.

Un volume de 1 ml de la solution de miel (50 %) est dilué avec 4 ml d'eau distillée, 0,3 ml de nitrite de sodium (NaNO_2 , 5 %) est ajouté et après 5 min 0,3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10 %) aussi est additionné, six min plus tard l'ajout de 2 ml de l'hydroxyde de sodium (NaOH , 4 %), les absorbances sont lues à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage de quercétine (figure 3, Annexe I).

II.5-Etude d'activités antioxydantes

II.5.1-Test de FRAP

Le FRAP est le test le plus utilisé pour déterminer l'activité antioxydante totale de miel basé sur la réduction du complexe ferrique 2, 4, 6 – tripyridyl-1,3,5-striazine (Fe^{3+} -TPTZ) en sa forme ferreux (Fe^{2+} -TPTZ) qui donne une coloration bleue violette au maximum d'absorbance de 593 nm (Alvarez -Suarez *et al.*, 2010). Un volume de 500 μl de la solution de miel (2,5 %) est mélangé avec 750 μl de la solution de FRAP. Après homogénéisation, l'absorbance est lue à 593 nm après incubation au bain marie pendant 5 min à 37 °C. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage (figure 5, Annexe I).

II.5.2- Pouvoir réducteur

Le test de pouvoir réducteur permet d'évaluer l'activité antioxydante par la réduction du fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux par les antioxydants présents dans le composé, ce qui donne une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle à son pouvoir réducteur (Gülçin *et al.*, 2005; Canadanovic-Brunet *et al.*, 2014).

Le protocole est effectué selon la méthode rapportée par Li et Lin (2010). Un volume de 500 µl de la solution de miel (5 %) est mélangé avec 500 µl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 500 µl de potassium hexanocyanoferrate (1 %). Après incubation pendant 20 min au bain marie à 50 °C, 500 µl de trichloroacétate (TCA, 10 %) sont ajoutés au mélange. Un volume de 500 µl est prélevé de ce mélange et dilué dans 800 µl d'eau distillée puis 100 µl de chlorure ferrique (0,1 %) y sont additionnés. Après 10 min, l'absorbance est lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 4, Annexe II).

II.5.3-DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl)

La molécule DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) est définie comme radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui est responsable sur l'apparition de la couleur violette profonde. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH et par conséquent la diminution de la couleur (Gulcin *et al.*, 2003).

Suivant la méthode décrite par Meda *et al.* (2005), un volume de 0,5 ml de la solution de miel (2,5 %) est mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH ($6 \cdot 10^{-5}$ M). Après 15 min d'incubation, la lecture est faite à 517 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = ((\text{Abse}-\text{Abse})/\text{Abse}) \cdot 100$$

Abse : absorbance du contrôle (0,5 ml de méthanol+ 1 ml de DPPH).

Abse : absorbance de l'échantillon.

II.5.4-ABTS

Le test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ (2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (Re *et al.*, 1999). Le protocole consiste à mélanger 0,1 ml de la solution de miel (2,5 %) avec 1 ml de la solution d'ABTS (7 mM). L'absorbance est lue à 734 nm après sept minutes d'incubation. Le pourcentage d'inhibition des radicaux est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(\text{Abse}-\text{Abse})/\text{Abse}] \cdot 100$$

Abse : Absorbance du contrôle (1 ml d'ABTS+ 0,5 ml d'éthanol).

Abse : Absorbance de l'échantillon.

II.6-Activités antibactériennes

L'activité antibactérienne est étudiée par deux méthodes: l'une sur un milieu solide (méthode de diffusion sur gélose) et l'autre dans un milieu liquide (technique de macrodilution pour la détermination de la CMI).

II.6.1-Souches bactériennes utilisées

Trois souches bactériennes sont utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de miel après la vérification de leurs puretés par deux méthodes:

- Méthode macroscopique (observation de la forme et l'aspect des colonies).
- Méthode microscopique (coloration de gramme).

Le tableau suivant représente les souches bactériennes utilisées.

Tableau II: souches bactériennes utilisées.

Souches bactériennes	Groupe bactérien	Morphologie et mode d'association
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Gram-	Coccobacilles en amas
<i>Staphylococcus aureus</i> FRI 56	Gram+	Cocci en chaînettes
<i>Staphylococcus aureus</i> LGA 251	Gram+	Cocci en chaînettes

II.6.2-Méthode de diffusion sur gélose

L'activité antibactérienne est étudiée selon la méthode de diffusion sur gélose décrite par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). Le milieu utilisé est le mueller-Hinton agar préparé et coulé dans des boîtes de Petrie stériles.

Les différentes souches bactériennes sont passées par plusieurs étapes avant d'arriver à l'ensemencement. Les souches bactériennes sont repiquées dans un milieu de culture liquide et incubée à 37 °C pendant 6h pour *E. coli* et pendant 18h pour les autres souches jusqu'à l'obtention d'un trouble. L'enrichissement est fait à partir de trouble pendant 24h. Une culture de 18h est réalisée à partir de ce dernier à 37 °C. Un inoculum est préparé par l'ajout de quelques colonies de bactéries à une solution saline stérile (NaCl, 0,9 ‰) afin d'avoir une absorbance entre 0,08 et 0,1 à 620 nm qui correspond à une densité cellulaire initiale d'environ 10⁶ CFU/ml. La suspension bactérienne est ensemencée par écouvillonnage sur les boîtes de Petrie.

Des disques de papier whattman stériles sont déposés à égale distance les uns des autres et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose. Un volume de 50 µl de chaque concentration de miel (100 %, 50 %) est déposé sur ces disques.

Un volume de 50 µl de l'eau distillée stérilisé est déposé comme étant un témoin négatif. puis les incubé à 37 °C pendant 24h. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle.

Les disques d'antibiotiques qui sont déjà sélectionnés par l'antibiogramme pour chaque souche sont aussi déposés sur la gélose. Chaque test est répété trois fois. Après 24 h d'incubation à 37 °C, le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en mm.

II.6.3-Technique de macro-dilution pour la détermination de la CMI

Les CMI ont déterminées par la méthode décrite par Patton *et al.* (2006). Une série de cinq dilutions d'un gradient de 3 est effectuée pour chaque solution de miel d'une concentration initiale de 2 g/ 2 ml (tableau III).

Tableau III : Différentes dilutions pour chaque échantillon de miel.

Dilution	Préparation	Concentration
1/1	Solution mère (2 g de miel dans 2 ml de bouillon nutritif stérile)	1000 mg/ml
1/2	500 µl de la solution mère + 500 µl de bouillon nutritif stérile	500 mg/ml
1/4	250 µl de la solution mère + 750 µl de bouillon nutritif stérile	250 mg/ml
1/8	125 µl de la solution mère + 875 µl de bouillon nutritif stérile	125 mg/ml
1/16	62,5 µl de la solution mère + 937,5 µl de bouillon nutritif stérile	62,5 mg/ml

Les souches bactériennes sont tenues dans un milieu de culture gélosé pendant 18 à 24h. Une colonie bactérienne est mise dans 5 ml de bouillon de Muller Hinton afin d'avoir une absorbance dans l'intervalle de 0,08-0,1 à 620 nm qui correspond à une densité de 10⁶ UFC/ml. Une dilution de 1/10 pour l'inoculum est réalisée pour l'obtention d'une densité cellulaire de 10⁵ UFC/ml.

Un volume de 10 µl de la suspension bactérienne est inoculé dans 1 ml de chaque dilution de miel. Dans un tube à essai, l'inoculation de 1ml de bouillon nutritif avec 10 µl de la suspension bactérienne a servi de contrôle. Les CMI sont déterminées à la fois par un examen visuel et par un dosage spectrophotométrique à 620 nm.

II.6.3.1-Examen visuel

Les CMI des miels testés est évaluée par l'observation à l'œil nu et elle est obtenue dans des intervalles qui sont déterminés par l'inversion de résultat entre deux doses voisines: absence d'un trouble suivie de sa présence (présence de la croissance bactérienne).

II.6.3.2-Bio-essai spectrophotométrique

La densité optique est déterminée par un spectrophotomètre à 620 nm avant l'incubation (T_0), les cultures sont incubées pour 24 h dans l'obscurité à 37 °C avec agitation constante pour empêcher l'adhérence et l'agglutination. Après 24 h d'incubation, les densités optiques sont de nouveau déterminées (T_{24}) et enregistré. La densité optique pour chaque dilution à T_0 est soustraite de la densité optique pour chaque dilution à T_{24} .

Le pourcentage d'inhibition est déterminé en utilisant la formule:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = 1 - (\text{Abs test}/\text{Abs contrôle}) \times 100$$

II.7-Analyses statistiques

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de 3 essais, le programme Microsoft office Excel 2007 est utilisé pour calculer les moyennes et les écartypes. Le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) entre les différents échantillons de miel. Les corrélations entre les différents paramètres analysés sont calculées avec la statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation. Les résultats obtenus sont classés par ordre décroissant $a > b > c > d > e > f > g > h > i$ et les valeurs obtenues pourtant la même lettre ne présentent aucune différence du point de vue statistique. En outre, l'analyse en composantes principales (ACP) est réalisée afin de mieux interpréter les données sur un espace réduit et pour mieux visualiser les corrélations existantes entre les différents paramètres.

Les CMI de chaque échantillon de miel sont déterminées avec le logiciel STATISTICA 7.1 à partir de tracé de pourcentage d'inhibition en fonction de Log (Concentration %, p/v) par l'ajustement logarithmique de la courbe dose-réponse dont l'équation d'ajustement est donnée par :

$$\% \text{ d'inhibition} = a \log_{10} (\text{concentration } \%) + b$$

a : le coefficient directeur de régression de % d'inhibition en concentration



*CHAPITRE III: RÉSULTATS
ET DISCUSSION*

III.1- Analyses polliniques

L'analyse pollinique est essentielle à la détermination de l'origine botanique et géographique des miels. Elle repose sur l'identification et la quantification des pollens présents dans le miel en se référant à une banque de références polliniques (Makhloufi *et al.*, 2015).

Les grains de pollens identifiés sont classés selon leurs fréquences dans les catégories suivantes: pollens dominants (> 45 %); pollens d'accompagnements (16-45 %); pollens minoritaires (entre 15 et 3 %) et pollens très minoritaires (< 3) (Ouchemoukh *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2013).

Le tableau IV résume l'ensemble qualitatif et quantitatif des pollens échantillons de miels. Le pollen dominant est trouvé dans six échantillons de miel [miels monofloraux (M2, M3, M4, M8, M9 et M10)]. Quatre échantillons de miels ne possèdent pas de pollens dominants [miels polyfloaux (M1, M5, M6 et M7)].

Les miels monofloraux possèdent des pollens dominants appartenant à trois familles botaniques: *Fabaceae* (M2, M4 et M10), *Myrtaceae* (M3) et *Apiaceae* (M8 et M9). Ces résultats se concordent avec ceux d'Ouchemoukh (2012) qui a montré que *Fabaceae* et *Myrtaceae* sont parmi les familles végétales mellifères qui prédominent les miels Algériens.

Les miels polyfloraux renferment des pollens d'accompagnant dont: *Apiaceae* et *Rhamnaceae* (M1), *Apiaceae* et *Fabaceae* (M5), *Ericaceae* (M6), *Fabaceae* et *Ericaceae* (M7). La présence des miels polyfloraux peut s'expliquer par l'absence de monocultures à grande échelle dans les régions où la récolte du miel est effectuée. Le contenu pollinique du miel diffère selon la richesse botanique de la région, les conditions climatiques et la distance de la ruche au champ de la fleur (Makhloufi *et al.*, 2010 ; Ouchemoukh, 2012).

Tous les échantillons analysés présentent des pollens minoritaires et très minoritaires, à l'exception faite pour M5 et M7 concernant les très minoritaires dont les familles représentées sont: *Asteracrae*, *Rosaceae*, *Myrtaceae*, *Lamiaceae*, *Brassicaceae*, *Teliaceae*, *Rhamnaceae*, *Cistaceae*, *Fabaceae*, *Echium*, *Chénopodiaceae*, *Borogonaceae*, *Rutaceae* et autres. Les familles les plus répondues sont *Asteraceae*, *Rosaceae* pour certains miels Algériens (Chefrour *et al.*, 2007).

Tableau IV: Spectres polliniques et pourcentages de pollens des miels analysés.

Miels	Origine botanique	Pollens dominants ($\geq 45\%$)	Pollens d'accompagnements (15-45%)	Pollens minoritaires (3-15%)	Pollens très minoritaires ($\leq 3\%$)
M1	Polyflorale	Absence	Rhamnaceae (31 %) Apiaceae (19 %)	Asteraceae (14 %) Mimosaceae (6 %) Ericaceae (8 %) Lamiaceae (6 %)	Tiliaceae (3 %) Rutaceae (3 %) Cistaceae (2 %)
M2	Monoflorale	Fabaceae (49 %)	Apiaceae (31 %)	Ericaceae (9 %) Rosaceae (7 %)	Fagaceae (1 %) Borogonaceae (1%) Lamiaceae (1 %) Mimosaceae (1 %)
M3	Monoflorale	Myrtaceae (61 %)	Fagaceae (17 %)	Rhamnaceae (10 %) Fabaceae (5 %) Cistaceae (5 %)	Rosaceae (2 %)
M4	Monoflorale	Fbaceae (46 %)	Apiaceae (37 %)	Rhamnaceae (7 %) Rosaceae (4 %)	Ericaceae (2 %) Tiliaceae (1 %) Asteraceae (2 %) Cistaceae (2 %) Lamiaceae (2 %)
M5	Polyflorale	Absence	Apiaceae (20 %) Fabaceae (25 %)	Chénopodiaceae (15 %), Brassicaceae (13 %), Rhamnaceae (10 %), Teliaceae (5 %) Myrtaceae (5 %) Rosaceae (5 %)	Absence
M6	Polyflorale	Absence	Ericaceae (22 %)	Myrtaceae (15 %) Rosaceae (11 %) Fabaceae (11 %) Rhamnaceae (10 %) Apiaceae (7 %) Cistaceae (4 %)	Mimosaceae (2 %) Brassicaceae (2 %) Asteraceae (2 %) Tiliaceae (2 %)
M7	Polyflorale	Absence	Fabaceae (42 %) Ericaceae (19 %)	Asteraceae (15 %) Rhamnaceae (9 %) Autre (6 %) Rosaceae (5 %)	Absence
M8	Monoflorale	Apiaceae (69 %)	Fabaceae (21 %)	Brassicaceae (8 %)	Myrtaceae (2 %)
M9	Monoflorale	Apiaceae (45 %)	Fabaceae (22 %)	Rhamnaceae (10 %) Rosaceae (10 %) Asteraceae (5 %) Myrtaceae (4 %)	Lamiaceae (2 %) Ericaceae (1 %) Echium (1 %)
M10	Monoflorale	Fabaceae (46 %)	Apiaceae (44 %)	Rhamnaceae (5 %)	Brassicasse (2 %) Asteraceae (2 %) Rosaceae (2 %) Myrtaceae (1 %)

III.2- Paramètres physico-chimiques

Les résultats obtenus pour quelques paramètres physico-chimiques, les teneurs en antioxydants ainsi que les activités antioxydantes sont résumés dans le tableau V.

Tableau V: Résultats des paramètres physico-chimiques, teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes des miels étudiés.

Analyses physico-chimiques					Teneur en antioxydants et activités antioxydantes					
E	Origine Botanique	Protéine (mg EBSA/100g)	Proline (mg/kg)	HMF (mg/kg)	CPT (mg EAG/100g)	Flav (mg EQ/100g)	DPPH (%)	ABTS (%)	PR (mg EAG/100g)	FRAP (mg EAG/100g)
M2	Monoflorales	91,98±0,73 ^d	1086,17±11,25 ^b	42,29±0,37 ^b	86,25±1,07 ^h	9,08±0,66 ^h	11,74±0,03 ⁱ	16,85±0,65 ^g	29,60±0,34 ^{fg}	41,70±0,47 ^d
M3		56,27±0,58 ^g	497,33±5,01 ⁱ	26,27±0,37 ^e	201,32±0,18 ^a	24,15±0,06 ^b	34,09±0,16 ^c	51,40±1,08 ^b	71,44±3,21 ^a	52,79±1,25 ^b
M4		70,85±1,17 ^{ef}	936,17±1,26 ^d	35,48±0,45 ^d	87,51±0,54 ^g	10,47±0,25 ^g	16,85±0,63 ^f	17,93±1,30 ^g	30,94±0,66 ^f	37,95±0,32 ^e
M8		111,81±1,02 ^b	770,00±5 ^f	12,87±1,35 ^f	100,04±1,25 ^f	21,82±0,13 ^c	5,57±0,35 ^j	24,51±0,32 ^f	28,36±0,34 ^{gh}	21,24±0,16 ^h
M9		72,88±0,58 ^e	613,50±3,77 ^g	45,51±0,15 ^a	86,97±0,72 ^{gh}	8,39±0,06 ^h	15,46±0,09 ^g	23,76±0,22 ^f	29,18±0,36 ^{fg}	30,07±0,39 ^f
M10		68,37±0,15 ^f	811,17±1,26 ^e	35,93±0,60 ^d	73,91±0,18 ⁱ	5,23±0,06 ⁱ	13,28±0,11 ^h	23,43±0,11 ^f	26,77±0,21 ^h	24,99±0,16 ^g
M1	Polyflorales	55,83±1,60 ^g	597,33±2,52 ^h	13,25±0,07 ^f	111,84±0,9 ^e	13,56±0,32 ^f	36,60±0,49 ^b	38,63±0,16 ^d	38,98±0,76 ^d	52,09±0,39 ^b
M5		130,90±7,29 ^a	1068,17±5,13 ^c	39,14±0,22 ^c	141,55±0,59 ^c	15,68±0,96 ^e	28,89±0,03 ^d	45,79±0,65 ^c	46,22±0,34 ^c	52,17±0,83 ^b
M6		69,68±0,58 ^{ef}	598,67±6,25 ^h	11,67±0,60 ^g	127,24±0,54 ^d	18,29±0,88 ^d	25,52±0,02 ^e	36,29±1,08 ^e	36,70±0,14 ^e	50,45±0,31 ^c
M7		100,73±0,73 ^c	1116,17±1,26 ^a	8,68±0,30 ^h	168,04±0,5 ^b	25,66±0,19 ^a	46,72±0,19 ^a	61,23±0,97 ^a	55,61±0,07 ^b	59,90±0,08 ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± écartype (n= 3).

Les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différents.

CPT: composés phénoliques totaux , Flav: flavonoïdes, PR: pouvoir réducteur.

III.2.1-Protéines

Les miels analysés présentent des concentrations en protéines allant de $55,83 \pm 1,60$ (M1) à $130,30 \pm 7,29$ (M5) mg EBSA par 100 g. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Chefrour *et al.* (2007) ($220-960$ mg/100 g) et proche de celles de Ouchemoukh (2012) ($45,26$ à $251,27$ mg/100 g).

D'après l'analyse statistique, les échantillons M1 et M3; M4 et M6 ne montrent aucune différence significative concernant le taux en protéines. Par contre, les autres échantillons de miels (M2, M5, M7, M8, M9 et M10) sont significativement différents.

Les protéines du miel proviennent des grains de pollen, du nectar et de sécrétions de l'abeille ouvrière (Hermosin *et al.*, 2003). Ceci explique bien les différences dans les taux de protéines des miels analysés. Par conséquent, ces taux dépendent de l'origine florale du miel et de la force de colonies d'abeilles.

III.2.2-Proline

La proline est un indicateur de maturité et de falsification du miel. En générale son taux ne doit pas être inférieur à 180 mg/kg (codex alimentarius, 2001).

Les différents miels analysés ont une teneur en proline qui varie de 497 à 1116,17 mg/kg. Par conséquent, ces miels sont mûrs et authentiques. Ces valeurs obtenues entrent dans l'intervalle rapporté par Ouchemoukh (2012) ($302,33 \pm 2,52$ à $1420,07 \pm 16,5$ mg/kg) sur les miels algériens.

L'analyse de la variance montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les échantillons M1 et M6. Par ordre décroissant les miels sont classés par la teneur en proline comme suit: $M7 > M2 > M5 > M4 > M10 > M8 > M9 > M3$.

III.2.3-Hydroxyméthylfulfural

L'HMF est un paramètre utilisé pour l'évaluation de la fraîcheur et le surchauffage de miel et en général son taux ne doit pas dépasser 40 mg/kg (Doukani *et al.*, 2014).

La teneur en HMF des différents miels analysés varie de $8,68 \pm 0,30$ (M7) à $45,29 \pm 0,37$ mg/kg (M9). Cet intervalle entre dans celui rapporté par Doukani *et al.* (2014) ($5,3- 55,2$ mg/kg) et Bettar *et al.* (2015) ($2,54- 85,48$ mg/kg) sur les miels Algériens. Les résultats indiquent que ces miels analysés sont frais.

Les échantillons de miels M1 et M8; M4 et M10 ne présentent aucune différence significative de point de vue statistique. Cependant, les autres échantillons M2, M3, M9, M5, M6 et M7 sont significativement différents.

III.3-Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes

II.3.1- Antioxydants

II.3.1.1- Teneur en composés phénoliques totaux

Les polyphénols sont un groupe important de composés déterminant l'aspect et les propriétés fonctionnelles du miel (Alvarez-suarez *et al.*, 2010).

Les échantillons de miel analysés enregistrent une teneur de composés phénoliques totaux qui varie de $73,91 \pm 0,72$ (M10) à $201,32 \pm 0,18$ (M3) (mg EAG/100 g). Ces résultats sont supérieurs à ceux de Bueno-Costa *et al.* (2016) (0,49 à 65 mg EAG/100 g). Cependant, ils sont inférieurs aux résultats de Doukani *et al.* (2014) (166,11 à 427,14 mg EAG/100g) pour les miels Algériens.

Les miels M2, M4 et M9 ne présentent pas une différence significative dans leur concentration en phénols totaux. Par contre, les échantillons M1, M3, M5, M6, M7, M8 et M10 enregistrent une différence significative dans la teneur en polyphénols.

III.3.1.2- Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés à faible poids moléculaire responsables de l'arôme et du potentiel antioxydant du miel (Mouniruzzman *et al.*, 2014).

Selon les résultats obtenus, la teneur en flavonoïdes varie de 5,23 (M10) à 25,66 mg EQ/100 g (M7) mg EQ /100 g. Ces résultats entrent dans l'intervalle obtenu par Ouchemoukh (2012) (0,30 à 35,61 mg EQ/100 g) et supérieur à celui de Khalil *et al.* (2012) (2,70 à 7,17 mg/100 g).

L'échantillon M7 présente le taux en flavonoïdes le plus élevé (25,66 mg EQ/100 g) et qui diffère significativement de ceux des autres miels analysés (M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8 et M10). Néanmoins, les deux autres échantillons M2 et M9 ne présentent aucune différence significative dans la teneur en ces composés.

La variabilité des résultats obtenues est due à la concentration et au type de substances phénoliques du miel qui dépendent de l'origine géographique et surtout de l'origine florale (Doukani *et al.*, 2014).

III.3.2- Activité antioxydante

III.3.2.1- Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur permet de montrer l'activité antioxydante des échantillons testés par la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron. Cette activité dépend de la teneur du miel en différents composés phénoliques (Ouchemoukh, 2012).

Les échantillons de miels analysés présentent un pouvoir réducteur dans l'intervalle allant de 26,77 (M10) à 71,44 (M3) avec une moyenne de 39,38 mg EAG/100 g. Ces résultats sont proches de l'intervalle rapporté par Canadanovic-Brunet *et al.* (2014) (39 à 120 mg EAG / 100 g).

Le miel M3 possède la plus forte activité antioxydante avec une valeur de 71,44 mg EAG/100 g, ce qui traduit sa forte teneur en polyphénols. Les échantillons de miels M4, M2, M9 et M8 ne présentent aucune différence significative et le reste des échantillons (M7, M5, M1 et M6) sont significativement différents avec ce potentiel antioxydant.

III.3.2.2- Test de FRAP

Le test de FRAP évalue la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Moniruzzaman *et al.*, 2013). Il est lié directement à la présence des antioxydants dans différents échantillons de miel (Khalil *et al.*, 2012).

Les résultats obtenus ont une moyenne de 42,335 (mg EAG/100 g) avec un intervalle de 21 (M8) à 50 (M7) (mg EAG/100 g). Ces résultats montrent la variété de la capacité à réduire le fer qui est liée directement à la différence de la teneur en antioxydants pour chaque échantillon. Ces valeurs sont inclus dans l'intervalle de Doukani *et al.* (2014) (8 à 240 mg EAG/100 g).

Les échantillons M3, M5 et M1 ne présentent aucune différence significative dans leur capacité réductrice. Le reste des échantillons sont classé comme suit par rapport à la capacité réductrice: M6>M2>M4>M9>M10>M8.

III.3.2.3- DPPH

L'activité antiradicalaire consiste à mettre le radical DPPH en présence d'antioxydants afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (Sousa *et al.*, 2016).

Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH pour les échantillons de miels analysés varie entre 5,75 % (M8) à 46,72 % (M7) avec une moyenne de 23,472 %. Ces résultats sont différents de ceux de Doukani *et al.* (2014) (3,42 à 22 %) et wilczynska (2014) (47,2 à 83,4 %).

Concernant l'activité antiradicalaire de DPPH: Il existe une différence très hautement significative entre les échantillons analysés ($p < 0,001$): $M7 > M1 > M3 > M5 > M6 > M4 > M9 > M10 > M2 > M8$.

La teneur en antioxydants varie d'un miel à un autre donc la capacité de piéger les radicaux libres est distincte.

III.3.2.4-ABTS

Le pourcentage d'inhibition des échantillons varie de 16,85 % à 61,23 % avec une moyenne de 33,72 %. Ces résultats peuvent être comparés à ceux de Isla *et al.* (2011) (65 à 80 %) et Perna *et al.* (2013) (60 à 83 %) qui sont totalement inférieurs. Par contre, ils sont inclus dans l'intervalle de Wilszynska (2014) (6 à 79 %).

Les miels M8, M9 et M10; M4 et M2 ne présentent aucune différence significative dans l'activité antiradicalaire d'ABTS.

Les propriétés antioxydantes du miel sont d'une part, liés aux substances enzymatiques (catalase, glucose oxydase et la peroxydase) et d'autre part, elle est liée aux composés non enzymatiques (acide ascorbique, caroténoïdes, acides aminés, protéines, flavonoïdes et acides phénoliques). La quantité et le type de ces antioxydants dépendent en grande partie de la variété du miel (Khalil *et al.*, 2012).

III.4- Activité antibactérienne

III.4.1- Méthode de diffusion sur gélose

L'évaluation de l'activité antibactérienne est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des zones d'inhibition de deux différentes concentrations de miel (50 % et 100 %). Les résultats obtenus sont résumés dans les figures 2 et 3.

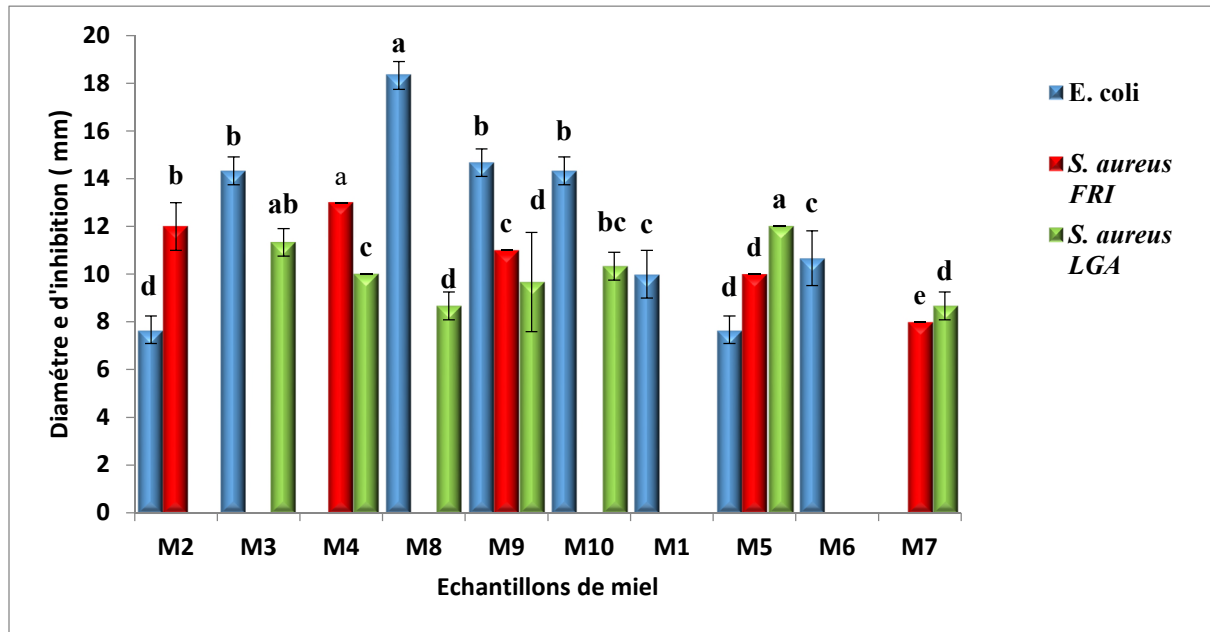


Figure 02: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en mm du miel (100 %) sur les souches testées (*E. coli*, *S. aureus FRI*, *S. aureus LGA*).

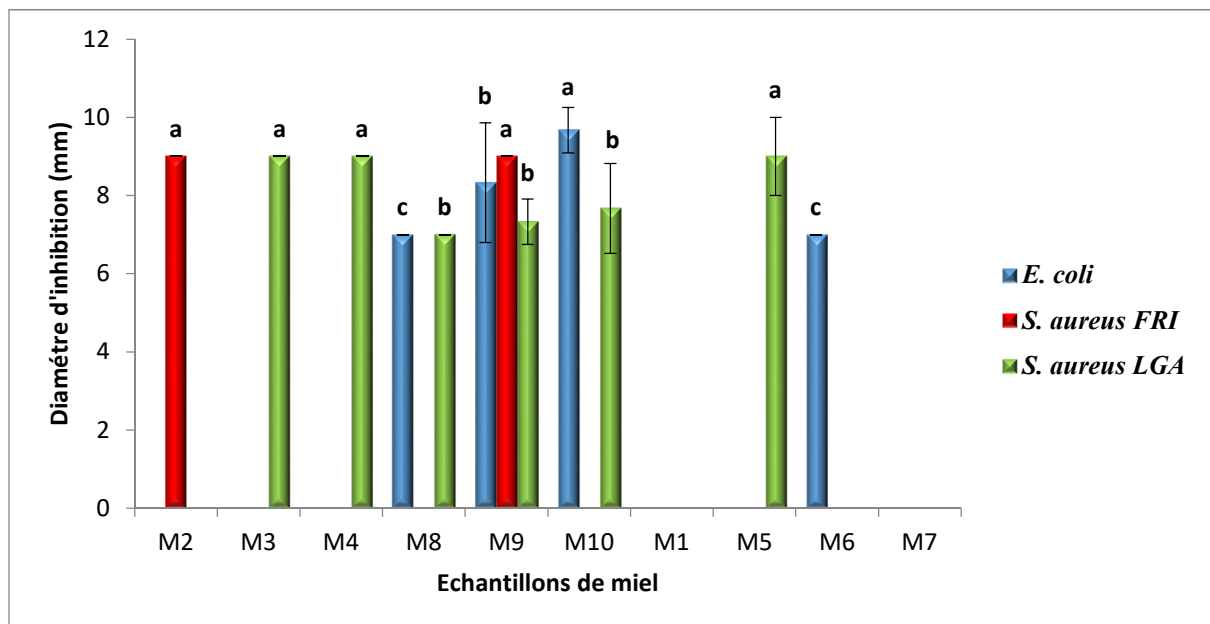


Figure 03 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en mm du miel (50 %) sur les souches testées (*E. coli*, *S. aureus FRI*, *S. aureus LGA*).

Les miels testés à concentration de 100 % ont un effet antibactérien envers la souche *Escherichia coli* avec un diamètre qui varie de 6 à 18,33 mm (figure 02). L'échantillon M8 présente l'effet inhibiteur le plus élevé. Aussi, les échantillons M9, M10 et M3 ont une bonne activité antibactérienne et ils ont le même diamètre ($p < 0,05$).

Ces diamètres sont inférieurs à ceux obtenus avec les contrôles positifs amikacine (31,66mm), céphoxitine (13,66mm) et supérieur à celui de l'acide nalidixique (0 mm) (Annexe VI). Les valeurs obtenues sont incluses dans l'intervalle rapporté par Merah *et al.* (2010) (00 à 24 mm).

Les échantillons M6 et M1; M5 et M2 ne montrent aucune différence significative par rapport à leurs activités. Les miels M4 et M7 ne possèdent pas une activité antibactérienne. Le diamètre des zones d'inhibition à 50 % de concentration varie de 6 à 9 mm (M10) (figure 03). Les miels M1, M2, M3, M4, M5 et M7 n'enregistrent pas d'effet antibactérien à cette concentration.

D'après la figure 03, les résultats montrent que *S. aureus* FRI présente une résistance vis-à-vis de tous les échantillons à concentration de 50 % sauf pour les miels M2 et M9 qui ne présentent pas une différence significative avec un diamètre d'inhibition de 9 mm. Une activité est observée à 100 % pour les miels M4, M2, M9, M5 et M7 avec des diamètres 13 mm > 12 mm > 11 mm > 10 mm > 8 mm, respectivement ($p < 0,05$) (figure 02). Le reste des miels ne marquent aucune activité (M1, M3, M6, M8, M10). Ces diamètres sont inférieurs à ceux obtenus avec les contrôles positifs : céphoxitine, acide fusidique, ciprofloxacine dont les diamètres sont de $22 \pm 2,64$ mm; $20,66 \pm 3,51$ mm; 28 ± 2 mm, respectivement (Annexe VI).

Staphylococcus aureus LGA est moyennement sensible aux échantillons des miels testés à deux différentes concentrations. L'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec l'échantillon de miel M5 avec un diamètre de 12 mm à 100 % et 9 mm à 50 % (figure 02 et 03). Les miels M3, M4 et M10; M7, M8 et M9 ne présentent pas une différence significative. L'absence d'effets antibactériens est observé pour le reste des échantillons (M1, M2 et M6) à ces deux concentrations. Ces diamètres sont inclus à ceux mesurés par Voidarou *et al.* (2011) (0,9 à 13 mm).

III.4.2- Technique de macro-dilution

Les résultats de l'examen visuel et les valeurs de la CMI du miel pour les trois souches bactériennes sont exprimées dans les tableaux VI, VII et VIII. Les limites antibactériennes dans la méthode spectrophotométrique sont rapportées comme des concentrations minimales inhibitrices, exprimées comme CMI₀ (concentration minimale pour laquelle le résultat est la non inhibition de la croissance bactérienne), CMI₅₀ (concentration pour laquelle le résultat est l'inhibition de 50 % de la croissance bactérienne appelée aussi la réponse médiane) et CMI₁₀₀ (concentration minimale pour laquelle le résultat est l'inhibition de 100 % de la croissance bactérienne).

Tableau VI : Résultats des CMI sur *E. coli*.

E	Origine botanique	<i>E. coli</i>			
		Examen visuel	Bio-essai spectrophotométrique		
		CMI (%)	CMI ₀ (%)	CMI ₅₀ (%)	CMI ₁₀₀ (%)
M2	Monoflorales	50%≥CMI>25%	2,24±0,13 ^{de}	7,92±0,10 ^f	28,08±0,89 ^f
M3		100%≥CMI>50%	11,97±0,29 ^a	28,04±6,51 ^a	68,59±33,74 ^{bcde}
M4		100%≥CMI>50%	2,56±0,26 ^{cde}	13,91±0,62 ^{cd}	76,50±14,59 ^{bc}
M8		50%≥CMI>12,5%	4,75±1,18 ^{bcd}	18,18±2,64 ^{bc}	70,07±2,87 ^{bcd}
M9		25%≥CMI>12,5%	0,38±0,05 ^e	9,28±0,27 ^{ef}	221,76±10,65 ^a
M10		25%≥CMI>12,5%	5,56±1,05 ^b	17,56±2,13 ^{bc}	55,67±2,90 ^{cde}
M1	Polyflorales	50%≥CMI>25%	9,97±4,61 ^a	28,09±3,65 ^a	86,73±21,84 ^b
M5		100%≥CMI>50%	10,80±0,67 ^a	21,68±0,76 ^b	44,48±1,60 ^{ef}
M6		100%≥CMI>50%	3,09±0,06 ^{bcd}	12,61±0,05 ^{de}	51,39±1,28 ^{def}
M7		100%≥CMI>50%	4,91±0,35 ^{bc}	21,99±0,48 ^b	92,60±9,69 ^b

Tableau VII : Résultats des CMI sur *S. aureus* FRI.

E	Origine botanique	<i>S. aureus</i> FRI			
		Examen visuel	Bio-essai spectrophotométrique		
		CMI (%)	CMI ₀ (%)	CMI ₅₀ (%)	CMI ₁₀₀ (%)
M2	Monoflorales	50%≥CMI>25%	4,97±0,31 ^{de}	17,28±0,06 ^{bc}	60,15±3,34 ^e
M3		50%≥CMI>25%	9,32±1,83 ^a	30,19±2,60 ^a	110,40±3,47 ^b
M4		50%≥CMI>25%	5,47±0,37 ^{cde}	25,74±0,18 ^b	121,33±6,48 ^a
M8		25%≥CMI>12,5%	4,32±1,15 ^{ef}	15,96±2,16 ^{bc}	59,76±0,06 ^e
M9		12,5%≥CMI>6,25%	0,07±0,02 ^h	2,56±0,21 ^c	89,31±1,94 ^c
M10		12,5%≥CMI>6,25%	1,88±0,17 ^g	9,79±0,81 ^{bc}	50,98±3,92 ^f
M1	Polyflorales	25≥CMI >12,5%	7,42±0,17 ^b	23,07±0,70 ^{bc}	71,70±2,71 ^d
M5		50%≥CMI>25%	3,66±0,00 ^f	13,28±0,17 ^{bc}	48,16±1,21 ^f
M6		50%≥CMI>25%	5,86±0,22 ^{cd}	19,31±0,72 ^{bc}	63,60±2,38 ^e
M7		50%≥CMI>25%	6,69±0,50 ^{bc}	24,38±1,12 ^{bc}	88,87±1,56 ^c

Tableau VIII: Résultats des CMI sur *S. aureus* LGA

E	Origine botanique	<i>S. aureus</i> LGA			
		Examen visuel	Bio-essai spectrophotométrique		
		CMI (%)	CMI ₀ (%)	CMI ₅₀ (%)	CMI ₁₀₀ (%)
M2	Monoflorales	50%≥CMI>25%	4,10±0,20 ^b	14,89±0,06 ^{cd}	54,16±2,11 ^e
M3		50%≥CMI>25%	4,47±0,20 ^a	19,03±0,22 ^b	80,96±1,78 ^b
M4		50%≥CMI>25%	3,95±0,08 ^b	20,03±0,51 ^a	101,77±7,19 ^a
M8		50%≥CMI>25%	0,89±0,30 ^d	7,06±0,80 ^e	58,06±7,10 ^{de}
M9		25%≥CMI>12,5%	0,26±0,03 ^e	4,10±0,06 ^f	64,77±5,37 ^{cd}
M10		25%≥CMI>12,5%	0,93±0,11 ^d	7,78±0,37 ^e	65,26±1,76 ^c
M1	Polyflorales	50%≥CMI>25%	2,31±0,36 ^c	14,16±0,95 ^d	87,29±1,91 ^b
M5		12,5%≥CMI>6,25%	0,10±0,01 ^e	2,09±0,09 ^g	42,57±1,31 ^f
M6		100%>CMI>50%	0,19±0,02 ^e	3,20±0,13 ^f	53,12±2,39 ^e
M7		50%≥CMI>25%	2,28±0,28 ^c	15,17±1,06 ^c	100,99±1,83 ^a

Les résultats de l'examen visuel montrent que la CMI varie de 12,5 à 100 % pour *E. coli* (tableau VI). Par contre, pour les bactéries de Gram+, elles oscillent entre 6,25 à 50 % pour *S. aureus* FRI (tableau VII) et de 6,25 à 100 % pour *S. aureus* LGA (tableau VIII).

D'après le tableau VI, la valeur de la CMI₀ pour *E. coli* est de 5,62 % ; 17,92 % pour la CMI₅₀ et de 79,58 % pour la CMI₁₀₀. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Patton *et al.* (2006) sur le miel de Manuka pour les CMI₀, CMI₅₀ et CMI₁₀₀ dont les valeurs sont 0,18; 5,60 et 12,5 % respectivement. La CMI₁₀₀ obtenu sur les miels Algériens est supérieure à la CMI₁₀₀ (12,5 %) obtenu par Kateel *et al.* (2017) sur les miels de l'inde.

Les CMI₀ des échantillons de miels M1, M3 et M5; M6, M7 et M8; M2 et M4 ne présentent aucune différence significative. Les échantillons M9 et M10 sont significativement différents. Les échantillons du miel M1 et M3; M8 et M10; M5 et M7 ne montrent pas une différence significative dans leur CMI₅₀. Par contre M2, M4, M9 et M6 sont significativement différents. À CMI₁₀₀, Les échantillons M1 et M7 ne présentent pas une différence significative. Le reste des échantillons sont significativement différents.

Staphylococcus aureus FRI montre une valeur de CMI₀ de 4,97 % ; 18,16 % pour la CMI₅₀ et 76,43 % pour la CMI₁₀₀ (tableau VII). Le résultat de la CMI₁₀₀ est supérieur à la CMI₁₀₀ (50 %) obtenu par Almasaudi *et al.* (2016) sur les miels de Manuka.

Tous les échantillons du miel sont significativement différents à la CMI₀. Les échantillons de miels M1, M2, M4, M5, M6, M7, M8 et M10 ne montrent pas une différence significative dans leur CMI₅₀ sauf pour les miels M3 et M9 qui sont significativement différents. À la CMI₁₀₀, les échantillons de miels M7 et M9; M2, M8 et M6; M10 et M5 ne manifestent pas une différence significative. L'échantillon de miel M4 est significativement différent de l'échantillon de miel M3.

La valeur de CMI₀ pour *S. aureus* LGA est de 1,95 % ; 10,75 % pour la CMI₅₀ et 70,90 % pour la CMI₁₀₀ (tableau VIII). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Patton *et al* (2006) sur le miel de Manuka pour les CMI₀, CMI₅₀, CMI₁₀₀ dont les valeurs sont 0,05; 0,78 et 6,25 %, respectivement. La CMI₁₀₀ est proche de la CMI₁₀₀ (30 à 70 %) obtenu par Ahmed *et al.*(2012) sur les miels Algériens.

À la CMI₀, l'échantillon de miel M3 est significativement différent des autres échantillons. Les échantillons M2 et M4; M8 et M10; M1 et M7; M5, M9 et M6 ne présentent pas une différence significatives. Par contre, les miels M1, M2, M3, M4, M5 et M7 sont significativement différents. Les échantillons de miels M2 et M6; M4 et M7; M3 et M1 ne présentent pas une différence significative dans leur CMI₁₀₀, le reste des échantillons sont significativement différents.

La majorité des valeurs des CMI₁₀₀ obtenues par la méthode spectrophotométrique ne sont pas incluses dans les intervalles des CMI obtenues par l'examen visuel. Ceci détermine que l'examen visuel est peu fiable dans certaines situations dû à sa subjectivité associée à la détermination visuelle de la présence ou non d'un trouble.

La variation de l'activité antibactérienne est due d'une part à la réponse de la bactérie vis-à-vis le miel et d'autre part à la composition chimique de ce produit de la ruche: l'acidité, le taux du peroxyde d'hydrogène, la catalase et la glucose oxydase ainsi que la qualité et la quantité des antioxydants présents dans les échantillons analysés.

Courbes doses-réponses

Les courbes doses-réponses sont obtenues par le tracé de pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction de log des concentrations comme le montre les figures 04, 05 et 06.

Le but de la courbe dose-réponse est d'établir le profil de réponse vis-à-vis la souche bactérienne pour chaque échantillons de miel. En outre, elle permet de savoir la concentration de miel qui donne le pourcentage d'inhibition le plus élevé.

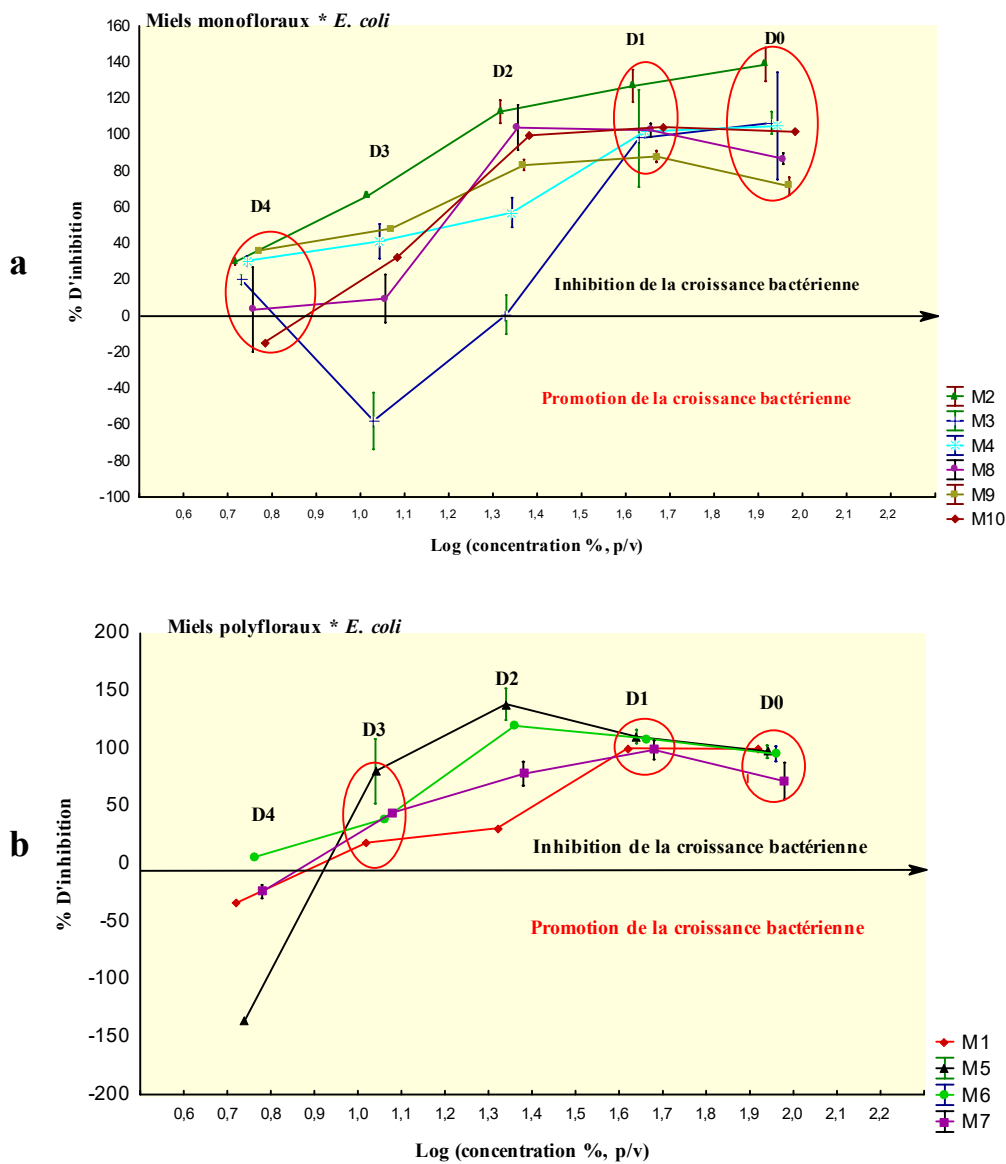


Figure 04 : Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre *E. coli*.

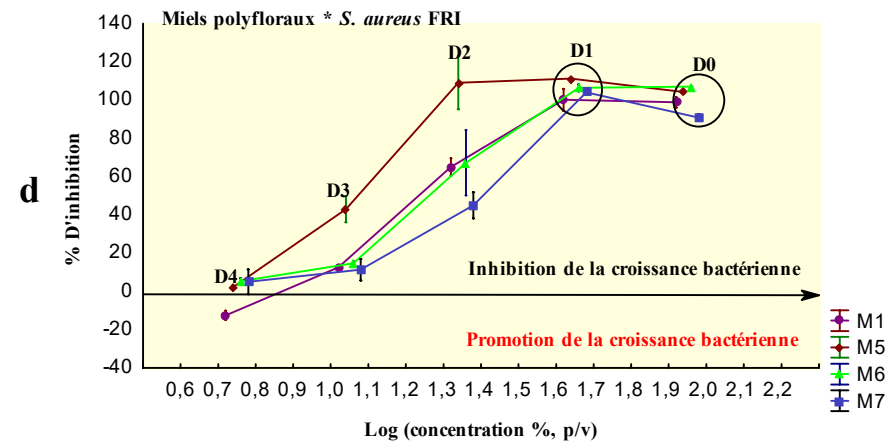
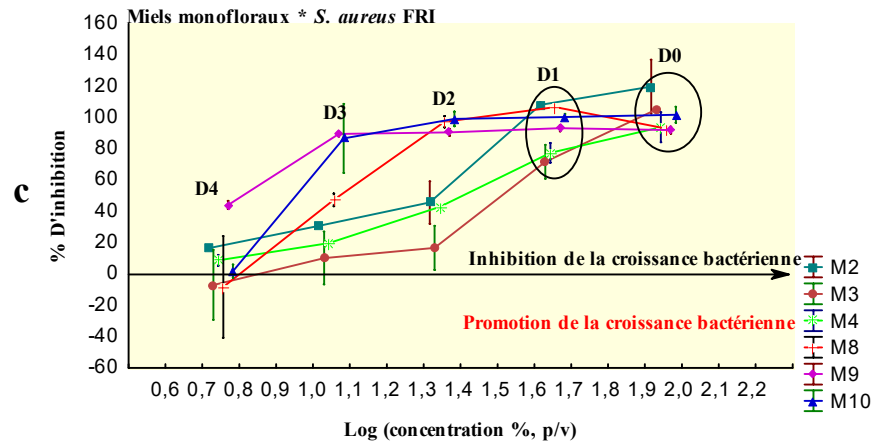


Figure 05: Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre *S. aureus* FRI

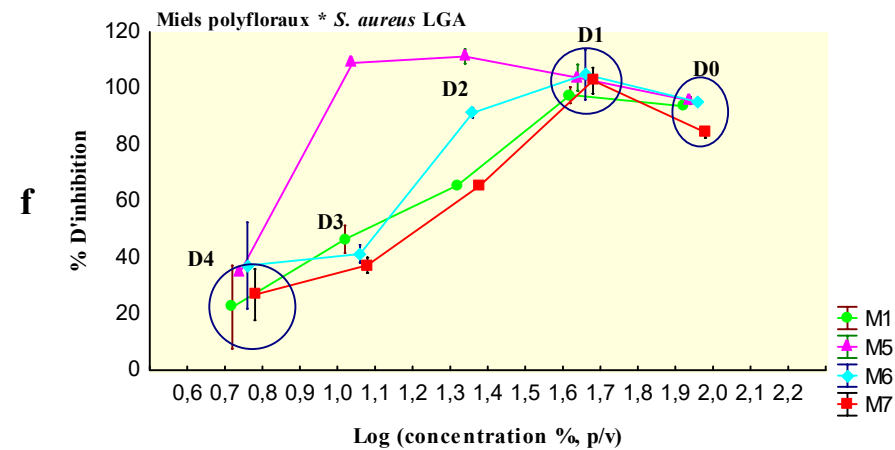
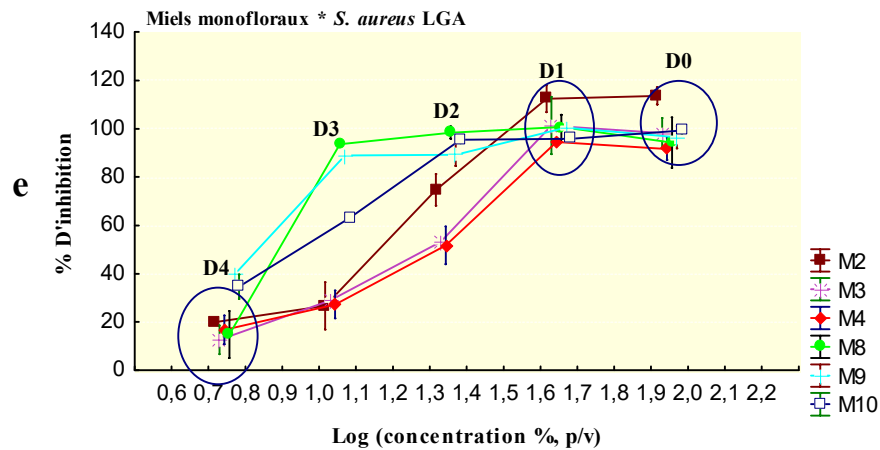


Figure 06: Courbe dose-réponse de l'activité antibactérienne des miels monofloraux et polyfloraux contre *S. aureus* LGA.

La figure 04 présente la courbe obtenue par le tracé de pourcentage d'inhibition en fonction de log de concentration de chaque échantillon des miels monofloraux (a) et polyfloraux (b) contre *E. coli*. Les miels monofloraux M4, M9, M8 et M10 enregistrent une légère variation de pourcentage d'inhibition à D₀, D₁ et D₂, ils diminuent d'une manière considérable à partir de D₂ sauf pour le miel M10 il a une tendance à promouvoir la croissance bactérienne à partir de cette dose. La courbe relative au miel M2 montre une diminution constante de pourcentage d'inhibition à deux intervalles de doses différents entre D₀ et D₂ et entre D₂ et D₄. Le miel M3 montre une courbe à trois phases, la première (D₀-D₂) enregistre une diminution de pourcentage d'inhibition, la deuxième (D₂-D₃) montre une promotion de la croissance de la souche *E. coli* et la troisième phase (D₃-D₄) marque un retour vers l'inhibition de la croissance bactérienne.

Les miels polyfloraux (b) M5 et M6 montrent une augmentation de la croissance entre la D₀ et D₂ et enregistre une même réponse vis-à-vis d'*E. coli*, qui est démontrée par les deux courbes superposées à cette intervalle. À partir de D₂ les miels M5 et M6 marquent des pourcentages d'inhibition qui diminuent différemment avec une forte promotion de la croissance pour le M5. Le miel M1 enregistre un pourcentage d'inhibition qui se stabilise à 100 % et diminue de façon linéaire à partir de D₁ par contre le M7 montre une courbe qui est croissante entre D₀ et D₁ et décroissante entre D₁ et D₄.

La figure 05 montre la courbe obtenue par le tracé de pourcentage d'inhibition en fonction de log de concentration de chaque échantillon des miels monofloraux (c) et polyfloraux (d) contre *S. aureus FRI* à différentes concentrations. Tous les miels monofloraux (c) enregistrent des réponses proches de 100 % d'inhibition avec une stabilisation de la réponse pour les miels M9 et M10 entre D₀ et D₂ suivi par une phase de diminution de pourcentage d'inhibition qui s'étale de D₂ jusqu'à D₄. Les miels M2, M3 et M4 montrent des réponses proportionnelles à leurs doses et se comportent différemment à différentes doses testées. Le miel M8 enregistre une augmentation de pourcentage d'inhibition suivi par une diminution de celle-ci à partir de D₁.

Pour les miels polyfloraux (d), une même réponse est observée de D₀ à D₁ pour tous les échantillons. À partir de D₁, les pourcentages d'inhibition diminuent avec la diminution de la concentration jusqu'à D₄. Par contre, le miel M5 se stabilise jusqu'à D₂ ou il se diminue jusqu'à D₄.

La figure 06 montre la diminution de pourcentage d'inhibition avec la décroissance de la concentration des différents miels monofloraux (e) et polyfloraux (f) contre *S. aureus* LGA. Tous les échantillons de miel monofloraux (e) possèdent un pourcentage d'inhibition proche de 100 à D₀ et se stabilisent jusqu'à D₁ pour M2, M3 et M4, jusqu'à D₂ pour M10 et jusqu'à D₃ pour M8 et M9. Tous les échantillons possèdent un faible pourcentage d'inhibition à la dilution D₄.

Les miels polyfloraux (f) (M1, M6, M7) ont le même comportement d'augmentation de (D₀ à D₁) puis de diminution de pourcentage d'inhibition de (D₁ à D₄) sauf le miel M5 qui enregistre une augmentation de pourcentage d'inhibition au court de D₀, D₁, D₂ et D₃ et une diminution vers D₄. Toutes les concentrations testées sont localisées dans la zone d'inhibition.

Chaque miel possède un comportement vis-à-vis la souche bactérienne, cela est dû à la composition chimique de ce produit de la ruche.

III.5-Corrélations

III.5.1- Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

L'analyse statistique montre une corrélation positive entre les antioxydants et les activités antioxydantes.

Selon la matrice de corrélation, les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes des miels analysés présentent une corrélation très hautement significative ($p < 0,001$) ($r = 0,83$). Ce résultat est similaire avec ceux obtenu par Al *et al.* (2009) et Alvarez-Suarez *et al.* (2010) avec des coefficients de corrélation de 0,84 et 0,83, respectivement.

Les concentrations en composés phénoliques totaux indiquent des corrélations très hautement significatives avec les différentes activités antioxydantes: DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur, FRAP dont les coefficients sont: $r = 0,82$; $r = 0,91$; $r = 0,98$; $r = 0,77$ respectivement. Ces coefficients de corrélations sont en accord à ceux obtenus par Ferreira *et al.* 2009 en ce qui concerne le pouvoir réducteur ($r = 0,84$) et avec Khalil *et al.* (2012) pour le FRAP ($r = 0,69$) et Aljadi et Kamaruddin. (2004) pour l'activité anti radicalaire ($r = 0,86$).

Les taux en flavonoïdes des miels analysés possèdent une corrélation très hautement significative avec les activités antioxydantes (DPPH, $r = 0,61$; ABTS, $r = 0,76$; pouvoir réducteur, $r = 0,73$), ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par Al *et al.* (2009) relatif à l'activité antiradicalaire ($r = 0,91$) et Ouchemoukh 2012 pour le pouvoir réducteur ($r = 0,70$).

Le pouvoir réducteur manifeste une corrélation très hautement significative avec le DPPH, l'ABTS et le test de FRAP dont les coefficients sont $r=0,81$; $r=0,87$ et $r=0,75$ respectivement. Ainsi, le FRAP possède aussi une corrélation très hautement significative avec l'activité antiradicalaire (ABTS: $r= 0,90$ et DPPH: $r= 0,79$).

D'après les coefficients de corrélation obtenus, les polyphénols contribuent à l'activité antioxydante du miel démontrée par Silici *et al.* (2010).

III.5.2- Corrélations activité antibactérienne, antioxydante et antioxydants

La concentration minimale inhibitrice à 50 % contre *E. coli* présente une corrélation très hautement significative avec la teneur en composés phénoliques ($r=0,70$), de même avec l'activité antioxydante DPPH, ABTS et pouvoir réducteur dont les coefficients de corrélation sont $r=0,60$; $r=0,70$; $r=0,71$, respectivement.

III.6- Analyses en composantes principales (ACP)

L'ACP est une technique d'analyse qui permet de mieux visualiser les corrélations par condensation d'informations.

D'après l'analyse de graphe du poids factoriel (figure 07), les paramètres suivants: les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes, le pouvoir réducteur, le FRAP, le DPPH, l'ABTS ainsi que la concentration minimale inhibitrice à 50 % contre *E. coli* forment un seul groupe très lié encerclé en rouge. En effet, la matrice de corrélation confirme aussi des corrélations hautement significatives existant entre ces variables. En plus, le miel M3 possède une teneur élevée en antioxydants (Composés phénoliques totaux et flavonoïdes) et manifeste le pouvoir antioxydant élevé avec les quatre tests (PR, FRAP, ABTS et DPPH). Cette corrélation montre en général que l'élévation du taux des antioxydants conduit à l'augmentation de l'activité antioxydante ainsi que l'activité antibactérienne des miels analysés.

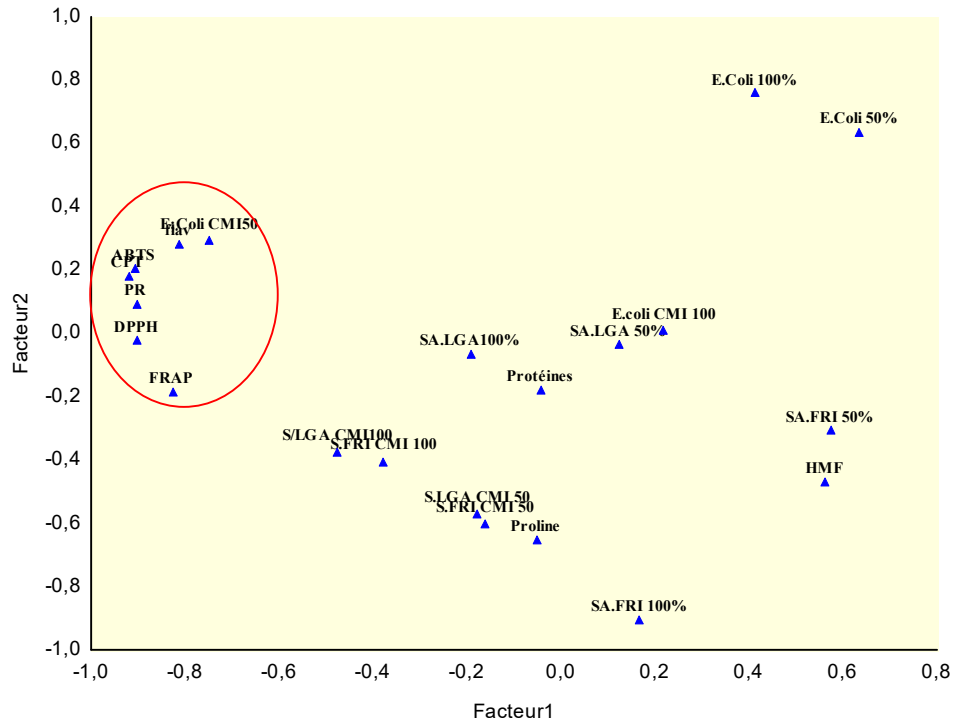


Figure 07: Tracé des poids factoriels de l'ACP



*CONCLUSION
ET PERSPECTIVES*

La présente étude est menée en vue de connaître l'origine botanique, les propriétés physico-chimiques et les activités antioxydantes et antibactériennes de 10 échantillons de miels récoltés dans quelques wilayas d'Algérie (Béjaia, Jijel, Sétif, skikda et Tizi-ouzou).

Les analyses polliniques montrent que 04 miels sont multif floraux et 06 autres sont monofloraux (03 miels de *Fabaceae*, 02 miels d'*Apiaceae* et un miel de *Myrtaceae*). Les résultats obtenus, concernant les paramètres physico-chimiques, sont conformes aux normes du Codex Alimentarius indiquant l'authenticité des échantillons, à savoir la teneur en proline qui est supérieure à 180 mg / kg et la teneur en HMF qui ne dépasse pas les 40 mg/kg.

Concernant l'estimation du potentiel antioxydant, les miels étudiés montrent par une activité antioxydante qui est confirmée à travers 4 tests, à savoir DPPH, ABTS, FRAP et le pouvoir réducteur. Pour ce qui est de l'activité antibactérienne, ce travail de master confirme que chaque miel analysé exerce une certaine inhibition pour les différentes bactéries testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* FRI et LGA).

L'analyse statistique a révélé l'existence d'une corrélation très hautement significative entre la teneur en antioxydants et l'activité antioxydante : composés phénoliques avec DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et FRAP ; flavonoïdes avec DPPH, ABTS et pouvoir réducteur de même entre les phénols et flavonoïdes. Une autre corrélation existe entre la concentration minimale inhibitrice contre *E. coli* et les composés phénoliques ainsi qu'avec les activités antioxydantes.

Pour pouvoir compléter ces résultats, il est intéressant de donner une suite à la présente étude en faisant:

-L'étude de l'activité antibactérienne sur une plus large gamme de bactéries pathogènes et résistantes.

-L'étude les activités d'antioxydantes *in vivo* afin d'évaluer les différents effets thérapeutiques.

- Identification qualitatifs des composés phénoliques par HPLC.

-L'étude des activités biologiques et thérapeutiques des autres produits de la ruche (venin, gelé royale, cire, propolis).



*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

- ✚ **Ahmed M., Djebli N., Hammoudi S. M., Meslem A. et Aissat S. (2012).** Antibacterial activity of various honey types of Algeria against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 773-776.
- ✚ **Ahmed S. et Othman N. H. (2013).** Honey as a potential natural anticancer agent: a review of its mechanisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, p.7.
- ✚ **Ajibola A., Chamunorwa J.P. et Erlwanger K.H. (2012).** Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition & Metabolism*, 9 (61): 1-12.
- ✚ **Al M. L., Daniel D., Moise A., Bobis O., Laslo L. et Bogdanov S. (2009).** Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112: 863-867.
- ✚ **Aljadi, A. M. et Kamaruddin, M.Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85: 513-518.
- ✚ **Al-Mamary M., Al-Meerri A. et Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041-1047.
- ✚ **Almasaudi S. B., Al-Nahari A. A., El Sayed M., Barbour E., Al Muhayawi S. M., Al-Jaouni S., Azhar E., Qari M., Qari, Y.A. et Harakeh S. (2016).** Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6) :1255-1261.
- ✚ **Alqarni A.S., Owayss A.A. et Mahmoud A.A. (2012).** Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11: 13.
- ✚ **Alvarez-Suarez J.M., Tulipani S., Diaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S. et Battino M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- ✚ **Ansari M. J ., Al-Ghamdi A., Ali Khan K., Adgaba N., El-Ahmady S. H ., Gad H. A., Roshan A., Meo S. A. et Kolyali S. (2018).** Validation of botanical origins and geographical sources of some Saudi honeys using ultraviolet spectroscopy and chemometric analysis. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25: 377-382

- ✚ **Attipou K., Anoukoum T., Ayite A., Missohou K. et James K. (1998).** Traitement des plaies au miel: Expérience du CHU de Lomé. *Médecine d'Afrique noire*, 45(11):658-660.
- ✚ **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 Chemistry* 80: 249-254.
- ✚ **Basualdo L., Sgroy, V., Finola M. S. et Marioli J. M. (2007).** Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary microbiology*, 124: 375-381.
- ✚ **Belay A., Solomon W. K., Bultona G., Adgaba N. et Melaku S. (2013).** Physicochemical properties of the Haremma forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.
- ✚ **Bettar I., González-Miret M. L., Hernanz D., Marconi A., Heredia, F. J. et Terrab A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry*, in press.
- ✚ **Bogdanov S., Martin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl G., Russmann H., Persano-Oddo L., Sabatini A. G., Marcazzan G. L., et al. (1997).** Harmonised Methods of The European Honey Commission. *Apidologie*, 1-59.
- ✚ **Bogdanov S. et Bulmer P. (2001).** Propriétés naturelles du miel. *Revue Suisse d'Apiculture*, 98: 107-114.
- ✚ **Bogdanov S., Ruoff K. et Persano Oddo L. (2004).** Physico-chemical methods for characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4-17.
- ✚ **Brudzynski K. et Kim L. (2011).** Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity. *Food Chemistry*, 126(3): 1155-1163.
- ✚ **Bucekova M., Juricova V., Monton E., Martinotti S., Ranzato E. et Majtan J. (2017).** Microwave processing of honey negatively affects honey antibacterial activity by inactivation of bee-derived glucose oxidase and defensin-1. *Food chemistry*, 240: 1131-1136.

- ✚ **Bueno-Costa F. M., Zambiasi R. C., Bohmer B.W., Chaves F. C., Silva W. P. D., Zanusso J. T. et Dutra L. (2016).** Antibacterial and antioxydant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT – Food Science and Technology*, 65: 333-340.
- ✚ **Čanadanović-Brunet J., Četković G., Šaponjac V.T., Stajčić S., Vulić J., Djilas S., Štajner D., et Popović B. (2014).** Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, 62: 1-7.
- ✚ **Chauvin R. (1987).** Le miel. In «La ruche et l'homme». *Edition Calmann-Lévy*: 27-76.
- ✚ **Chefrour A., Battesti M.J., Ait K. et Tahar A. (2007).** Melissopalynologic and physicochemical analysis of some north-east Algerian honeys. *European Journal of Scientific Research*, 18: 389-401.
- ✚ **Clément H. (2014).** Créer son rucher. *Editions Rustica*, Paris, p.111.
- ✚ **Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). (2015).** Performance Standards for antimicrobial Disque Susceptibility Tests; approved Standard, 12th Edition document M02 A12.
- ✚ **Codex Alimentarius Commission. (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12:1-7.
- ✚ **Da Silva M. P., Gauche C., Gonzaga L.V., Oliveira Costa A. C. et Fett R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196: 309-323.
- ✚ **Doukani K., Tabak S., Derriche A. et Hacini Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*, 10: 1112-5888.
- ✚ **Eon N. (2011).** *De la fleur à l'abeille, de l'abeille au miel, du miel à l'homme: miel et autre produits de la ruche.* Thèse Doctorat, Pharmacie. Université de Nantes Faculté de Pharmacie, p. 206.
- ✚ **Ferreira I. C. F. R., Aires E., Barreira J. C. M et Estivinho L. M. (2009).** Antioxydant activity of portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenoliques extrat. *Food Chemistry*, 114:1438-1443.

- ✚ **Gomez-Caravaca A. M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman Segura-Carretero A. et Fernandez –Gutierrez A. (2006).** Advances in analysis of phenolics compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1220-1234.
- ✚ **Gonzales A. P., Burin L. et Buera M. D. P. (1999).** Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32: 185-191.
- ✚ **Gulçin I., Oktay M., Kirreççi E. et Kufrevioglu O. I. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-381.
- ✚ **Gülçin İ., Alici H. A., et Cesur, M. (2005).** Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53: 281-285.
- ✚ **Hermosin I., Chicon R. M. et Cabezudo, M. D. (2003).** Free amino-acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83: 263-268.
- ✚ **Isla M. I., Craig A., Ordoñez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomón V. et Maldonado, L. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1922-1930.
- ✚ **Janscova N., Vyviurska O. et Španik I. (2014).** Identification of volatile organic compounds in honeydew honeys using comprehensive gas chromatography. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(4): 353.
- ✚ **Jonard L., Banh L., Pressac M., Just J. et Bahuau, M. (2006).** Les défensines en physiopathologie humaine. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 21(6): 342-347.
- ✚ **Karasawa K., Haraya S., Okubo S. et Arakawa, H. (2017).** Novel assay of antibacterial components in manuka honey using lucigenin-chemiluminescence-HPLC. *Analytica Chimica Acta*, 954:151-158.
- ✚ **Kassim M., Achoui M., Mustafa M. R., Mohd M. A. et Yusoff K. M. (2010).** Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate *in vitro* anti inflammatory activity. *Nutrition Research*, 30: 650–659.
- ✚ **Kateel R., Bhat G. K., Baliga S., Augustine A. J., Ullal S. D. et Adhikari, P. (2017).** Antibacterial action of Tropical honey on various bacteria obtained from diabetic foot ulcer. *Complementary Therapies In Clinical Practice*, 30(1): 29-32.

- ✚ **Khan S. U., Anjum S. I., Ansari M. J., Khan M. H. U., Kamal S., Rahman, K., Shoaib M., Man S., Kan A.G., Khan S. U. et Khan D.(2018).** Antimicrobial potentials of medicinal plant's extract and their derived silver nanoparticles: a focus on honey bee pathogen. *Saudi Journal of Biological Sciences*, in press.
- ✚ **Khan S. U., Anjum S. I., Rahman K., Ansari M.J ., Khan W. U., Kamal S., khattak B., Muhammad Ali. et Khan H. U. (2018).** Honey: single food stuff comprises many drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25: 320-325.
- ✚ **Koehler S. (2015).** *Le miel dans la cicatrisation des plaies : Un nouveau médicament?*. Thèse de doctorat, Pharmacie. Université de Lorraine de France, p.129.
- ✚ **Lacub J. (2013).** L'ABC de l'apiculteur. *Edition Rustica, Paris*, p. 219.
- ✚ **Lazaridou A., Biliaderis C. G., Bacandritsos N., et Sabatini A. G. (2004).** Compostion, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, 64:9–21.
- ✚ **Le bihan A. (2016).** *Les pansements au miel dans la cicatrisation des plaies aiguës et chroniques*. Thèse Doctorat, pharmacie. Université de Rennes 1: p.144.
- ✚ **Li C-C. et Lin E-S. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of areca catechu seed. *African Journal of Biotechnology*, 9 (46): 7831-7836.
- ✚ **Loubreau-Callen D., Clement M. C. et Marmion, V. (1999).** Les miels in « techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire ». P. 1-20.
- ✚ **Louveaux J., Maurizio A. et Vorwohl G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59: 139-157.
- ✚ **Makhloufi C., Kerkvliet D., Ricciardelli D'albore G., Choukri A. et Samra R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physicochemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.
- ✚ **Makhloufi C., Kerkvliet J. et Schweitzer P. (2015).** Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, 54(2): 156-166.
- ✚ **Marcet M. (2017).** *La cicatrisation des brûlures par le miel*. Thèse Doctorat, Sciences pharmaceutiques. Université de bordeaux college sciences de la santé: p. 136.
- ✚ **Marchenay P. et Berard L. (2007).** L'homme, l'abeille et le miel. *Paris, De Borée*, 223-225.

- ✚ **Meda A., Lamien C. E., Marco R. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3): 571-577.
- ✚ **Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem, A. (2010).** Étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Ann. Sci. Technol* 2: 115-125.
- ✚ **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26 (2): 211-219.
- ✚ **Moniruzzaman M., Sulaiman S. A., Khalil M. I. et Gan, S. H. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7: p.138.
- ✚ **Moniruzzaman M., An C. Y., Rao P.V., Hawlader M. N., Amirah S., Bintimohd A., Sulaiman S. A. et Gan, S. H. (2014).** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-13.
- ✚ **Naithani V., Nair, S et Kakkar P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181
- ✚ **Olaitan P. B., Adeleke O. E. et Ola I. O. (2007).** Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7(3): 159-165.
- ✚ **Ouchemoukh S., Louaileche H. et Schweitzer P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18: 52-58.
- ✚ **Ouchemoukh S. (2012).** *Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens.* Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, p.162.
- ✚ **Patton T., Barrett J., Brennan J., et Moran N. (2006).** Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(1): 84-95.

- ✚ **Perna A., Simonetti A., Intaglietta I. et Gambacorta E. (2013).** Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of southern Italy. *Journal of Life Sciences*, 7(4): 428-436.
- ✚ **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J-O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16: 233-239.
- ✚ **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- ✚ **Rossant A. (2011).** *Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes*. Thèse en vue de l'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie. Université de Limoges, p. 132.
- ✚ **Sanz M. L., Gonzalez M., de Lorenzo C., Sanz J. et Martínez-Castro I. (2005).** A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*, 91: 313-317.
- ✚ **Silici S., Sagdic O. et Ekici L. (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, 121: 238-243.
- ✚ **Silva T. M. S., dos Santos F. P., Evangelista-Rodrigues A., da Silva E. M .S., da Silva G. S., de Novais J. S., dos Santos F. de A.R., et Camara C.A. (2013).** Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29: 10-18.
- ✚ **Sousa J. M., de Souza E. L., Marques G., Meireles B., de Magalhães Cordeiro Â. T., Gullón B., Pintado M.M. et Magnani M. (2016).** Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by *Meliponini* in the Brazilian semiarid region. *Food Research International*, 84: 61-68.
- ✚ **Terrab A., Díez M. J., et Heredia F. J. (2002).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79 :373-379.
- ✚ **Voidarou C., Alexopoulos A., Plessas S., Karapanou A., Mantzourani I., Stavropoulou E., Fotou K., Tzora A., Skoufos I. et Bezirtzoglou E. (2011).**

Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Anaerobe*, 17: 375-379.

- ✚ **Werner A., et Laccourreye O. (2011).** Honey in otorhinolaryngology: When, why and how? *European Annals of Otorhinolaryngology. Head and Neck Diseases*, 128: 133-137.
- ✚ **Wilczyńska A. (2014).** Effet of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT – Food Science and Technology*, 57: 767-774.
- ✚ **Yucel Y. et Sultanoglu P. (2013).** Characterisation of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1: 16-25.
- ✚ **Zappalà M., Fallico E., Arena A. et Verzera A. (2005).** Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control*, 16: 273-277.



ANNEXES

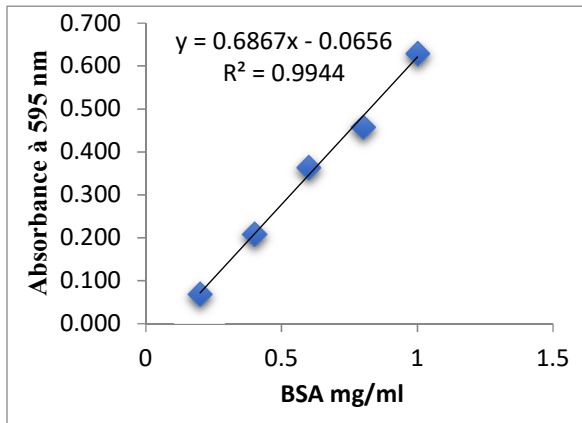


Figure 1: Courbe d'étalonnage des protéines.

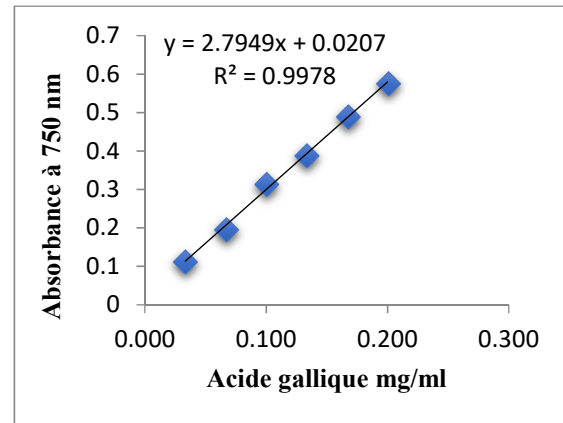


Figure 2: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

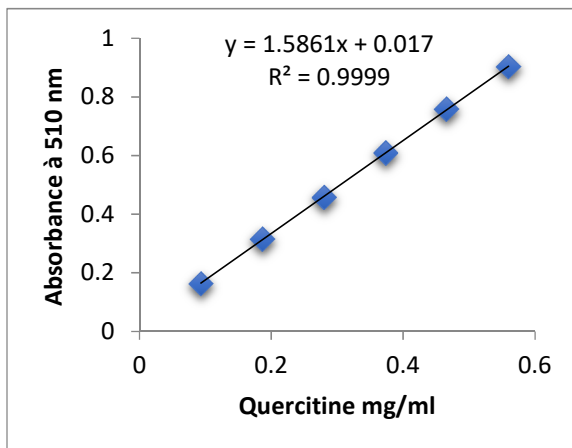


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

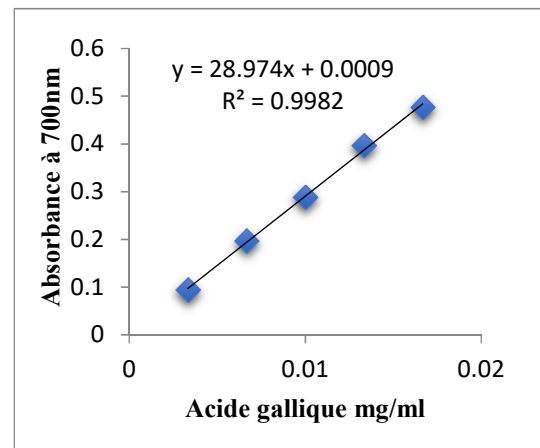


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.

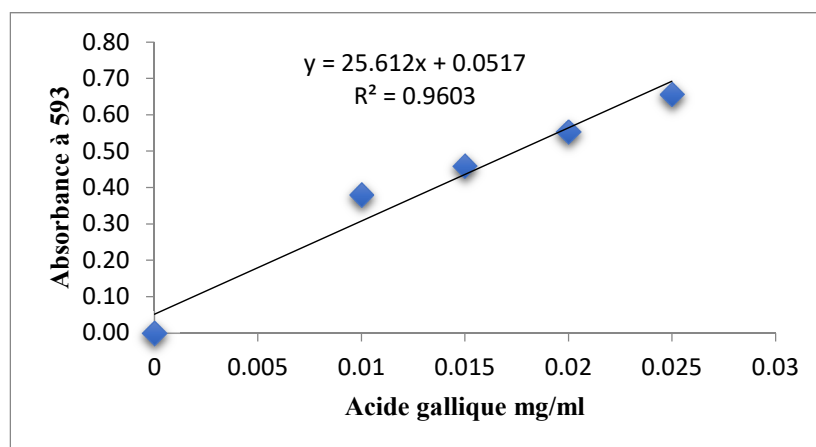
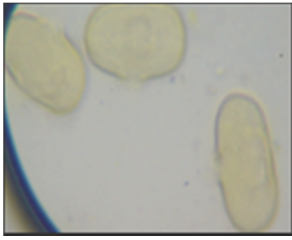
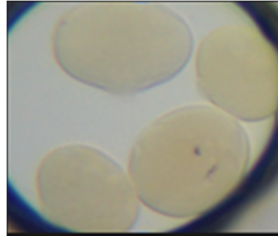


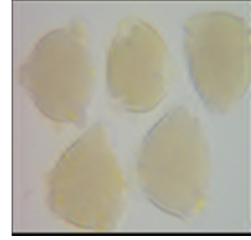
Figure 5 : courbe d'étalonnage de FRAP.



Apiaceae



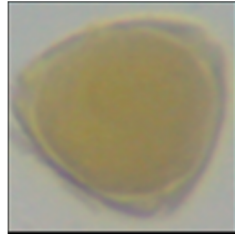
Fabaceae



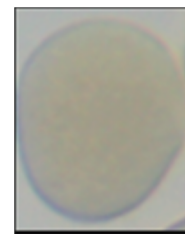
Myrtaceae



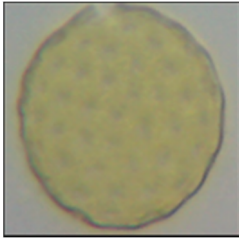
Ericaceae



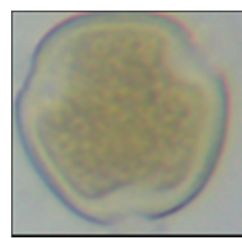
Rhamnaceae



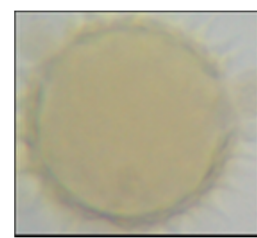
Echium



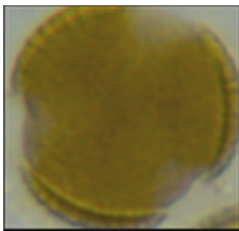
Chénopodiaceae



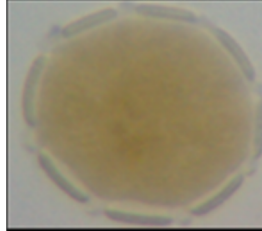
Tiliaceae



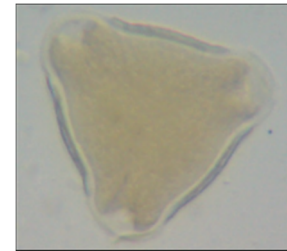
Asteraceae



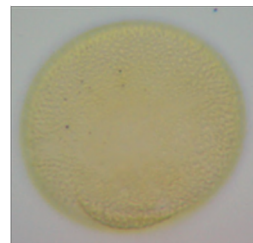
Brassicaceae



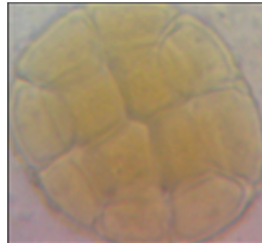
Borogonaceae



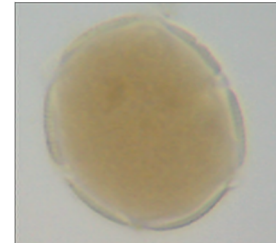
Rosaceae



Cistaceae



Mymosaceae



Lamiaceae

Photographies de quelques pollens

Matrice de corrélation

Corrélations (Feuille)																						
Corrélations significatives marquées à p < ,05000																						
N=28 (Observations à VM ignorées)																						
Variable	Origine	Protéines	Proline	HMF	CPT	flav	DPPH (%)	ABTS (%)	PR	FRAP	E.Coli 100%	SA.FRI 100%	SA.LGA 100%	E.Coli 50%	SA.FRI 50%	SA.LGA 50%	E.Coli CMI50 %	E.coli CMI 100 %	S.FRI CMI 50 %	S.FRI CMI 100 %	S.LGA CMI 50 %	S.LGA CMI 100%
Origine	1,00	0,35	0,24	-0,49	0,43	0,42	0,70	0,66	0,31	0,72	-0,41	-0,05	-0,23	-0,24	-0,39	-0,48	0,28	-0,19	-0,07	-0,28	-0,28	-0,07
Protéines (mgEBSA/100g)	0,35	1,00	0,68	-0,03	0,03	0,23	-0,02	0,17	-0,07	0,05	-0,13	0,30	0,18	-0,20	-0,05	0,01	0,00	-0,22	-0,01	-0,51	0,08	-0,40
Proline (mg/kg)	0,24	0,68	1,00	0,15	-0,15	-0,09	0,09	0,03	-0,14	0,19	-0,66	0,62	0,02	-0,47	0,06	-0,22	-0,15	-0,35	0,19	-0,23	0,20	0,06
HMF(mg/kg)	-0,49	-0,03	0,15	1,00	-0,45	-0,77	-0,43	-0,52	-0,31	-0,31	0,05	0,59	0,23	-0,00	0,61	0,46	-0,41	0,22	0,03	0,00	0,23	-0,27
CPT (mgEAG/100g)	0,43	0,03	-0,15	-0,45	1,00	0,83	0,82	0,91	0,98	0,77	-0,13	-0,26	0,22	-0,51	-0,42	-0,03	0,70	-0,14	-0,01	0,30	0,10	0,23
flav (mgEQ/100g)	0,42	0,23	-0,09	-0,77	0,83	1,00	0,61	0,77	0,73	0,54	-0,06	-0,36	0,10	-0,34	-0,50	-0,17	0,58	-0,15	0,04	0,20	0,06	0,23
DPPH (%)	0,70	-0,02	0,09	-0,43	0,82	0,61	1,00	0,92	0,81	0,90	-0,49	-0,04	0,10	-0,53	-0,38	-0,29	0,60	-0,02	0,00	0,28	-0,05	0,44
ABTS (%)	0,66	0,17	0,03	-0,52	0,91	0,77	0,92	1,00	0,87	0,79	-0,23	-0,22	0,24	-0,40	-0,47	-0,16	0,70	-0,06	-0,12	0,12	-0,10	0,24
PR (mgEAAAG/100g)	0,31	-0,07	-0,14	-0,31	0,98	0,73	0,81	0,87	1,00	0,75	-0,16	-0,19	0,30	-0,56	-0,37	0,05	0,71	-0,12	0,01	0,39	0,18	0,31
FRAP (mgEAAAG/100g)	0,72	0,05	0,19	-0,31	0,77	0,54	0,90	0,79	0,75	1,00	-0,58	0,12	-0,16	-0,70	-0,24	-0,41	0,42	-0,23	0,09	0,21	0,07	0,24
E.Coli 100%	-0,41	-0,13	-0,66	0,05	-0,13	-0,06	-0,49	-0,23	-0,16	-0,58	1,00	-0,62	0,06	0,67	0,13	0,30	0,02	0,17	-0,44	-0,37	-0,25	-0,56
SA.FRI 100%	-0,05	0,30	0,62	0,59	-0,26	-0,36	-0,04	-0,22	-0,19	0,12	-0,62	1,00	0,07	-0,45	0,54	0,02	-0,46	0,25	0,34	0,26	0,32	0,15
SA.LGA100%	-0,23	0,18	0,02	0,23	0,22	0,10	0,10	0,24	0,30	-0,16	0,06	0,07	1,00	0,00	-0,32	0,83	0,40	0,26	0,09	0,28	0,20	0,24
E.Coli 50%	-0,24	-0,20	-0,47	-0,00	-0,51	-0,34	-0,53	-0,40	-0,56	-0,70	0,67	-0,45	0,00	1,00	0,10	0,11	-0,35	0,34	-0,42	-0,38	-0,59	-0,36
SA.FRI 50%	-0,39	-0,05	0,06	0,61	-0,42	-0,50	-0,38	-0,47	-0,37	-0,24	0,13	0,54	-0,32	1,00	0,10	0,21	-0,67	0,45	-0,14	-0,04	-0,04	-0,27
SA.LGA 50%	-0,48	0,01	-0,22	0,46	-0,03	-0,17	-0,29	-0,16	0,05	-0,41	0,30	0,02	0,83	0,11	-0,21	1,00	0,23	0,19	0,15	0,24	0,35	-0,00
E.Coli CMI50	0,28	0,00	-0,15	-0,41	0,70	0,58	0,60	0,70	0,71	0,42	0,02	-0,46	0,40	-0,35	-0,67	0,23	1,00	-0,16	-0,02	0,15	0,17	0,27
E.coli CMI 100	-0,19	-0,22	-0,35	0,22	-0,14	-0,15	-0,02	-0,06	-0,12	-0,23	0,17	0,25	0,26	0,34	0,45	0,19	-0,16	1,00	-0,14	0,36	-0,22	0,18
S.FRI CMI 50	-0,07	-0,01	0,19	0,03	-0,01	0,04	0,00	-0,12	0,01	0,09	-0,44	0,34	0,09	-0,42	-0,14	0,15	-0,02	-0,14	1,00	0,48	0,54	0,43
S.FRI CMI 100	-0,28	-0,51	-0,23	0,00	0,30	0,20	0,28	0,12	0,39	0,21	-0,37	0,26	0,28	-0,38	-0,04	0,24	0,15	0,36	0,48	1,00	0,37	0,80
S.LGA CMI 50	-0,28	0,08	0,20	0,23	0,10	0,06	-0,05	-0,10	0,18	0,07	-0,25	0,32	0,20	-0,59	-0,04	0,35	0,17	-0,22	0,54	0,37	1,00	0,24
S/LGA CMI100	-0,07	-0,40	0,06	-0,27	0,23	0,23	0,44	0,24	0,31	0,24	-0,56	0,15	0,24	-0,36	-0,27	-0,00	0,27	0,18	0,43	0,80	0,24	1,00

Corrélations (Feuille)																						
Corrélations significatives marquées à p < ,01000																						
N=28 (Observations à VM ignorées)																						
Variable	Origine	Protéines	Proline	HMF	CPT	flav	DPPH (%)	ABTS (%)	PR	FRAP	E.Coli 100%	SA.FRI 100%	SA.LGA 100%	E.Coli 50%	SA.FRI 50%	SA.LGA 50%	E.Coli CMI50 %	E.coli CMI 100 %	S.FRI CMI 50 %	S.FRI CMI 100 %	S.LGA CMI 50 %	S/LGA CMI100
Origine	1,00	0,35	0,24	-0,49	0,43	0,42	0,70	0,66	0,31	0,72	-0,41	-0,05	-0,23	-0,24	-0,39	-0,48	0,28	-0,19	-0,07	-0,28	-0,28	-0,07
Protéines (mgEBSA/100g)	0,35	1,00	0,68	-0,03	0,03	0,23	-0,02	0,17	-0,07	0,05	-0,13	0,30	0,18	-0,20	-0,05	0,01	0,00	-0,22	-0,01	-0,51	0,08	-0,40
Proline (mg/kg)	0,24	0,68	1,00	0,15	-0,15	-0,09	0,09	0,03	-0,14	0,19	-0,66	0,62	0,02	-0,47	0,06	-0,22	-0,15	-0,35	0,19	-0,23	0,20	0,06
HMF(mg/kg)	-0,49	-0,03	0,15	1,00	-0,45	-0,77	-0,43	-0,52	-0,31	-0,31	0,05	0,59	0,23	-0,00	0,61	0,46	-0,41	0,22	0,03	0,00	0,23	-0,27
CPT (mgEAG/100g)	0,43	0,03	-0,15	-0,45	1,00	0,83	0,82	0,91	0,98	0,77	-0,13	-0,26	0,22	-0,51	-0,42	-0,03	0,70	-0,14	-0,01	0,30	0,10	0,23
flav (mgEQ/100g)	0,42	0,23	-0,09	-0,77	0,83	1,00	0,61	0,77	0,73	0,54	-0,06	-0,36	0,10	-0,34	-0,50	-0,17	0,58	-0,15	0,04	0,20	0,06	0,23
DPPH (%)	0,70	-0,02	0,09	-0,43	0,82	0,61	1,00	0,92	0,81	0,90	-0,49	-0,04	0,10	-0,53	-0,38	-0,29	0,60	-0,02	0,00	0,28	-0,05	0,44
ABTS (%)	0,66	0,17	0,03	-0,52	0,91	0,77	0,92	1,00	0,87	0,79	-0,23	-0,22	0,24	-0,40	-0,47	-0,16	0,70	-0,06	-0,12	0,12	-0,10	0,24
PR (mgEAAAG/100g)	0,31	-0,07	-0,14	-0,31	0,98	0,73	0,81	0,87	1,00	0,75	-0,16	-0,19	0,30	-0,56	-0,37	0,05	0,71	-0,12	0,01	0,39	0,18	0,31
FRAP (mgEAAAG/100g)	0,72	0,05	0,19	-0,31	0,77	0,54	0,90	0,79	0,75	1,00	-0,58	0,12	-0,16	-0,70	-0,24	-0,41	0,42	-0,23	0,09	0,21	0,07	0,24
E.Coli 100%	-0,41	-0,13	-0,66	0,05	-0,13	-0,06	-0,49	-0,23	-0,16	-0,58	1,00	-0,62	0,06	0,67	0,13	0,30	0,02	0,17	-0,44	-0,37	-0,25	-0,56
SA.FRI 100%	-0,05	0,30	0,62	0,59	-0,26	-0,36	-0,04	-0,22	-0,19	0,12	-0,62	1,00	0,07	-0,45	0,54	0,02	-0,46	0,25	0,34	0,26	0,32	0,15
SA.LGA100%	-0,23	0,18	0,02	0,23	0,22	0,10	0,10	0,24	0,30	-0,16	0,06	0,07	1,00	0,00	-0,32	0,83	0,40	0,26	0,09	0,28	0,20	0,24
E.Coli 50%	-0,24	-0,20	-0,47	-0,00	-0,51	-0,34	-0,53	-0,40	-0,56	-0,70	0,67	-0,45	0,00	1,00	0,10	0,11	-0,35	0,34	-0,42	-0,38	-0,59	-0,36
SA.FRI 50%	-0,39	-0,05	0,06	0,61	-0,42	-0,50	-0,38	-0,47	-0,37	-0,24	0,13	0,54	-0,32	1,00	0,10	0,21	-0,67	0,45	-0,14	-0,04	-0,04	-0,27
SA.LGA 50%	-0,48	0,01	-0,22	0,46	-0,03	-0,17	-0,29	-0,16	0,05	-0,41	0,30	0,02	0,83	0,11	-0,21	1,00	0,23	0,19	0,15	0,24	0,35	-0,00
E.Coli CMI50	0,28	0,00	-0,15	-0,41	0,70	0,58	0,60	0,70	0,71	0,42	0,02	-0,46	0,40	-0,35	-0,67	0,23	1,00	-0,16	-0,02	0,15	0,17	0,27
E.coli CMI 100	-0,19	-0,22	-0,35	0,22	-0,14	-0,15	-0,02	-0,06	-0,12	-0,23	0,17	0,25	0,26	0,34	0,45	0,19	-0,16	1,00	-0,14	0,36	-0,22	0,18
S.FRI CMI 50	-0,07	-0,01	0,19	0,03	-0,01	0,04	0,00	-0,12	0,01	0,09	-0,44	0,34	0,09	-0,42	-0,14	0,15	-0,02	-0,14	1,00	0,48	0,54	0,43
S.FRI CMI 100	-0,28	-0,51	-0,23	0,00	0,30	0,20	0,28	0,12	0,39	0,21	-0,37	0,26	0,28	-0,38	-0,04	0,24	0,15	0,36	0,48	1,00	0,37	0,80
S.LGA CMI 50	-0,28	0,08	0,20	0,23	0,10	0,06	-0,05	-0,10	0,18	0,07	-0,25	0,32	0,20	-0,59	-0,04	0,35	0,17	-0,22	0,54	0,37	1,00	0,24
S/LGA CMI100	-0,07	-0,40	0,06	-0,27	0,23	0,23	0,44	0,24	0,31	0,24	-0,56	0,15	0,24	-0,36	-0,27	-0,00	0,27	0,18	0,43	0,80	0,24	1,00

Corrélations (Feuille)																						
Corrélations significatives marquées à p < ,00100																						
N=28 (Observations à VM ignorées)																						
Variable	Origine	Protéines	Proline	HMF	CPT	flav	DPPH (%)	ABTS (%)	PR	FRAP	E.Coli 100%	SA.FRI 100%	SA.LGA 100%	E.Coli 50%	SA.FRI 50%	SA.LGA 50%	E.Coli CMI50 %	E.coli CMI 100 %	S.FRI CMI 50 %	S.FRI CMI 100 %	S.LGA CMI 50 %	S/LGA CMI100
Origine	1,00	0,35	0,24	-0,49	0,43	0,42	0,70	0,66	0,31	0,72	-0,41	-0,05	-0,23	-0,24	-0,39	-0,48	0,28	-0,19	-0,07	-0,28	-0,28	-0,07
Protéines (mgEBSA/100g)	0,35	1,00	0,68	-0,03	0,03	0,23	-0,02	0,17	-0,07	0,05	-0,13	0,30	0,18	-0,20	-0,05	0,01	0,00	-0,22	-0,01	-0,51	0,08	-0,40
Proline (mg/kg)	0,24	0,68	1,00	0,15	-0,15	-0,09	0,09	0,03	-0,14													

Corrélations des antioxydants et les activités antioxydantes

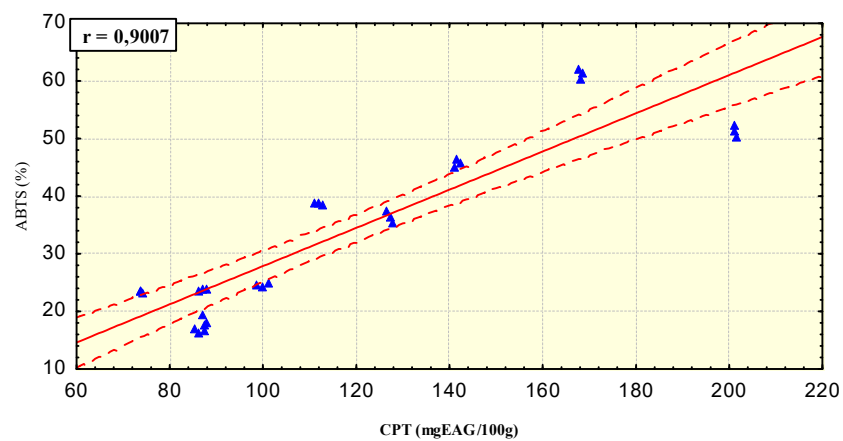


Figure 1: Corrélation entre CPT et ABTS.

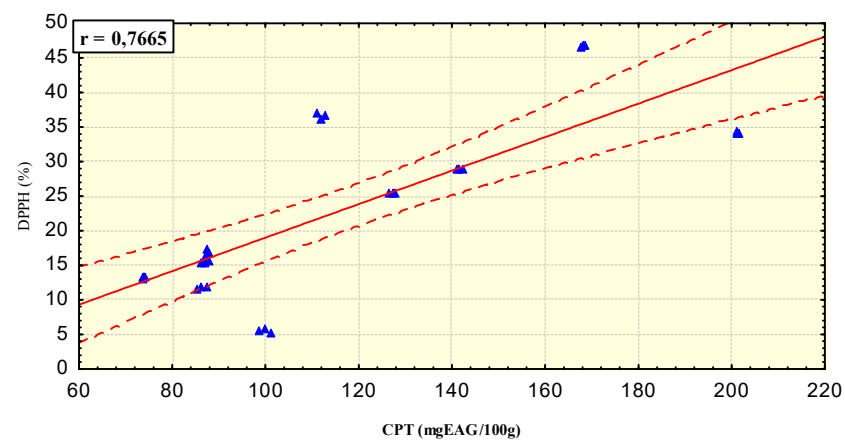


Figure 2: Corrélation entre CPT et DPPH.

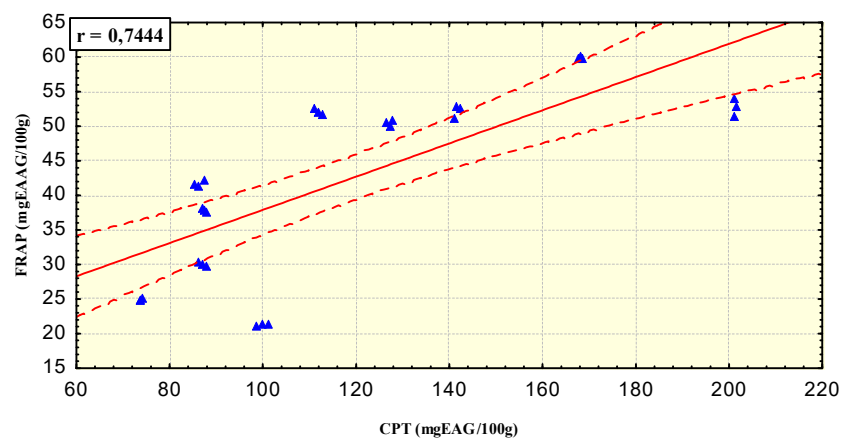


Figure 3: Corrélation entre CPT et FLAV.

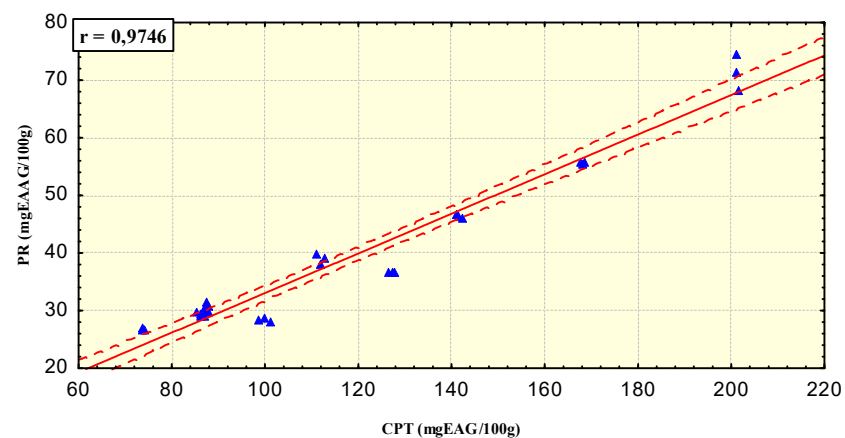


Figure 4: Corrélation entre CPT et PR.

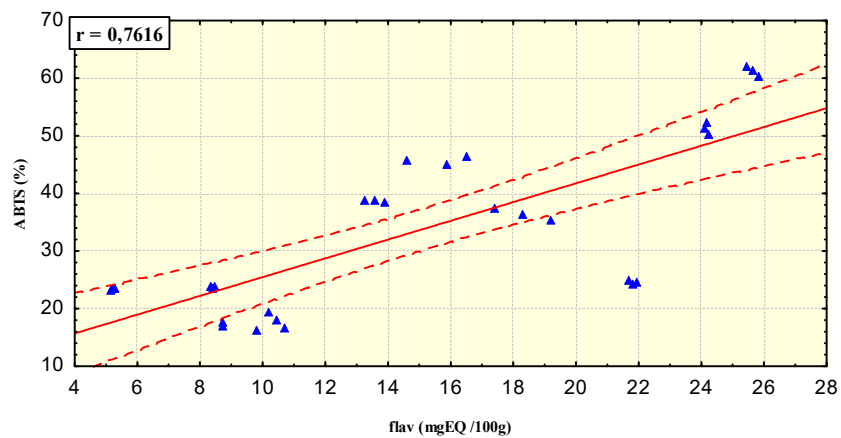


Figure 5: Correlation entre FLAV et ABIS.

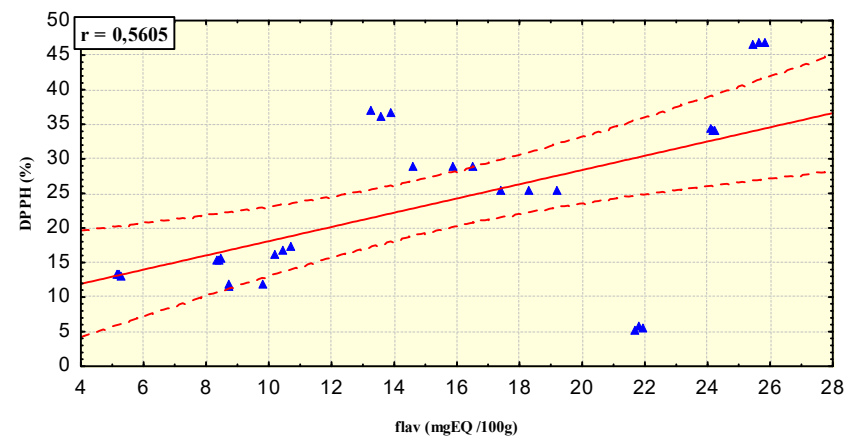


Figure 6 : Correlation entre FLAV et DPPH.

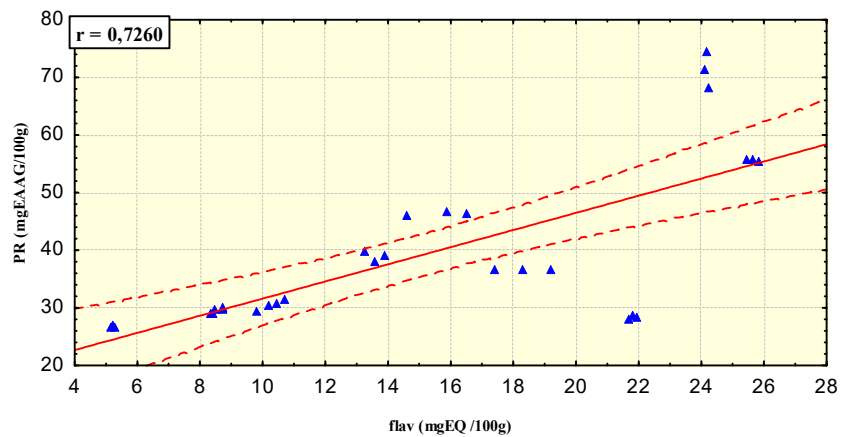


Figure7: Correlation entre FLAV et PR.

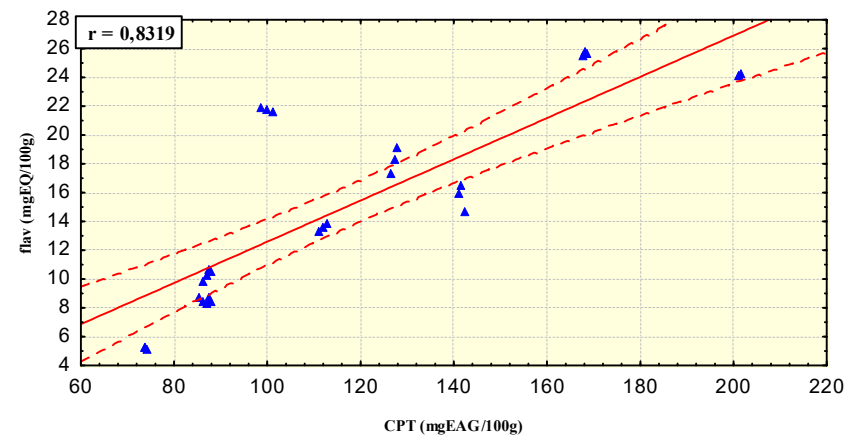


Figure 8: Correlation entre CPT et FLAV.

Corrélations entre CMI E. coli 50 % et antioxydants et les activités antioxydantes

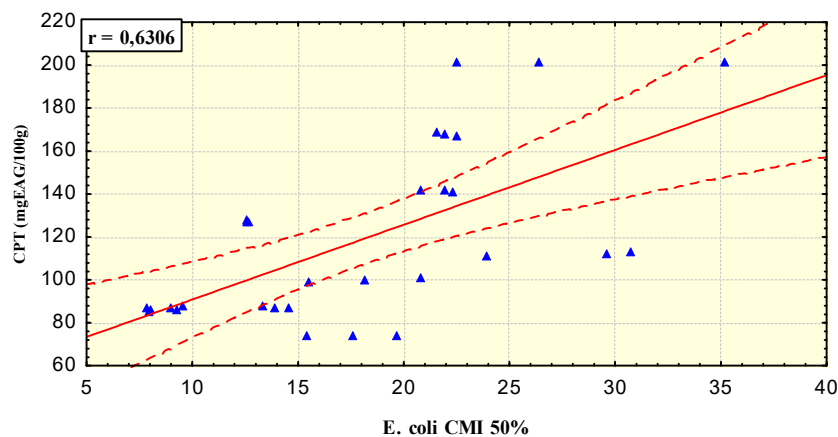


Figure 1: Correlation entre CMI 50 % et CPT.

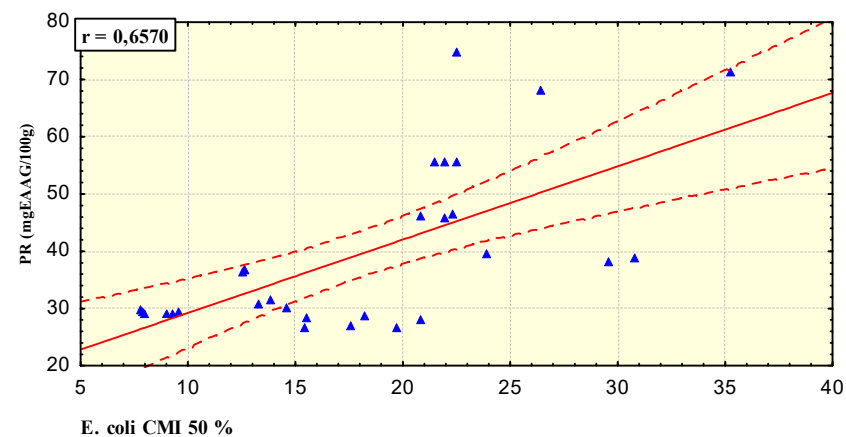


Figure 2: Correlation entre CMI 50 % et PR.

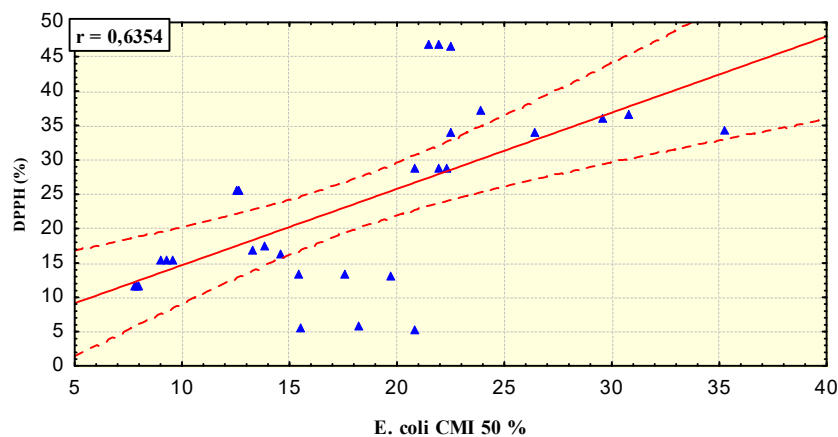


Figure 3: Correlation entre CMI 50 % et DPPH.

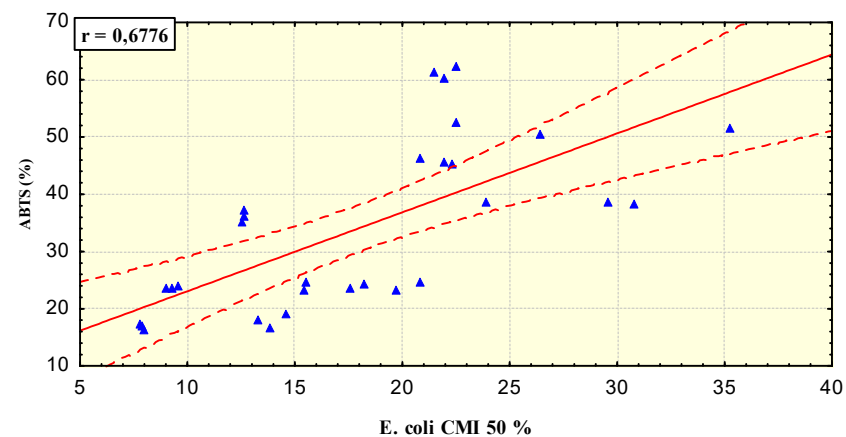


Figure 4: Correlation entre CMI 50 % et L' ABTS.

Les valeurs des coefficients de corrélation des courbes doses-réponses

Groupe 1	<i>S. aureus LGA</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus FRI</i>	
	<i>r value</i>	<i>p value</i>	<i>r value</i>	<i>p value</i>	<i>r value</i>	<i>p value</i>
C * % d'inhibition (M1)	0,82	0,001	0,81	0,001	0,82	0,001
C * % d'inhibition (M2)	0,85	0,001	0,81	0,001	0,92	0,001
C * % d'inhibition (M3)	0,86	0,001	0,88	0,001	0,96	0,001
C * % d'inhibition (M4)	0,87	0,001	0,87	0,001	0,94	0,001
C * % d'inhibition (M5)	0,73	0,001	0,55	0,001	0,66	0,001
C * % d'inhibition (M6)	0,70	0,001	0,56	0,001	0,84	0,001
C * % d'inhibition (M7)	0,74	0,001	0,55	0,001	0,82	0,001
C * % d'inhibition (M8)	0,63	0,001	0,61	0,001	0,62	0,001
C * % d'inhibition (M9)	0,58	0,001	0,52	0,001	0,51	0,001
C * % d'inhibition (M10)	0,71	0,001	0,67	0,001	0,56	0,001

Tableau I : Antibiogramme des souches testés.

<i>E. Coli</i>	Diamètre (mm)	<i>S. aureus</i>	Diamètre (mm)
Amikacine	31	Acide fusidique	20
Céphoxitine	13	Céphoxitine	22
		Ciprofloxacine	28

Résumé

Le but de cette étude consiste à la détermination de l'origine botanique, des analyses chimiques et antibactériennes sur 10 échantillons de miels d'Algérie. Plusieurs méthodes colorimétriques sont réalisées pour ces maintes analyses. L'analyse pollinique a permis l'identification de 17 familles botaniques dont les plus répandus sont: *Fabaceae*, *Apiaceae* et *Myrtaceae*. La teneur en protéines est de 55,83 à 130,90 mg EBSA/100 g. Le taux en proline et en HMF est respectivement compris entre 497,33 et 1116,17 mg/kg et de 8,68 à 45,51 mg/kg et indiquent que les miels analysés sont mûrs et authentiques. La teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes varient de 73,91 à 201,32 mg EAG/100 g et de 5,23 à 25,66 respectivement. Les miels analysés possèdent des activités antioxydantes variables (le pouvoir réducteur, le FRAP, le DPPH et l'ABTS). L'activité antibactérienne est testée sur trois souches bactériennes (*E. Coli*, *S. aureus* FRI et *S. aureus* LGA) par deux méthodes. Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne avec des différences d'un échantillon à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. Des corrélations très hautement significatives sont observées entre les antioxydants et les activités antioxydantes.

Mots clés: miel, paramètres physicochimiques, analyse pollinique, propriété antioxydante, propriété antibactérienne.

Abstract

The aim of this study is to determine the botanical origin, chemical and antibacterial analyzes of 10 honeys samples from Algeria. Several colorimetric methods are carried out for these many analyzes. The pollen analysis allowed the identification of 17 botanical families of which the most widespread are: *Fabaceae*, *Apiaceae* and *Myrtaceae*. The protein content is 55,83 to 130.90 mg EBSA / 100 g. The level of proline and HMF is respectively between 497.33 and 1116.17 mg / kg and 8.68 to 45.51 mg / kg and indicate that the honeys analyzed are mature and authentic. The content of total phenolic compounds and flavonoïds range from 73.91 to 201.32 mg EAG / 100 g and from 5.23 to 25.66 respectively. The honeys analyzed have variable antioxidant activities (reducing power, FRAP, DPPH and ABTS). The antibacterial activity is tested on three bacterial strains (*E. Coli*, *S. aureus* FRI and *S. aureus* LGA) by two methods. The results obtained clearly show the impact of natural honey on bacterial sensitivity with differences from one sample to another and from one bacterial strain to another. Highly significant correlations are observed between antioxidants and antioxidant activities.

Key words: honey, physicochemical parameters, pollen analysis, antioxidant property, antibacterial property.

ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تحديد المنشأ النباتي، التحاليل الكيميائية والنشاط المضاد للجراثيم لـ 10 عينات من العسل الجزائري. يتم تطبيق العديد من الطرق اللونية لهذه التحليلات العديدة. يسمح تحليل حبوب الطلع بتحديد 17 عائلة نباتية، وأكثرها شيوعاً هي: الفصيلة البقولية، *Myrtaceae* و *Apiaceae*. محتوى البروتين يتراوح بين 55,83 و 130,90 ملغ EBSA/100 غرام. ومعدل البرولين و HMF هو على التوالي بين 497,33 و 1116,17 ملغ/كغ و 8,68 الى 45,51 ملغ/كغ على التوالي وتشير التحاليل إلى أن عينات العسل ناضجة وحررة. يتراوح محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات الإجمالية من 73,91 إلى 201,32 ملغ EAG/100 g ومن 5,23 الى 25,66 على التوالي. يحتوي العسل الذي تم تحليله على أنشطة مضادة للأكسدة متنوعة (القدرة الارجاعية، FRAP، DPPH و ABTS). يتم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على ثلاث سلالات من البكتيريا (*E. Coli*, *S. aureus* FRI et *S. aureus* LGA) بتقنيتين. تظهر النتائج بشكل واضح تأثير العسل الطبيعي على حساسية البكتيريا مع وجود اختلافات من عينة إلى أخرى، ومن سلالة بكتيرية إلى أخرى. ولوحظت ارتباطات كبيرة للغاية بين مضادات الأكسدة والأنشطة المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: العسل، المعايير الفيزيوكيميائية، تحليل حبوب الطلع، خصائص مضادة للأكسدة، خاصية مضادة للجراثيم.