

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaïa
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Sciences Alimentaires



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Ref :.....

Mémoire de Master

Filière: Sciences Biologiques

Option : Bio procédé et Technologie Alimentaire

Thème

Profils polliniques, caractéristiques physico-chimiques, activités antioxydantes et antibactériennes de quelques miels Algériens

Présenté par : M^{elle} TAHAR Hanane

M^r TALAOUT Fawzi

Composition du jury

Mme Guendouz Naïma

MCB

Présidente

Mme Tafinine Zina

MCB

Examinatrice

Mme Ouchemoukh Nadia

MCA

Promotrice

Année universitaire : 2016-2017

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.

Nos vifs remerciements vont directement à madame et monsieur Ouchemoukh, pour leurs simplicités, leurs collaborations, leurs disponibilités ainsi à leurs précieux conseils et pour nous avoir donnés les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de notre travail.

Nous tenons à remercier les membres de jurés pour avoir acceptés d'examiner notre travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribués à notre formation durant notre cycle d'étude.

Enfin nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos familles et à nos amies qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années d'étude.

Dédicaces

A ceux qui m'ont comblé d'affection et d'amour,

A ceux qui n'ont jamais cessé de se sacrifier pour mon avenir,

A ceux je dois mon bonheur et mes joies,

A mes très chers parents.

A mes frères Farid et Idir, A mes sœurs Laldja et Assia,

A monsieur et madame Ochemoukh,

A monsieur et madame hemmaidi, A monsieur et madame bouncer,

*A mes enseignants et à toute la promotion bioprocédé et technologie alimentaire
(2016-2017)*

A tous mes ami(es), A tous ceux que j'aime et se reconnaissent,

A toi Fawzi ainsi que toute ta famille,

A moi et A tous qui mon aidé à prendre une chose dans ma vie

Tahar Hanane

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes très chers parents, auxquels je dois toute ma vie, mon respect et que je remerciais jamais assez.

A tous mes frères et sœurs et à toute ma famille.

A toi Hanane, pour ta patience et simplicité.

A mes meilleures amies Selma, Farah, Kahina.

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amis (es) avec qui j'ai passé des moments agréables, en particulier à Hamza, Khaled, djallal, Amar, Zahir, Sara , Ibtissem, Louiza, Faridaetc.

A tous mes collègues de la promotion de Science Alimentaire.

Enfin, à tous ceux dont le nom m'échappe à cet instant.

Talaouit Fawzi

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : degré Celsius.

µL : Microlitre.

Abs : Absorbance.

ABTS : Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

ACP : Analyse en composantes principal.

ANOVA: Analysis of One Variance.

BSA : Bovine Serum Albumine.

CARI : Centre Apicole de Recherche et d'Information.

CE : Conductivité électrique.

CE : Conseil Européen.

CLSI : Clinical laboratory Standard Institute.

Cm : Centimètre.

Cm³ : Centimètre cube.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CETAM : Centre d'Etude Technologies Apicoles de Moselle.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-diphénol-1-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent Acide Gallique.

EBSA : Equivalent Bovin Serum Albumine.

EC : Equivalent catéchine.

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power.

H : Heure.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HMF : Hydroxymethyl furfural.

LSD : Least Significant Difference (plus petite différence significative).

M : Miel.

M : Molaire.

m/v : masse sur le volume.

Meq : milliéquivalent.

MH : Muller-Hunton.

MS : Matière sèche.

Nm : Nanomètre.

OH : Radical hydroxyle.

P/V : Poids sur le volume.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PR : Pouvoir réducteur.

R : Coefficient de corrélation.

T° : Température.

UFC : Unité Formant Colonie.

UV : Ultraviolets.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Présentation des échantillons analysés	15
II	Protocole du dosage de la proline	18
III	Protocole du dosage de l'HMF	19
IV	Souches testées vis-à-vis des activités antibactériennes des échantillons de miel	22
V	Série des dilutions de gradient de deux pour chaque miel	24
VI	Spectre pollinique et pourcentages de pollens de miels analysés	26
VII	Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés	28
VIII	Pouvoir rotatoire des miels analysés	33
IX	Teneur en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés	35
X	Échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne	38
XI	Diamètres des zones d'inhibition en mm des échantillons du miel sur les souches étudiées.	40
XII	Concentration minimale inhibitrice (CMI) des échantillons du miel sur les souches étudiées.	42

Listes des figures

N°	Titre	Page
1	Oxydation du glucose en acide gluconique	13
2	Effet des miels sur les souches bactériennes	39
3	Distribution des échantillons en fonction des 2 facteurs	45

Table des matières

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. GENERALITES SUR LE MIEL3

I.1.1. Définition3

I.2.2. Origine3

I.2.1.1. Nectar3

I.2.2.2. Miellat4

I.1.3. Elaboration.....5

I.1.3.1. Abeilles mellifiques.....5

I.1.4. Formation et récolte.....5

I.1.5. Qualité du miel.....6

I.1.6. Composition du miel.....6

I.1.6.1. Eau6

I.1.6.2. Glucides6

I.1.6.3. Acides organiques7

I.1.6.4. La matière azotée7

I.1.6.5. Sels minéraux.....8

I.1.6.6. Composées phénoliques.....8

I.1.6.7. Pollen8

I.1.6.8. Autres9

I.1.6.9. Hydroxyméthylfurfural (HMF).....9

I.2. PROPRIETES DU MIEL10

I.2.1. Propriétés physico-chimiques10

I.2.1.1. Indice de réfraction et humidité10

I.2.1.1. Densité et viscosité	10
I.2.1.3. Acidité et pH	10
I.2.1.4. Conductivité électrique	10
I.2.1.5. Pouvoir rotatoire	11
I.2.1.6. Couleur.....	11
I.2.1.7. Cristallisation	11
I.2.2. PROPRIETES BIOLOGIQUES	11
I.2.2.1. Propriétés antioxydantes	11
I.2.2.2. Propriétés antibactériennes	12
I.2.2.3. Propriétés diététiques	13
I.2.2.4. Propriétés thérapeutiques	13

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. ECHANTILLONS DE MIEL	15
II.2. MELISSOPALYNOLOGIE.....	15
II.3. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES	16
II.3.1. Teneur en eau et Brix.....	16
II.3.2. pH	16
II.3.3. Intensité de la couleur.....	17
II.3.4. Conductivité électrique.....	17
II.3.5. Protéines	17
II.3.6. Proline.....	17
II.3.7. Hydroxyméthylfurfural (HMF)	18
II.3.8. Pouvoir rotatoire	19
II.4. DOSAGES PHYTO-CHIMIQUES	20
II.4.1. Composés phénoliques totaux	20
II.4.2. Flavonoïdes.....	20
II.5. ETUDES DE L'ACTIVITES ANTIOXYDANTES	20
II.5.1. Test de DPPH	20
II.5.2. Test d'ABTS.....	21
II.5.3. Test de FRAP.....	21

II.5.4. Pouvoir réducteur	22
II.6. ACTIVITES ANTIBACTERIENNES	22
II.6.1. Méthode de diffusion en gélose	23
II.6.2. Méthode de la microdilution.....	23
II.7. ANALYSES STATISTIQUES	24

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. ANALYSES POLLINIQUES	25
III.2. PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES	27
III.2.1. Humidité.....	27
III.2.2. pH	29
III.2.3. Couleur	29
III.2.4. Brix.....	30
III.2.5. Conductivité électrique	31
III.2.6. Protéines	31
III.2.7. Teneur en proline	32
III.2.8. Teneur en HMF	33
III.2.9. Pouvoir rotatoire.....	33
III.3. TENEURS EN ANTIOXYDANTS	34
III.3.1. Composés phénoliques	34
III.3.2. Flavonoïdes	34
III.4. ACTIVITES ANTIOXYDANTES	36
III.4.1. Pouvoir antiradicalaire par l'ABTS.....	36
III.4.2. Pouvoir antiradicalaire par le DPPH	37
III.4.3. Test de FRAP	37
III.4.4. Pouvoir réducteur	38
III.5. ACTIVITES ANTIBACTERIENNES.....	38
III.5.1. Méthode de diffusion en gélose	38
III.5.2. Méthode de la microdilution	41

III.6. CORRELATIONS.....	43
III.6.1. Corrélations paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes.....	43
III.6.2. Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes	43
III.6.3. Corrélations antioxydants et activités antioxydantes	43
III.6.4. Corrélations activités antibactériennes, paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes.....	44
III.7. ANALYSES STATISTIQUES.....	45
III.7.1. Analyse en composant principal (ACP).....	45
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	46
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	48
ANNEXES	

INTRODUCTION

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Il était le seul édulcorant avant l'apparition de la canne à sucre et de la betterave. C'est un produit de la ruche le mieux connu du grand public et il est utilisé comme ingrédient dans plusieurs produits alimentaires (Ouchemoukh, 2012). Ce noble aliment est également précieux comme produit à valeur marchande tant sur les marchés nationaux qu'internationaux et joue un rôle important dans certaines traditions culturelles (Canini *et al.*, 2005). Il constitue de ce fait une source potentielle non négligeable de revenus pour la population rurale, il peut contribuer également à l'amélioration de l'alimentation humaine (Nija, 1998).

Le miel est le fruit du travail des abeilles domestiques *Apis mellifera*, qui collectent autour de la ruche les nectars de fleurs et miellats (Odoux, 2014). Toutefois, le miel est caractérisé par certains groupes de substances en quantité variable. En moyenne il est formé de près de 80 % de glucides, notamment le fructose et le glucose et de 17 à 20 % d'eau. En outre, il renferme 4 % de substances mineurs telles que les acides aminés, les enzymes, les acides organiques, les composés phénoliques, les protéines, l'eau oxygénée, les vitamines, les minéraux et certaines substances volatiles, ainsi que les éléments figurés comme les grains de pollen et les levures (Adam, 2011). Les caractéristiques sensorielles et physico-chimiques du miel sont très variables, ceci est dû aux conditions climatiques et environnementales et à la diversité des origines des plantes à partir desquelles elles sont récoltées.

Produit phare de la ruche, le miel est utilisé depuis la nuit des temps comme un produit médicinal grâce à ses propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et thérapeutiques. Les utilisations médicinales du miel entrent dans le cadre de l'apithérapie qui est un concept médical basé sur le traitement des différentes maladies avec les produits de la ruche. Malgré toutes les connaissances et applications cliniques sur le miel, l'apithérapie demeure très peu pratiquée sur le plan moderne dans les pays en développement (Bruneau, 2002 ; Werner et Laccourreye, 2011).

Le marché apicole n'est pas épargné par la fraude et les organismes de contrôle sont confrontés à des cas toujours plus nombreux de non-conformités.

Dans le but d'éviter la falsification et de conserver la qualité des miels, la commission internationale du miel, créée en 1990 a standardisé certaines méthodes d'analyses du miel (humidité, taux des sucres réducteurs, pH, acidité, conductivité électrique et HMF) (Bogdanov, 2002). Ces paramètres sont utilisés comme critères de qualité du miel.

Ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- Dans la première partie, les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du miel, sa fabrication, ses différents types, sa composition biochimique et ses propriétés physico-chimiques, organoleptiques et biologiques.
- 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.

CHAPITRE I :
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. GENERALITES SUR LE MIEL

I.1.1. Définition

Le miel n'est bien souvent que la facette la plus populaire du monde immense des abeilles. Le mot «miel» est issu du latin mel, mellis qui signifie «miel» et «douceur» (Medda, 2005). Selon le Journal Officiel de la République Française (2003) et la Commission Européenne (2002) : « le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par les insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré».

I.1.2. Origine

Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles. La sève élaborée est la matière première du miel. Elle est extraite des vaisseaux du liber qui la contiennent de deux manières :

- Par des nectaires élaborant le nectar.
- Par des insectes piqueurs et suceurs, pucerons principalement, rejetant du miellat.

Il existe deux types de miel, miels de miellat et du nectar. Leur composition chimique diffère selon plusieurs paramètres (pH, teneur en minéraux, profil des glucides...) (Codex Alimentarius, 2001).

I.1.2.1. Nectar

Dans les fleurs, sur les pétales ou sur les bractées, des glandes spéciales, les nectaires, produisent un liquide plus ou moins sucré de la sève élaborée ou de la sève brute, c'est le nectar qui attire les insectes et constitue la matière première de la majorité des miels.

Les nectaires sont généralement situés au fond de la corolle des fleurs. Pour y accéder, la butineuse doit pénétrer dans la fleur et allonger sa langue. Elle aspire le nectar, par pompage et par capillarité (Hoyet, 2005).

Les butineuses vont de fleur en fleur aspirer le nectar. Elles remplissent leurs jabots (environ 40 mg), reviennent à la ruche et transmettent leur butin sucré d'une bouche d'abeille ouvrière à une autre, c'est le phénomène de trophallaxie.

Le transport d'un litre de nectar nécessite de nombreux voyages d'abeilles. Des nombres de l'ordre de 20000 à 100000 voyages sont couramment cités. Les composants essentiels du nectar sont les glucides (5 à 75 %), dont le fructose, le glucose et le saccharose (Jean-Prost, 2005). Le nectar contient aussi des acides aminés (0,25-15,5 $\mu\text{mol} / \text{ml}$), des protéines (petites quantités), des lipides (traces), des antioxydants (traces), des vitamines (traces), des pigments (faibles quantités), des huiles essentielles (1-3 %) et des enzymes. En fonction de sa teneur en eau, le nectar est plus ou moins visqueux (Meda, 2005). Il renferme aussi 40 à 80 % d'eau. Les proportions d'eau contenue dans le nectar sont en fonction de l'espèce végétale et aussi pour une très grande part, des conditions hygrométriques de l'air et du sol et de condition climatique en général (Jean-Prost, 2005).

I.1.2.2. Miellat

Le miellat est le liquide sucré que les abeilles butinent sur les feuilles de divers arbres ou arbustes. L'origine du miellat est bien établie : c'est l'excrétion des pucerons, des cochenilles ou d'autres insectes de l'ordre des hémiptères, parasites des végétaux dont ils sucent la sève élaborée. Cette sève est filtrée dans le corps de l'insecte parasite, les sucres et l'eau qu'elle contient en excès sont rejetés par l'anus sous forme de gouttelettes sirupeuses formant le miellat (Jean-Prost, 2005).

Les miels de miellat sont caractérisés par une couleur très foncée, des valeurs élevées en pH, en composés phénoliques et en cendres. Ils contiennent moins de monosaccharides et plus de di, tri et d'oligosaccharides que les miels de fleur (nectar), ce qui rend leur cristallisation plus lente (Terrab *et al.*, 2002 ; Ouchemoukh *et al.*, 2007). Dans les régions très sèches, le miellat perd son eau rapidement et se transforme en un véritable sucre cristallisé comestible (Hoyet, 2005 ; Leleux, 2012 ; Flores *et al.* 2015). Les périodes de récolte de miellat se situent entre la fin du printemps et l'été. Les quantités récoltées sont très variables d'une année à une autre, les pucerons étant très sensibles aux conditions météorologiques et aux attaques de prédateurs tels que les coccinelles, les punaises et surtout les guêpes (Adam, 2011).

Si le miel provient principalement d'une fleur, il est monofloral. Cependant, le miel provient le plus souvent de plusieurs plantes que ce soit un miel de fleur ou de miellat. Celui-ci est dit multifloral (Ruoff *et al.*, 2007). Les miels monofloraux ont des caractéristiques sensorielles, physiques et chimiques spécifiques (Bogdanov *et al.*, 1995).

I.1.3. Elaboration

I.1.3.1. Abeilles mellifères

Les abeilles sont des insectes sociaux de l'espèce *Apis mellifera* appartenant à l'ordre des hyménoptères. Elles vivent en colonies d'environ 20000 à 50000 individus, comprenant une reine, plusieurs milliers de faux-bourçons (au printemps) et des ouvrières.

- **Habitants de la ruche**

Reine : est la mère des individus de la colonie. Elle est aussi la seule femelle spécialisée dans la ponte, c'est une véritable machine à pondre.

Ouvrières : femelles incomplètes, remplissent toutes les tâches domestiques (nettoyage, nourrissage des larves, gardiennage, magasinage, usine à cire, évaporation...). Le caractère le plus fascinant est qu'elles se divisent les tâches au sein de la colonie.

Faux-bourçons : mâles de l'espèce abeille, naissent au printemps et meurent avant l'hiver. Leur rôle principal est l'accouplement.

«Reine, ouvrières et mâles ne peuvent pas vivre longtemps séparés. Leur interdépendance est une notion-clé de l'apiculture » (Jean-Prost, 2005).

I.1.4. Formation et récolte

La récolte devrait avoir lieu après une miellée, lorsque les apports de nectar ont cessé ou se sont ralentis et que les 3/4 au moins des alvéoles sont operculés, la fermeture des cellules à miel est un critère commode (Jean-Prost, 2005).

L'apiculteur retire les cadres de miel et laisse aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver, si la saison est avancée. C'est pourquoi la ruche est divisée en deux parties : une partie inférieure, le corps, qui contient de hauts rayons garnis non seulement du miel mais aussi de pollen et de couvain : il ne faut pas y toucher. Au-dessus, il y a la hausse qui servira à la récolte du miel. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, il transporte les cadres dans la miellerie et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer (Ballot-Flurin, 2010).

D'après la commission du Codex Alimentarius (1981), le miel peut être désigné en fonction de la méthode d'extraction du rayon :

- **Le miel extrait** est le miel obtenu exclusivement par centrifugation de rayons désoperculés ne contenant pas de couvain.
- **Le miel pressé** est le miel obtenu par le pressage de rayons ne contenant pas de couvain.
- **Le miel égoutté** est le miel obtenu en égouttant des rayons désoperculés ne contenant pas de couvain.

I.1.5. Qualité du miel

L'évaluation de la qualité du miel est déterminée essentiellement par la vérification de son authenticité, l'estimation de sa maturité, sa fraîcheur et l'identification de son origine botanique. Afin d'offrir au consommateur un produit de qualité, des critères physico-chimiques du miel sont fixés par le Codex Alimentarius et le Journal Officiel des communautés européennes, il s'agit de la teneur en eau, la conductivité électrique, les sucres réducteurs et non réducteurs, l'acidité, l'activité de diastase et la quantité d'HMF (Muli *et al.*, 2007 ; Gomes *et al.*, 2010)

I.1.6. Composition du miel

D'après Terrab *et al.* (2003), le miel renferme plus de 200 substances participant à l'équilibre de notre organisme. La composition du miel varie en fonction de la source florale, de la nature du sol, des conditions météorologiques, de l'abeille elle-même, libre de choisir son bouquet floral, de la présence ou non d'autres insectes (pucerons, cochenilles), de l'environnement et des méthodes de traitement utilisées par l'apiculture (Ballot-Flurin, 2010).

I.1.6.1. Eau

La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais peut être influencée par de nombreux facteurs, parmi lesquels les conditions de stockage et les conditions climatiques lors de la récolte et le degré de maturité du miel (Louvain, 2005). Selon le Codex Alimentarius (2001), la teneur en eau ne doit pas dépasser 20 %.

I.1.6.2. Glucides

Il est bien connu que les sucres représentent la plus grande partie de la composition de miel, ils forment à eux seuls 95 à 99 % de la matière sèche (Meda, 2005). Une quinzaine de sucres différents ont été identifiés dans le miel, mais ils ne sont jamais tous présents simultanément. Le fructose et le glucose sont les plus abondants (environ 80-85 % de la

matière sèche). Des disaccharides (maltose, saccharose, tréhalose, isomaltose, etc.) sont également présents, en plus des tri-saccharides et des oligosaccharides.

La composition en sucres dépend fortement du type floral employé par les abeilles aussi bien que les conditions régionales et climatiques (Zamora et chirife, 2006).

Les sucres du miel sont formés par l'action de l'invertase sur le saccharose du nectar. Les glucides dans le miel sont responsables de quelques propriétés telles que la viscosité, l'hygrométrie, la granulation et la valeur énergétique (Ouchemoukh *et al.*, 2010).

D'après le Codex Alimentarius (1981), la teneur maximale du saccharose est fixée à 5 % avec des exceptions pour certains miels qui sont naturellement plus riches (jusqu'à 15 % dans le miel de lavande).

La teneur totale en fructose et glucose ne doit pas être inférieure à 60 % pour le miel de fleur et 45 % pour le miel de miellat ou mélange de miel de miellat et de fleurs.

I.1.6.3. Acides organiques

Une vingtaine d'acides organiques sous forme libre ou combinée sont présents dans le miel tels que les acides acétique, benzoïque, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique (Bonté et Désomulière, 2013).

L'acide gluconique présente 70 à 90 % de la teneur du miel en acides organiques, il est issu du D-glucose transformé par la glucose oxydase d'où la forte acidité du miel (Moreira *et al.*, 2007 ; Moniruzzaman *et al.*, 2013).

I.1.6.4. La matière azotée

Le miel contient une très faible quantité de matière azotée (inférieur à 1 %), représentée par de faibles quantités d'acides aminés libres et de protéines, la matière azotée du miel peut être attribuée à la présence des enzymes. Certains sont sécrétés par les abeilles et d'autres sont dérivés du nectar (Saxena *et al.*, 2010). Les enzymes du miel sont représentés essentiellement par l' α amylase, la gluco-invertase, la catalase, la glucose oxydase et la phosphatase (Küçük *et al.*, 2007). Différents acides aminés peuvent être détectés dans le miel comme la lysine, l'histidine, l'arginine, l'acide aspartique, la thréonine, la sérine et la proline. Ce dernier acide aminé qui est le plus important, il provient principalement des sécrétions salivaires des abeilles, pendant la conversion du nectar en miel (Terrab *et al.*, 2002 ;

Ouchemoukh *et al.*, 2007). D'après Bogdanov *et al.* (1995), le miel est mature lorsque sa teneur en proline est supérieure à 183 mg / kg. Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification.

I.1.6.5. Sels minéraux

Le taux en matières minérales dans le miel est faible et il varie de 0,05 à 1,5 % (Mouhoubi, 2007). Le calcium, le magnésium, le sodium et le fer sont les principaux minéraux détectés dans le miel et le potassium est l'élément le plus abondant (Lachman *et al.*, 2007 ; Adebisi *et al.*, 2004). La teneur du miel en sels minéraux dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent.

I.1.6.6. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont présents dans le miel en faibles quantités. Leur principale origine est le nectar et les sécrétions végétales (Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Bogdanov *et al.*, 2004). Dans le miel, la plupart des composés phénoliques sont sous forme de flavonoïdes, les plus répandus sont : l'apigénine, la pinocembrine et la quercétine. Il existe aussi des acides phénoliques tels que les acides caféique, ferrulique, coumarique et benzoïque.

Généralement, les miels les plus foncés contiennent des quantités en polyphénols supérieures aux miels plus clairs, ainsi qu'une plus grande capacité antioxydante (Canadanovic-Brunet, 2014).

Les polyphénols peuvent servir comme marqueurs chimiques pour la détermination de l'origine botanique du miel (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Kenjerie *et al.*, 2007).

I.1.6.7. Pollen

Le pollen, élément mâle des plantes à fleurs, se présente sous forme de grains microscopiques contenus dans les anthères des étamines. L'identification des grains de pollen repose sur leur examen microscopique. La couleur, la forme, la taille et les pores différencient la plupart d'entre eux. Sous une enveloppe résistante à la dégradation, chaque grain de pollen renferme des substances indispensables à l'alimentation des larves et des jeunes abeilles. La forme de cette enveloppe est caractéristique de l'espèce végétale, ce qui est très pratique pour vérifier l'origine végétale d'un miel (Jean-Prost, 2005).

I.1.6.8. Autres

- **Lipides**

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

- **Vitamines**

Les vitamines du miel proviennent du nectar et du pollen. Elles sont peu nombreuses et existent en très faible quantités, elles sont représentées essentiellement par la vitamine C et les vitamines du groupe B (la thiamine, la biotine, l'acide folique,...) et très rarement, par les vitamines A, D et K (Gonnet, 1982).

- **Composés aromatiques**

Plus de 100 substances aromatiques ont été détectés dans le miel. Ces arômes jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel. Les substances aromatiques se conservent le mieux si le miel est stocké au froid dans des récipients fermés (Bogdanov *et al.*, 2003). Certaines d'entre elles ont été identifiées, notamment le méthylantranilate dans le miel d'orangers et de lavande ; le formaldéhyde et l'acétaldéhyde dans les miels de colza et de trèfle. Des alcools et des esters peuvent aussi être rencontrés dans la plupart des miels (Gonnet, 1982).

I.1.6.9. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'HMF est une substance qui provient de la dégradation du fructose en milieu acide par déshydratation moléculaire (Bath et Singh, 1999). En effet, l'HMF est un paramètre de fraîcheur d'échantillons de miel, il est absent ou se forme de traces dans les miels frais et tend à augmenter au cours des traitements et/ou de vieillissement du produit. Les facteurs qui influencent le niveau de l'HMF sont : la température, le temps de chauffage, les conditions de stockage, le pH et la source florale (Gomes, 2009). La limite maximale du Codex Alimentarius (2001) est de 40 mg / kg, alors que la limite est de 80 mg / kg pour les régions très chaudes (Bogdanov *et al.*, 2004).

I.2. PROPRIETES DU MIEL

I.2.1 Propriétés physico-chimiques

Il existe plusieurs paramètres physico-chimiques dont certains permettent de différencier entre les miels de nectar et de miellat (pH, conductivité électrique et pouvoir rotatoire).

I.2.1.1. Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction du miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse ; il oscille entre 1,5041 et 1,4915 à 20 °C pour une teneur à l'eau allant 13 à 18 % pour la majorité des miels (Lobreau Callen *et al.*, 1999).

I.2.1.2. Densité et viscosité

Les deux propriétés, densité et viscosité, dépendent fortement de la teneur en eau de la température et à moindre degré de la composition chimique du miel (Gidamis *et al.*, 2004). La densité varie entre 1,39 à 1,44 à 20 °C (Al-khalifa et Al-Arifi., 1999 ; Jean-Prost et Médori., 2005).

La viscosité est l'une des caractéristiques physiques la plus significatives car elle affecte la qualité du produit. La majorité des miels ont une viscosité normale, ils suivent les lois de Newton sur l'écoulement des fluides (Louveau, 1985).

I.2.1.3. Acidité et pH

L'acidité est un critère de qualité, le pH de miel va de 3,2 à 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar et supérieur à 5 dans les miels du miellat (Jean-Prost et Médori., 2005).

L'acidité du miel est due à la présence des acides organiques ainsi que d'ions inorganiques (Terrab *et al.*, 2002). Cette acidité contribue à la saveur du miel et aux activités antibactériennes et antioxydantes. Sa variation peut-être due aux types floraux des plantes (Cavia *et al.*, 2007).

I.2.1.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est considérée comme l'un des meilleurs paramètres utilisés pour la différenciation entre les miels floraux et ceux du miellat. La conductivité électrique du

miel est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, en acides organiques et en protéines (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Terrab et Heredia, 2004 ; Ouchemoukh *et al.*, 2007).

I.2.1.5. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. La mesure de ce pouvoir permet de distinguer entre les miels de nectar et ceux du miellat. Ces derniers généralement ont des valeurs positives «dextrogyres» tandis que les miels de nectar ont des valeurs négatives «lévogyres» (Bogdanov *et al.*, 2003).

I.2.1.6. couleur

Les diverses couleur du miel sont généralement toutes des nuances du jaune brun. Cependant, il existe des miels de couleur moins commun tel que les miels grisâtres (tournesol) et les miels verdâtres (miellat) (Mouhoubi, 2007). En général, la couleur foncée du miel indique un taux élevé en polyphénols totaux et par conséquence une forte capacité antioxydante. D'autre part, Lazaridou *et al.* (2004) ont constaté que la couleur du miel dépend de sa teneur en HMF, en minéraux et en pollens.

I.2.1.7. cristallisation

La cristallisation est un phénomène physique, naturel et non une altération. Cependant, dans la ruche à 36 °C, le miel est liquide mais une fois récolté il peut se cristalliser (Ouchemoukh *et al.*, 2012).

La vitesse de cristallisation dépend de la température de conservation et de la nature des sucres ainsi que leur solubilité dans l'eau (Gonnet, 1982). Selon Jean-Prost et Médori (2005), les miels riches en glucose cristallisent beaucoup plus vite que ceux riches en fructose. La pasteurisation permet d'éviter la fermentation et la cristallisation du miel. En effet, l'application de la température de 78 °C pendant 5 à 6 minutes détruit les levures et entraîne la fonte des microcristaux primaires de glucose (Ouchemoukh *et al.*, 2012).

I.2.2. Propriétés biologiques

I.2.2.1. Propriétés antioxydantes

Le miel est riche en antioxydants notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide ascorbique, les enzymes (la catalase et la peroxydase), les caroténoïdes, les peptides, les acides organiques et les produits de la réaction du Maillard (Bertoncelj *et al.*, 2007).

Cette activité est variable d'un miel à un autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants (Al-Mamary *et al.*, 2002).

De nombreuses maladies dégénératives reliées au vieillissement incluant le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète sont la conséquence des dommages causées par les radicaux libres (Ames *et al.*, 1993). De ce fait, l'activité anti-oxydante du miel joue un rôle dans les effets thérapeutiques.

Les antioxydants ont le potentiel de stabiliser et de désactiver les radicaux libres, produits au cours des réactions oxydatives (Percival, 1998).

Les agents antioxydants peuvent retarder l'oxydation par deux moyens : soit en piégeant directement les radicaux libres et dans ce premier cas le composé est appelé antioxydant primaire ou par d'autres mécanismes indirects, incluant la fixation des ions métalliques, la conservation des hydro-péroxydes en espèces non radicalaires et l'absorption des rayonnements UV. Dans ce deuxième cas, le composé est appelé antioxydant secondaire (Mouhoubi, 2007).

Une étude concernant l'effet du miel sur l'activité anti-oxydante du plasma de sujets adultes a révélé une augmentation de la teneur en composés phénoliques et de l'activité anti-oxydante du plasma suite à la consommation du miel (Schramm *et al.*, 2003).

D'après Johnston *et al.* (2005), le miel peut retarder l'oxydation lipidique du patté de bœuf. D'autre part, ils ont démontré un effet inhibiteur du miel de sarrasin, de trèfle et de la sauge sur la formation d'amines hétérocycliques aromatiques (agents mutagènes et carcinogènes) dans un produit de charcuterie. Ces auteurs ont attribué cet effet, en partie, aux antioxydants du miel.

I.2.2.2. Propriétés antimicrobiennes

Le miel possède des activités antibactérienne et antifongique (Allen *et al.*, 1991 ; Molan, 1992a, b ; Brady *et al.*, 1996 ; Nzeako et Hamdi, 2000). Cette activité est démontrée pour la première fois par Dold en 1937 sur certaines bactéries telles que *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* et *Staphylococcus aureus* (Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991). Les propriétés antibiotiques du miel le protègent contre toutes contaminations microbiennes. Ces propriétés sont attribuées à son acidité, à sa pression osmotique élevée et à la faible activité de l'eau. Cependant, le facteur antibactérien du miel le plus important reste le peroxyde

d'hydrogène, produit par la glucose-oxydase (Bogdanov et Bulmer., 2001) selon la réaction suivante :

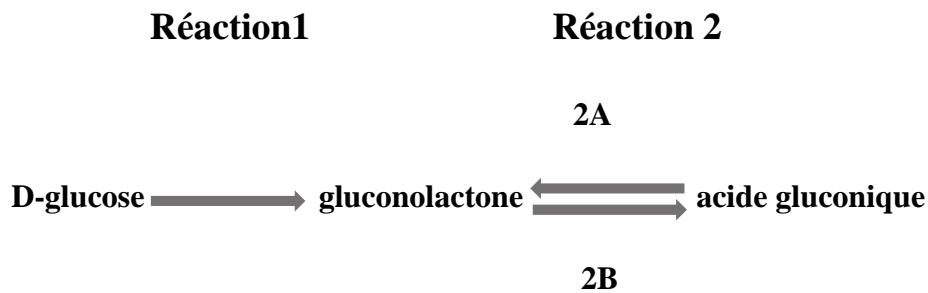


Figure 1: Oxydation du glucose en acide gluconique (Moreira *et al.*, 2007).

Réaction 1 : l'oxydation du glucose catalysée par la glucose-oxydase ;

Réaction 2 : l'hydrolyse du gluconolactone ;

2A : hydrolyse du gluconolactone ;

2B : estérification interne d'acide gluconique.

Le miel contient d'autres substances, d'origine végétale, ayant un rôle non négligeable dans l'activité antibactérienne, ce sont les inhibines non peroxyde dont les composés phénoliques (acides gallique, caféique, ferulique, benzoïque,...).

I.2.2.3. Propriétés diététiques

Le miel constitue une véritable source d'énergie (303 cal / 100g du miel). En effet, les abeilles pré-digèrent les sucres simples (glucose et lévulose) et les rendent directement assimilable par l'organisme (Esti *et al.*, 1996). Par ailleurs, le miel est une source de matières minérales telles que le calcium, le magnésium, le phosphore et le soufre qui sont indispensables au métabolisme (Aupy *et al.*, 1994). Le miel améliore également la fixation du calcium par les os et peut guérir certaines anémies (Sivasubramaniam, 2005). Il est parfaitement adapté aux enfants, aux sportifs et aux personnes âgées. Il peut aussi être recommandé pour les diabétiques, mais dans ce cas, il faut opter pour les miels à teneur moyenne en glucose tels que le miel d'acacia ou les miels de miellat (Gonnet, 1982 ; Blasa *et al.*, 2006).

I.2.2.4. Propriétés thérapeutiques

Le miel est considéré comme étant l'un des éléments les plus importants de la médecine traditionnelle. Les constituants mineurs du miel lui confèrent des propriétés

médicinales indéniables. Par exemple, les flavonoïdes améliorent la circulation veineuse.

Administré par la voie buccale, le miel peut guérir ou soulager les troubles intestinaux, les ulcères d'estomac, l'insomnie, les maux de gorge, certaines affections cardiaques, etc. Il augmente la teneur du sang en hémoglobine et la vigueur musculaire.

Le miel facilite la rétention du calcium, il active l'ossification et la sortie des dents et il est légèrement laxatif. Un adulte peut ingérer sans danger 500 g de miel par jour.

En usage externe, il active la guérison des brûlures, des plaies et des affections rhinopharyngées (en instillation) grâce à une inhibine et à des substances provenant des plantes butinées qui lui communiquent des propriétés antibactériennes. L'élément essentiel de cette activité antibiotique du miel, une enzyme, la gluco-oxydase, provoque un dégagement d'eau oxygénée. Il est prouvé qu'il favorise la cicatrisation des plaies. Certains hôpitaux l'utilisent dans ce domaine en France et dans d'autres pays (Jean-Prost, 2005).

CHAPITRE II :
MATÉRIEL
ET
METHODES

L'objectif principal de cette partie est l'identification et l'évaluation de la qualité des miels dans différentes régions de l'Algérie afin de vérifier si les miels sont :

- Conformes aux normes du Codex Alimentarius.
- Doués d'activité antimicrobienne et antioxydante.

II.1. ECHANTILLONS DE MIEL

Huit échantillons de miel provenant de différentes régions d'Algérie : Bejaïa, Tizi-Ouzou, Al Bayadh et Jijel sont récoltés en 2016 auprès des apiculteurs de ces régions (Tableau I).

Tableau I : Présentation des échantillons analysés.

Echantillons	Origine géographique	Couleur
E1	Tizi Ouzou (Maatka)	Jaune ambré
E2	Tizi Ouzou (azefoun)	Marron foncé
E3	El Bayad (Ain sefra)	Marron
E4	El Bayad (Ain sefra)	Marron
E5	Jijel	Brun
E6	Bejaïa (Adekar)	Moutarde
E7	Bejaïa (El kseur)	Jaune ambré
E8	Bejaïa (Akfadou)	Brun

II.2. MELISSOPALYNOLOGIE

La méliissopalynologie est une science qui permet d'identifier les plantes butinées à l'origine de la production du miel, ce qui est d'un grand intérêt dans la détermination des appellations et la détection des fraudes concernant l'étiquetage des produits (Nair, 2014). L'analyse pollinique est faite en suivant la méthode décrite par Louveaux et al. (1978).

Une solution de miel de 25 % est centrifugée à 4500 tours / min pendant 10 min. Le surnagent est jeté de façon à ne conserver que le culot, un volume de 10 ml de l'eau distillée est additionné et une deuxième centrifugation est faite dans les mêmes conditions.

Sur une lame, 0,1 ml du culot sont déposés suivie d'un séchage plus une goutte de fuchsine gélatinée. La lecture est faite à l'aide d'un microscope photonique (OPTIKA) avec l'objectif (×40) en se référant à une banque de données bibliographiques et numériques du CETAM (Centre d'Etude Techniques Apicoles de Moselle).

II.3. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Le miel contient un très grand nombre de substances mais il existe entre les miels des variations de composition relativement importantes qui sont liées à leurs origines florales et géographiques. Certains paramètres physico-chimiques : l'humidité, le Brix, le pH, la couleur, la conductivité électrique, les protéines, la proline, l'hydroxyméthylfurfural (HMF) et le pouvoir rotatoire sont réalisés selon la méthode décrite par Bogdanov *et al.* (1997) qui permettent d'apprécier la qualité des miels étudiés.

II.3.1. Teneur en eau et Brix

L'humidité du miel conditionne sa conservation : plus elle est élevée, plus le miel risque de fermenter. La technique la plus simple pour mesurer le taux d'humidité dans un miel est la réfractométrie (Guo *et al.*, 2010).

Les indices de réfraction des échantillons de miel sont déterminés en utilisant un réfractomètre d'Abbé à 20 °C. Une goutte de miel liquide est déposée sur le prisme du réfractomètre, préalablement étalonné avec de l'eau distillée. La lecture est faite à travers l'oculaire de l'appareil après un réglage de telle sorte à avoir une ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure identiques. Cette ligne coupe une échelle verticale graduée directement en indice de réfraction et en pourcentage de Brix dans le miel. Les calculs sont effectués en se référant à la table de CHATAWAY (Annexe I).

II.3.2. pH

Le pH des échantillons est déterminé potentiométriquement à 20 °C en utilisant un pH-mètre. L'électrode a été calibrée par des solutions tampon de pH 7 et 4.

Le pH est mesuré sur une solution de miel de 10 %. Une quantité de 2,5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée suivie par une lecture direct sur le pH mètre.

II.3.3. Intensité de la couleur

Une quantité de 1g de miel est dissoute dans 4 ml d'eau distillée. Après une homogénéisation, la densité optique de la solution de miel est lue par le spectrophotomètre à 450 nm.

II.3.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la capacité de l'échantillon de miel à transmettre un flux électrique ou conductance. La détermination de celle-ci est réalisée sur une solution de miel contenant 20 % de la matière sèche à 20 °C. Une quantité de miel M, avec $M = (5 \times 100) / MS$, dont MS est la teneur en matière sèche de l'échantillon de miel, est dissoute dans 25ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (4 μ S / cm). La lecture est faite directement après l'immersion de la cellule du conductimètre et les résultats sont exprimés en mS / cm.

$$\text{CE (milli-Siemens / cm)} = \text{valeur mesurée} - A$$

CE : Conductivité électrique.

A : (la valeur mesuré \times 0,032) \times (T°= 20°C).

T° : Température ambiante de la mesure (dans notre cas elle varie entre 16 et 18 °C).

0,032 : Facteur de correction.

II.3.5. Protéines

La teneur en protéines est déterminée par une méthode colorimétrique d'Azeredo *et al.* (2003). Un volume de 5 ml de la solution de Bradford est ajouté à 0,1ml de la solution de miel à 50 %. Après un temps d'incubation de 2 min, le bleu de coomassie de couleur bleu-vert forme un complexe avec les protéines en donnant une couleur bleu. L'absorption est lue à 595 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de sérum albumine bovine (BSA) / 100 g du miel.

II.3.6. Proline

Les solutions utilisées pour le dosage de la proline sont : acide formique (98 %), solution de la ninhydrine éthanolique (3 %), solution aqueuse de proline (0,032 mg/ ml), solution aqueuse de 2-propanol (50 %) et solution aqueuse de miel (0,05 g / ml). Le protocole expérimental utilisé est résumé dans le tableau ci-après.

Tableau II : Protocole du dosage de la proline.

	Solutions des échantillons	Blanc	Solution du contrôle
Echantillons du miel	0,5 ml	-	-
Eau distillée	-	0,5 ml	-
Proline	-	-	0,5 ml
Acide formique	1 ml	1 ml	1 ml
Ninhydrine éthanolique (3 %)	1 ml	1 ml	1 ml
Agitation avec chauffage à 100 °C pendant 15 min			
Transfert à 70 °C (bain marie) pendant 10 min			
2-propanol	5ml	5ml	5ml
Après 45 min lecture de l'absorbance par spectrophotomètre à 510 nm			

La teneur en proline est déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Proline (mg / kg)} = (\text{Es} \times \text{E1} \times 80) / (\text{Ea} \times \text{E2})$$

Es : Absorbance de la solution d'échantillon.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

80 : Facteur de dilution

E1 : mg de proline pour la solution standard.

E2 : Quantité prise du miel en kg.

II.3.7. Hydroxyméthyl furfural (HMF)

L'analyse de la quantité d'HMF est une excellente méthode pour apprécier la qualité de miel : son vieillissement et son chauffage.

Une quantité de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Une homogénéisation de cette solution avec 1ml de la solution de carrez I et ensuite avec 1ml de la solution de carrez II. Le volume du mélange est complété à 50 ml avec de l'eau distillée et la

solution est filtrée avec du papier filtre whatman. Les solutions des échantillons et les solutions de références sont préparées comme suit (tableau III).

Tableau III : Protocole du dosage d’HMF

	Solutions de référence	Solutions des échantillons
Le filtrat	5 ml	5 ml
Eau distillée	5 ml	-
Solution de sodium bisulfite (0,2 %)	-	5 ml

Après homogénéisation, l’absorbance de la solution d’échantillon est lue contre celle de la solution de référence à 284 nm et 336 nm par le spectrophotomètre UV. La teneur en HMF est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{HMF}](\text{mg / kg}) = (\text{A284} - \text{A336}) \times 149,7 \times 5 / \text{W}$$

A284 : absorbance à 284 nm.

A336 : absorbance à 336 nm.

W : masse en grammes de l’échantillon de miel.

149,7 : constante.

5 : poids nominal théorique de l’échantillon.

II.3.8. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est déterminé selon la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). La valeur est liée à la composition en glucides. Le pouvoir rotatoire est déterminé par un polarimètre en utilisant une solution de miel aqueuse, claire et filtrée. Une quantité de 12 g de miel est dissoute dans de l’eau distillée. Après l’homogénéisation, la solution obtenue est transférée dans une fiole de 100 ml puis 1ml de solution de Carrez I (hexacyanoferrate de potassium, 15 %) et 1 ml de la solution de Carrez II (acétate de zinc, 30 %) y sont additionnés. Le mélange est ajusté avec de l’eau distillée afin d’avoir un volume finale de 100 ml et après 24h, les solutions sont filtrées. Le filtrat est versé dans le polarimètre, la lecture est faite à 20 °C et la valeur de pouvoir rotatoire est affichée directement. Cette technique est utilisée au sein de laboratoire d’analyse des sucres de Cevital.

II.4. DOSAGES PHYTO-CHIMIQUES

II.4.1. Composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents types de miels est effectué suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon le protocole de Niathani *et al.* (2006). Dans cette méthode une réaction d'oxydoréduction est mise en jeu son principe est basée sur la réduction de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_4$) qui sont des composés de Folin-Ciocalteu en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3) par l'oxydation des phénols. (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982). Un volume de 100 μ l de la solution de miel (0,1 g / ml) est mélangé avec 100 μ l de ce réactif et 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 2 %). Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm. L'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 gramme de miel (mg EAG / 100 g).

II.4.2. Flavonoïdes

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

II.5. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II.5.1. Test DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphenyl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenyl picryl-hydrazine. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le miel.

L'évaluation de la capacité antiradicalaire par le DPPH est réalisée par la méthode décrite par Meda *et al.* (2005). Un volume de 1 ml de la solution éthanolique de DPPH (6×10^{-2} mM) est mélangé avec 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g / ml). Après 15 min,

l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-après:

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Abs_{(t)} - Abs_{(e)}) / Abs_{(t)}] \times 100$$

$Abs_{(t)}$: Absorbance du témoin (1 ml de solution DPPH + 0,5 ml d'éthanol).

$Abs_{(e)}$: Absorbance de l'échantillon.

II.5.2. Test ABTS [2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt]

Le test ABTS est une méthode colorimétrique qui permet d'évaluer l'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels, estimé à partir de leurs capacités à inhiber le radical cationique $ABTS^{\bullet+}$. La solution d'ABTS ne contient pas de radicaux libres au départ. Après un mélange avec du persulfate de potassium, des radicaux libres d' $ABTS^{\bullet+}$ se forment par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS formant ainsi une solution de couleur bleu-vert (Re *et al.* 1999). Le contact entre le radical $ABTS^{\bullet+}$ et un donneur d'électron conduit à la formation d'un radical neutre ABTS et la décoloration de la solution dont l'absorbance maximale est à 734 nm (Isla *et al.* 2011).

L'évaluation de la capacité antioxydante avec l'ABTS est effectuée suivant la méthode rapportée par Re *et al.* (1999). Un volume de 0,1 ml de la solution de miel (0,025 g / ml) est additionné à 1 ml de la solution ABTS (7 mM). Après 7 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est lue à 734 nm. Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Abs_{(t)} - Abs_{(e)}) / Abs_{(t)}] \times 100$$

$Abs_{(t)}$: Absorbance du témoin.

$Abs_{(e)}$: Absorbance de l'échantillon.

II.5.3. Test FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Le test FRAP est l'un des analyses les plus répandues pour la détermination de la capacité antioxydant totale. Le principe de la méthode est basé sur la réduction du complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-s-triazine (Fe^{3+} -TPTZ) en sa forme ferreux coloré (Fe^{3+} -TPTZ) formant un complexe ferreux bleu dont le maximum d'absorbance est à 593 nm (Alvarez-Suarez *et al.* 2010).

Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g / ml) est additionné de 0,75 ml de la solution de de FRAP [300 mM de la solution acétate de sodium ; 40 mM TPTZ ; 20 mM de la solution de chlorure de fer ($FeCl_3, 6H_2O$)]. L'absorbance de ce mélange réactionnel est lue

à 593 nm après une incubation pendant 5 min à 37 °C. Les résultats sont exprimés en mg EAG /100 g.

II.5.4. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des échantillons de miel testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) L'absorbance est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Liu *et al.* 2013 ; Canadanovic-Brunet *et al.* 2014). L'analyse du pouvoir réducteur du miel est réalisée selon la méthode décrite par Li et Lin. (2010). Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,05 g / ml) est additionné de 0,5 ml du tampon phosphate (pH 6,6 ; 0,2 M) et 0,5 ml d'hexacyanoferrate de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1 %). Le mélange est incubé pendant 20 min au bain marie à 50 °C. Après 0,5 ml de la solution trichloroacétate (10%) sont rajoutés à ce mélange. Dans un tube à essai, 0,5 ml du mélange réactionnel sont prélevés et sont additionnés à 0,8 ml d'eau distillée et 0,1 ml de chlorure ferrique (0,1 %). L'absorbance est lue à 700 nm après 10 min et les résultats sont exprimés en mg EAG /100 g.

II.6. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

L'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* des différents échantillons de miel est réalisée en utilisant deux techniques. La première est la méthode de diffusion en milieu gélosé par des disques en papier whatman stériles afin de déterminer la sensibilité des souches étudiés vis-à-vis des échantillons, la seconde est la méthode de microdilution afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI). Pour cette étude, trois souches bactériennes sont utilisées pour la détermination de l'action antimicrobienne des miels (Tableau IV).

Tableau IV : Souches testées vis-à-vis des activités antibactériennes des échantillons de miel.

Groupe Bactérienne	Souches testées	Milieu d'isolement
Entérobactérie Gram -	<i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922	HEKTOEN
Entérobactérie Gram -	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 700603	HEKTOEN
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	CHAPMEAN

Le choix d'antibiotique a utilisé comme un contrôle positif dans l'étude de l'activité antibactérienne des miels vis-à-vis les trois souches sélectionnées est faite après les avoir testés sur ces même souches. Les trois antibiotiques sont : Acide Naldixique (NA) ; Acide Fusidique (FA) et la Vancomycine (VC).

II.6.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé

L'activité antimicrobienne est réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur les milieux gélose de Muller-Hinton MH selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), (2015).

Les milieux (MH) sont uniformémentensemencés à l'aide des écouvillons stériles par une suspension bactérienne (inoculum) préparée par une solution d'eau physiologique stérile (0,9 %) plus quelques colonies bactériennes. L'inoculum est ajusté à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à $\lambda = 625$ nm à une densité optique (D O) comprise entre 0,08 et 0,13 correspondant à 0,5 McFarland, afin d'obtenir une concentration bactérienne de 10^8 UFC / ml.

Des disques en papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre sont imbibés de 20 μ l par les différents échantillons à tester dissoutes dans l'eau distillée. Après 24 h d'incubation à 37 °C, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle. Les manipulations sont faites sur les trois souches et répétées trois fois pour chaque miel.

II.6.2. Méthode de microdilution

Pour déterminer les CMI, la méthode de microdilution est réalisée selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI), (2015). Le bouillon MH est utilisé comme solution de dilution. Des colonies de chaque souche sont suspendues dans un bouillon MH qui sont ajustées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à $\lambda=625$ nm à une D O comprise entre 0,08 et 0,13 correspondant à 0,5 McFarland, afin d'obtenir une concentration bactérienne de 10^8 UFC /ml. Les différents échantillons de 1 g / ml sont soumis à une série de cinq dilutions répétées en deux fois. Chaque 80 μ l des suspensions bactériennes sont ajouté à 20 μ l de chaque concentration (dilution) dans une plaque de 96 puits, ce qui fait un volume total de 100 μ l. Les bactéries sont mises en incubation à 37 °C pendant 24 h. La croissance ou la non-croissance des dilutions est évaluée à l'œil nu, puis les CMI sont déterminées.

Tableau V : Séries des dilutions de gradient de deux pour chaque miel.

Dilution	Préparation
1/1	Solution mère (1 g de miel dans 1 ml d'eau distillée stérile)
1/2	500 µl de la solution de miel + 500 µl de l'eau distillée stérile
1/4	250 µl de la solution de miel + 750 µl de l'eau distillée stérile
1/8	125 µl de la solution de miel + 875 µl de l'eau distillée stérile
1/16	63 µl de la solution de miel + 937 µl de l'eau distillée stérile

II.7. ANALYSES STATISTIQUES :

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2010. Afin de déterminer les moyennes, les écarts types et les coefficients de corrélation.

Une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur suivie du test LSD (la plus petite différence significative) au seuil $p < 0,05$ ainsi que l'ACP est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1 afin de mettre en évidence les différences significatives entre les échantillons pour chaque paramètre analysé.

Les résultats sont classés par ordre décroissant $a > b > c > d > e > f > g > h$. Les valeurs obtenues, pourtant la même lettre, ne présente aucune différence du point de vue statistique.

CHAPITRE III :
RESULTATS
ET
DISCUSSION

III.1. ANALYSES POLLINIQUES

Tous les miels possèdent intrinsèquement la signature de leurs origines. Il s'agit d'une sorte "d'empreinte digitale" pleine d'informations. La méliissopalynologie est une science qui permet de décrypter cette "empreinte" (Sawyer, 1988). Elle repose sur l'identification et la quantification des éléments figurés présents dans le culot de centrifugation après examen au microscope photonique (Ouchemoukh, 2012).

Les classes de fréquence des grains de pollen sont données comme pollen prédominant (> 45 %), pollen secondaire (16 – 45 %), pollen mineur (3 – 15 %) et pollen rare ou isolé (1 – 3 %) (Ouchemoukh *et al.*, 2007 ; Makhloufi *et al.*, 2010).

Un miel est considéré comme étant monofloral lorsque le nombre de pollens dominants provenant d'une espèce de fleur est supérieur ou égal à 45 %.

Les analyses polliniques révèlent que quatre miels (M01, M02, M03, M05) sont des miels monofloraux (Tableau VI) dont les pollens dominants sont : *Fabaceae* (M01, M05), *Myrtaceae* (M02) et *Ramnaceae* (M03). Le miel M01 de *Fabaceae* ne présente que quelques pollens mineurs (*Apiaceae*, *Ericaceae*) et de pollen rare (*Rosaceae*). Cela est dû à leur richesse en pollen dominant (*Fabaceae*) et c'est le même cas pour les miels M02 de *Myrtaceae* et M03 de *Ramnaceae*. Par contre, le miel M05 de *Fabaceae* contient un nombre remarquable en pollen secondaire (*Cistus*) mais il est pauvre en pollens mineurs et en pollens rares.

La méliissopalynologie a permis aussi l'identification des miels polyfloraux (M04, M06, M07, M08). Ces miels renferment des pollens d'accompagnement dont *Fabaceae* (miels M04, M06, M07, et M08), *Rosaceae* (M06, M07 et M08), *Ericaceae* (M06 et M08), *Myrtaceae* (M04) et *Apiaceae* pour le miel (M07). La présence des miels polyfloraux est une preuve d'une diversité florale mais elle peut s'expliquer aussi par le manque de monocultures (Ouchemoukh, 2012). Les photos des résultats d'analyses polliniques sont illustrées dans l'annexe II.

Tableau VI : Spectre pollinique et pourcentages de pollens de miels analysés

Miels	Origine botanique	Pollens dominant >45%	Pollens d'accompagnement 45-15%	Pollens minoritaires <15%	Pollens très minoritaire <3%
M01	Monofloral	<i>Fabaceae</i> 79	-	<i>Apiaceae</i> 12 <i>Erica</i> 7	<i>Rosaceae</i> 2
M02		<i>Myrtaceae</i> 62	<i>Fabaceae</i> 16	<i>Liliaceae</i> 9 <i>Apiaceae</i> 8	<i>Chenopodiaceae</i> 3 <i>Cistus</i> 2
M03		<i>Ramnaceae</i> 50	-	<i>Apiaceae</i> 15 <i>Myrtaceae</i> 14 <i>Fabaceae</i> 12 <i>Cistus</i> 5	<i>Caluna</i> 2 <i>Lamiaceae</i> 1 <i>Citrus</i> 1
M04	Polyfloral	-	<i>Myrtaceae</i> 41 <i>Brassicaceae</i> 18 <i>Fabaceae</i> 17	<i>Liliaceae</i> 11 <i>Asteraceae</i> 10	<i>Apiaceae</i> 2 <i>Lamiaceae</i> 1
M05	Monofloral	<i>Fabaceae</i> 46	<i>Cistus</i> 28	<i>Memosaceae</i> 9 <i>Liliaceae</i> 7	<i>Apiaceae</i> 3 <i>Rosaceae</i> 3 <i>Chinopodiaceae</i> 2 <i>Asteraceae</i> 2
M06	Polyfloral	-	<i>Ericaceae</i> 36 <i>Rosaceae</i> 21 <i>Fabaceae</i> 18	<i>Myrtaceae</i> 10 <i>Liliaceae</i> 8 <i>Asteraceae</i> 4	<i>Apiaceae</i> 2 <i>Cistus</i> 1
M07		-	<i>Rosaceae</i> 35 <i>Apiaceae</i> 26 <i>Fabaceae</i> 23	<i>Cistus</i> 10	<i>Memosaceae</i> 3 <i>Erica</i> 2 <i>Liliaceae</i> 1
M08		-	<i>Rosaceae</i> 32 <i>Fabaceae</i> 26 <i>Ericaceae</i> 18	<i>Myrtaceae</i> 9 <i>Asteraceae</i> 7	<i>Memosaceae</i> 3 <i>Cistus</i> 2 <i>Liliaceae</i> 2 <i>Lamiaceae</i> 1

III.2. PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

Les résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de miels étudiés sont présentés dans le tableau VII.

III.2.1. Humidité

La teneur en eau est un facteur hautement important car il permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur sa stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours de stockage (Nair, 2014).

La teneur en eau des échantillons de miel M01, M02, M03, M04, M05 et M07 est entre 10,50 % (M07) et 19,36 % (M02) correspondant à des indices de réfraction entre 1,5161 et 1,4890. Ces résultats sont inférieurs à la limite maximale (20 %) fixée par le conseil de l'Union Européenne (2002) et le Codex Alimentaire (2001), indiquant d'un bon stockage ainsi qu'ils sont mûrs degré de maturité. Les humidités obtenues pour ces échantillons sont semblables à ceux obtenues par Tornuk *et al.* (2013) (8,99 à 17,40 %), Doukani *et al.* (2014) (13,4 à 17,2 %) et Habib *et al.* (2014) (13,63 à 20,60 %).

Ces résultats sont proches à ceux rapportés par Amrouche et Kessi (2003) sur des miels algériens (15 et 22,6 % avec une moyenne de 17,68 %), ainsi aux résultats de Chibane et Djillali (2007). La variation de la teneur en eau est due à plusieurs facteurs : le climat, l'origine florale, la force des colonies d'abeilles et aux conditions hygrométriques du rucher (Nandaa *et al.*, 2003 ; Bogdanov *et al.*, 2004 ; Ozcan *et al.*, 2006).

L'humidité du miel (M06) est de $20,25 \pm 0$ % et pour le miel (M08) elle est de $22,6 \pm 0,001$ %. Ces valeurs sont supérieures à la limite autorisée (20 %) et ceci est probablement due au phénomène d'hygroscopie, à la récolte précoce ou aux mauvaises conditions de stockage ou à la teneur en eau du nectar de plante butinée par l'abeille. Des telles humidités prédisposent le miel à la fermentation au cours de la conservation.

Tableau VII : Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés.

Echantillon		Humidité (%)	pH	Brix (%)	CE (mS / cm)	Couleur	Protéines (mg EBSA / 100 g)	Proline (mg / kg)	HMF (mg / kg)
Miels Monofloraux	M01	15,30 ± 0,00 ^c	3,83 ± 0,05 ^c	83,10 ± 0,70 ^c	0,21 ± 0,01 ^e	0,36 ± 0,01 ^g	31,18 ± 1,60 ^f	252,62 ± 3,50 ^g	7,78 ± 0,80 ^c
	M02	19,36 ± 0,00 ^b	3,94 ± 0,02 ^b	79,50 ± 0,40 ^d	0,65 ± 0,02 ^a	0,87 ± 0,03 ^c	55,88 ± 2,00 ^b	487,92 ± 3,00 ^b	1,60 ± 0,20 ^f
	M03	13,16 ± 0,00 ^d	4,37 ± 0,02 ^a	85,95 ± 0,20 ^b	0,46 ± 0,02 ^c	0,68 ± 0,01 ^e	28,97 ± 2,40 ^f	401,74 ± 3,00 ^d	2,99 ± 0,20 ^e
	M05	19,15 ± 0,00 ^b	4,40 ± 0,01 ^a	80,70 ± 0,00 ^d	0,64 ± 0,01 ^a	1,23 ± 0,01 ^a	39,50 ± 2,80 ^e	244,17 ± 1,00 ^g	0,85 ± 0,10 ^g
Miels Polyfloraux	M04	10,86 ± 0,00 ^e	4,42 ± 0,02 ^a	85,37 ± 1,50 ^b	0,44 ± 0,03 ^c	0,73 ± 0,00 ^{de}	55,11 ± 1,00 ^c	368,79 ± 2,00 ^e	0,55 ± 0,10 ^g
	M06	20,25 ± 0,00 ^b	3,90 ± 0,05 ^b	79,77 ± 0,20 ^d	0,46 ± 0,02 ^c	0,78 ± 0,07 ^d	61,94 ± 2,20 ^a	299,93 ± 3,00 ^f	13,97 ± 0,5 ^b
	M07	10,50 ± 0,00 ^e	3,46 ± 0,03 ^d	89,50 ± 0,20 ^a	0,33 ± 0,03 ^d	0,53 ± 0,02 ^f	51,81 ± 0,30 ^c	615,50 ± 1,00 ^a	15,82 ± 0,9 ^a
	M08	22,60 ± 0,00 ^a	3,53 ± 0,02 ^d	77,40 ± 0,20 ^e	0,58 ± 0,02 ^b	1,07 ± 0,01 ^b	46,03 ± 1,30 ^d	428,78 ± 3,00 ^c	5,49 ± 0,70 ^d

- Chaque valeur représente la moyenne ± écart type

- Les valeurs portant la même lettre ne sont pas différentes significativement.

Pour les échantillons du miel monofloraux, le miel M03 de Ramnaceae provenant d'une région chaude (Al Bayadh) présente la plus faible teneur en eau 13,16 %. Le miel M01 de Fabaceae a une humidité plus faible ($15,3 \pm 0,002$ %) que celle de l'échantillon M05 de même origine botanique qui enregistre l'humidité la plus élevée ($19,15 \pm 0,001$), ceci est due à la différence du climat et à l'origine géographique des deux régions. Les échantillons de miel monofloraux M01 et M02 montrent une différence très hautement significative ($p < 0,001$) dans leur humidité.

III.2.2. pH

Le pH des miels analysés oscille entre $3,46 \pm 0,03$ (M07) à $4,42 \pm 0,02$ (M04) avec une moyenne de 3,98. Donc tous les miels analysés sont acides et sont issus du nectar. Les valeurs obtenues sont dans l'intervalle des pH des miels Algériens rapportés par Makhloufi *et al.* (2010).

Les résultats obtenus dans cette présente étude sont en accord avec les recommandations de Codex Alimentaire (2001) et conformes avec ceux représentés par Bogdanov *et al* (1999) qui ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5, par contre ceux provenant de miellat sont comprises entre 5 et 5,5.

La variation du pH due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques qui se produit pendant la transformation de la matière première (Louveaux, 1968).

III.2.3. Couleur

La couleur des miels est une donnée importante, c'est une caractéristique physique dépendant de l'origine du produit mais également un élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du consommateur (Ouchemoukh, 2012).

Les résultats de la couleur des miels analysés varient entre $0,36 \pm 0,01$ à $1,23 \pm 0,01$ qui correspondent à la couleur jaune ambré et brune, respectivement, avec une moyenne de $0,78 \pm 0,02$. Ces résultats sont dans la gamme des valeurs rapportées par Moniruzzaman *et al.* (2013), Bentabol Manzanares *et al.* (2014) et Das *et al.* (2015).

Les échantillons M05 (*Fabaceae*) et M08 (*multifloral*) présentent des densités optiques élevées (1,23 et 1,07 respectivement) qui diffèrent significativement de celles des autres miels. Les miels (M01, M02, M03, M04, M06, M07) ont des couleurs très poches, ces échantillons de miel n'enregistrent pas de différence significative dans leur couleur ($p < 0,05$).

Ce paramètre peut être interprété comme un indice fiable de la présence de pigments ayant une activité anti-oxydante telles que les caroténoïdes et les flavonoïdes (Antony *et al.*, 2000). En effet, l'augmentation de l'intensité de la couleur semble être liée à une augmentation des propriétés antioxydantes et de la teneur en polyphénols du miel (Bertta *et al.*, 2005).

Le miel assombrit généralement avec l'âge. En outre, la variation de la couleur peut-être due à l'utilisation des vieux rayons, au contact avec des métaux et l'exposition soit à des températures élevées ou à la lumière. La couleur des miels dépend de son origine botanique (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

III.2.4. Brix

Le miel est principalement constitué de glucides qui sont exprimés par le degré de brix (Conti *et al.*, 2014). Le brix des échantillons du miel analysés varient entre $77,4 \pm 0,00$ % (M08) et $89,5 \pm 0,00$ (M07) avec une moyenne de $82,66 \pm 0,6$ %. Ces valeurs sont en accord avec celle fixées par le Codex Alimentaire (2001) et supérieures à celles obtenues par Islam *et al.* (2012) sur les miels du Bangladesh (42,8 à 60,6 %) ainsi à celles des miels Malaysiens (55,33 à 64,93 %) rapportées par Moniruzzaman *et al.* (2013) mais proches à celles données par Belay *et al.* (2013) sur les miels d'Ethiopie (60 à 85 %) et celles de Habib *et al.* (2014) sur l'étude des miels des régions arides (79 à 84,10 %).

Le miel M07 polyfloral possède le brix le plus élevé (89,5 %) qui diffère significativement de ceux des autres miels. Toutefois, l'échantillon M08 indique le taux de glucides le plus bas 77,40 % et diffère significativement par rapport aux autres échantillons. Il n'y a aucune différence significative dans la teneur en glucides pour les échantillons monofloraux M02 (*Myrtaceae*) et M05 (*Fabaceae*), ceci pourrait être due au climat des deux régions, puisque les deux sont proches de la mer. Les miels polyfloraux présentent une différence significative dans leurs brix, qui peut-être expliqué par la variabilité de l'origine botanique et géographique des miels.

La composition en glucides dans le miel dépend de l'origine botanique des plantes à partir desquelles le miellat ou le nectar a été récolté, de l'environnement, du climat et des conditions de stockage (Ouchemoukh *et al.*, 2012).

III.2.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles (Amellal, 2008).

Selon Gonnet (1986), les miels de nectar ont une conductivité allant de 0,1 à 0,5 mS / cm, par contre les miels de miellat de 1 à 1,5 mS / cm, les valeurs médianes correspondent à des mélanges de deux origines (nectar + miellat).

La conductivité électrique des miels analysés varie de $0,21 \pm 0,01$ mS / cm (M01) à $0,65 \pm 0,02$ mS / cm (M05) avec une moyenne de $0,47 \pm 0,02$ mS / cm. Les miels M01, M03, M04, M06 et M07 ont des valeurs inférieurs à 0,5 mS / cm. Par conséquent, ces miels sont d'origine florale.

Cependant, les miels M02, M05 et M08 ont des valeurs supérieures à 0,5 mS / cm et inférieures à 1 mS / cm, donc ces miels sont des mélanges de nectar et de miellat. Les résultats obtenus sont semblables à ceux donnés par Makhloufi (2001) sur l'étude des miels algériens (0,114 à 0,94 mS / cm avec une moyenne de 4,97 mS / cm), de Lazarevic *et al.* (2012) (0,16 à 0,64 mS / cm), Belay *et al.* (2013) (0,63 à 0,79 mS / cm), Habib *et al.* (2014) (0,15 à 0,69 mS / cm) et Bettar *et al.* (2015) (0,22 à 0,87 mS / cm). L'échantillon (M08) est le meilleur conducteur du courant électrique (0,65 mS / cm) par rapport aux autres échantillons du miel et la valeur obtenue diffère significativement des autres résultats obtenus.

Selon Rodier (1997), la conductivité électrique est influencée par le pH de la solution et les substances ionisables présents le miel. C'est un bon critère lié à l'origine botanique du miel, et très souvent utilisé dans les routines de contrôle du miel au lieu de la teneur en cendres (Terrab *et al.*, 2003).

III.2.6. Protéines

Les protéines du miel proviennent du nectar, des sécrétions d'abeilles ou des grains de pollen (Louveau, 1985). La teneur en protéines des miels étudiés varie de $28,97 \pm 2,4$ (M03) à $61,94 \pm 2,2$ mg EBSA / 100 g (M06), avec une moyenne de $45,83 \pm 2$ mg EBSA / 100 g. Ces valeurs sont inférieures à ceux rapportées par Chefrou *et al.* (2007) (220 - 960 mg / 100 g) sur les miels d'Algérie, Morales *et al.* (2009) sur les miels d'Espagne (110 - 830 mg / 100 g), Kropf *et al.* (2010) sur les miels de la Slovénie (156 - 516 mg / 100 g) mais sont similaires à celles

rapportés d'Alvarez-Suarez *et al.* (2010) sur les miels du Cuba (12 - 92,3 mg / 100 g) et Kishore *et al.* (2011) sur les miels de Malaisie (40,87 - 78,53 mg / 100 g).

L'étude statistique révèle une différence significative entre la teneur en protéines des échantillons du miel analysés, ceci est due à la différence de l'origine florale des échantillons du miel. Le miel M06 de Bejaïa (multifloral) présente la teneur en protéines la plus élevée qui diffère significativement de celles des autres miels ceci peut être expliqué par la présence d'une concentration élevée du pollen dans ce miel et à son origine botanique. Selon les taux de protéines, les miels sont classés par ordre croissant :

M03 < M01 < M05 < M08 < M07 < M04 < M02 < M06.

Les concentrations en protéines des miels varient suivant leurs origines botanique et géographique, les conditions et le temps de leur entreposage, la présence des enzymes ajoutées par des abeilles pendant le processus de mûrissement et aux grains de pollen y présents (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010 ; Moniruzzaman *et al.*, 2013).

III.2.7. Teneur en proline

La teneur de la proline est utilisée comme référence pour évaluer la quantité des acides aminés dans le miel. Elle peut également servir pour estimer la maturation de miel et détecter une adultération éventuelle. Son taux ne doit pas être inférieur à 180 mg / kg (Bogdanov, 1999). Les différents miels analysés ont une teneur en proline qui varie de 256,62 (M01) à 211,58 ± 1 mg / kg (M07). Par conséquent, ces miels présentent une bonne maturation avec absence d'adultération.

L'étude statistique a révélé une différence significative entre les échantillons du miel. Meda *et al.* (2005) ont rapporté des résultats inférieurs (43,78 - 216,93 mg / kg) par contre les résultats trouvés sont similaires à celles données par Ouchemoukh *et al.* (2007) sur les miels Algériens, Bentabol Manzanares *et al.* (2014) sur les miels d'Espagne et Can *et al.* (2015) sur les miels de Turquie. Etant donné que la proline provient majoritairement des sécrétions salivaires des abeilles, la variation de la teneur de cet acide aminé peut être attribuée à la force et à l'âge des abeilles.

III.2.8. Teneur en HMF

L'analyse spectrométrique des échantillons du miel révèle des teneurs en HMF qui sont situées entre $0,55 \pm 0,1$ mg / kg (M04) et $15,82 \pm 0,9$ mg / kg M07 avec une moyenne de $6,13 \pm 0,46$ mg / kg. Les valeurs des HMF des échantillons analysés sont conformes aux normes fixées par le Codex Alimentarius. (2001) (< 40 mg / kg). Donc, ils sont des miels frais et de bonne qualité.

La teneur en HMF est influencée par certains facteurs notamment le type de sucre, sa concentration, la durée de conservation, la température et l'acidité ou la valeur de pH (Bogdanov *et al.*, 2004). La production d'H.M.F est donc un phénomène naturel dont le processus est lent à température ambiante. Par contre, le chauffage du miel l'accélère énormément et quel que soit la nature du miel (plus ou moins acide) (Predrix, 2003).

Le taux en HMF n'est pas une propriété intrinsèque de miel donc il n'est pas utilisé pour la détermination de l'origine botanique. Par contre, c'est un paramètre pour estimer la fraîcheur du miel (Schweitzer *et al.*, 2004).

III.2.9. Pouvoir rotatoire

Les miels de miellat sont en général dextrogyres ; les miels de nectar sont lévogyres. Tous les miels analysés sont lévogyres. Les résultats du pouvoir rotatoire des huit miels varient de $-8,35 \pm 0,01$ (M07) à $-3,11 \pm 0,01$ (M03) (tableau VIII). Les miels M01 et M07 sont très lévogyres par rapport aux autres miels. Les résultats obtenus dans cette présente étude sont proches de ceux obtenus par Ouchemoukh (2012) et Nanda *et al.* (2003) ($-9,3$ et $-6,18$, respectivement).

Tableau VIII : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons	Pouvoir rotatoire	Echantillons	Pouvoir rotatoire
M01	$-6,10 \pm 0,02^f$	M04	$-3,35 \pm 0,12^b$
M02	$-4,67 \pm 0,04^d$	M06	$-3,89 \pm 0,01^c$
M03	$-3,14 \pm 0,01^a$	M07	$-8,35 \pm 0,01^h$
M05	$-6,30 \pm 0,03^g$	M08	$-5,88 \pm 0,02^e$

II.3. TENEURS EN ANTIOXYDANTS

Les résultats du dosage des antioxydants et l'évaluation des activités antioxydantes sont présentés dans le tableau IX.

II.3.1. Composés phénoliques

L'évaluation du contenu phénolique du miel peut être employée en tant que bons paramètres pour la détermination des principaux composants de l'activité antioxydante du miel (Bueno-Costa *et al.*, 2016).

Les résultats du dosage des polyphénols illustrés dans le Tableau IX montrent que les concentrations varient de $24,91 \pm 2,72$ à $101,68 \pm 0,47$ mg EAG / 100g avec une moyenne de 37,63 mg EAG / 100 g. Ces résultats sont proches à ceux de Sousa *et al.* (2016) (31,5 à 126,6 mg EAG / 100 g) et diffère de ceux El-Haskoury *et al.* (2017) (75,52 à 245,22 mg EAG / 100 g) et Perna *et al.* (2013) (10,65 à 15,05 mg EAG / 100g).

Les résultats indiqués dans le tableau IX montrent que les miels monofloraux présentent une concentration élevée avec l'échantillon M05 de *Fabaceae* ($101,68 \pm 0,47$ mg EAG / 100 g) qui diffère significativement de celle des autres miels analysées. Toutefois, l'échantillon M01 *Fabaceae* présente le taux le plus faible en ces composés ($24,91 \pm 3$ mg EAG / 100 g). Les miels polyfloraux M04, M06, M07 et M08 présentent une différence significative avec une moyenne $52,02 \pm 1,72$ mg EAG / 100 g.

Plusieurs raisons peuvent être derrière les différences de résultats dans les teneurs en polyphénols du miel dépendant de l'origine géographique et florale (Nagai *et al.* 2002 ; Rodriguez Flores *et al.*, 2015).

III. 3.2. Flavonoïdes

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

Les résultats indiqués dans le tableau IX montrent que les teneurs en flavonoïdes varient de $7,01 \pm 0,25$ à $34,52 \pm 0,16$ mg EC / 100 g avec une moyenne $20,21 \pm 0,29$ mg EC / 100g.

Ces résultats sont proches à ceux de Ouchemoukh (2012) (0,3 à 35,74 mg EC / 100 g) et considérables à ceux de Rodriguez Flores *et al.* 2015 (6,6 à 13,1 mg EC / 100 g).

Tableau IX: Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.

Echantillon		Polyphénols (mg EAG / 100 g)	Flavonoïdes (mg EC / 100 g)	ABTS (%)	DPPH (%)	FRAP (mg EAG / 100g)	Pouvoir réducteur (mg EAG / 100 g)
Miels Monofloraux	M01	24,91 ± 3,00 ^f	7,01 ± 0,30 ^g	12,14 ± 3,00 ^g	27,41 ± 3,00 ^e	21,69 ± 3,00 ^d	22,54 ± 2,00 ^d
	M02	43,64 ± 3,00 ^e	26,52 ± 1,00 ^b	52,25 ± 3,00 ^d	40,37 ± 1,00 ^d	55,35 ± 3,00 ^c	16,22 ± 0,30 ^e
	M03	44,25 ± 1,00 ^e	15,40 ± 0,20 ^e	63,18 ± 3,00 ^c	32,27 ± 4,00 ^e	8,82 ± 3,00 ^e	17,18 ± 0,20 ^e
	M05	101,68 ± 0,00 ^a	34,52 ± 0,20 ^a	84,91 ± 3,00 ^a	54,00 ± 2,00 ^a	124,79 ± 6,00 ^b	36,91 ± 1,00 ^a
Miels Polyfloraux	M04	50,35 ± 0,00 ^{cd}	24,33 ± 0,40 ^c	73,24 ± 1,00 ^b	53,09 ± 1,00 ^{bc}	20,99 ± 5,00 ^d	17,83 ± 0,20 ^e
	M06	52,23 ± 2,00 ^c	17,04 ± 1,00 ^d	36,55 ± 1,00 ^e	29,03 ± 2,00 ^{de}	23,23 ± 1,00 ^d	33,35 ± 0,10 ^b
	M07	46,66 ± 1,00 ^{de}	12,71 ± 0,40 ^f	19,45 ± 2,00 ^f	27,30 ± 1,00 ^e	21,69 ± 3,00 ^d	27,80 ± 0,50 ^c
	M08	66,83 ± 1,00 ^b	24,16 ± 0,30 ^c	47,89 ± 1,00 ^d	49,90 ± 3,00 ^c	162,00 ± 3,00 ^a	31,40 ± 0,20 ^b

Les miels monofloraux présentent une teneur élevée avec l'échantillon M05 *Fabaceae* ($34,52 \pm 0,2$ mg EC / 100 g). L'échantillon M01 *Fabaceae* présente une teneur de $7,01 \pm 0,3$ mg EC / 100 g. Ces échantillons ne présentent pas de différence significative. Cependant, les miels polyfloraux M04 et M08 présentent une différence significative avec une moyenne de $24,25 \pm 0,35$ mg EC / 100 g suivie respectivement d'échantillons M06 et M07 qui ne présentent pas de différence significative avec les autres échantillons.

III.4. ACTIVITE ANTIOXYDANTES

III.4.1. Pouvoir antiradicalaire par l'ABTS

Le pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^+$ par les échantillons de miel est compris entre $12,14 \pm 3$ à $84,91 \pm 3$ % avec une moyenne $48,70 \pm 3$ %. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Habib *et al.* (2014) (40 à 80 %).

Les miels monofloraux présentent un pourcentage élevé avec l'échantillon M05 (*Fabaceae*) ($84,91 \pm 3$ %) suivi respectivement de l'échantillon M03 (*Ramnaceae*) ($63,18 \pm 3$). Ces résultats sont inférieurs à ceux de Perna *et al.* (2013) (60,83 %). Ces échantillons montrent une différence significative ($p < 0,05$). Les miels polyfloraux, présentent un pourcentage plus élevé avec l'échantillon M04 ($73,24 \pm 1$ %) qui est proche au résultat de Wilczyńska (2014) (79 %), suivie d'un faible pourcentage avec l'échantillon M07 ($19,45 \pm 2$). L'activité antioxydante dépend de type et de la quantité d'antioxydant présent dans le miel.

III.4.2. Pouvoir antiradicalaire par DPPH

Les valeurs du pourcentage d'inhibition du radical DPPH varient entre $27,30 \pm 1$ à $54,00 \pm 2$ % avec une moyenne $38,65 \pm 0,1$ %. Ces résultats sont similaires à ceux d'Alvarez-Suarez *et al.* 2012 (38,15 à 58,4 %) mais ils sont supérieurs à ceux obtenus par Doukani *et al.* (2014) (3,42 à 22,06 %).

Les échantillons analysés montrent une différence significative ($P < 0,05$). Dans les miels monofloraux, le miel M05 présente un pourcentage d'inhibition le plus élevé ($54,00 \pm 2$ %) et dans les échantillons polyfloraux c'est le miel M04 qui possède un pourcentage le plus élevé ($53,09 \pm 1$ %). Cependant, les miels M01 (*Fabaceae*) et M07 (polyfloral) présentent des activités antiradicalaire les plus faibles (27,41 %) et (27,30 %) respectivement et ils sont quasiment identiques même s'ils proviennent d'une origine florale différente.

III.4.3. Test de FRAP

Le test de FRAP est basé sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux Fe^{2+} (Karagozler *et al.*, 2008).

Les résultats dans le tableau IX, montrent que l'activité antioxydante varie de $8,82 \pm 3$ à 162 ± 3 mg EAG / 100 g avec une moyenne de $54,82 \pm 3,5$ mg EAG / 100 g. Ces résultats sont supérieurs à ceux de Sagdic *et al.* (2013) (70,09 à 86,19 mg AAE / 100g).

Les miels M05 (*Fabaceae*) et M08 (polyfloral) présentent une capacité antioxydante importante : 124,79 et 162 mg EAG / 100, respectivement, qui présente une grande différence significative par rapport aux autres échantillons. Les miels (M01 et M07) ont un même potentiel antioxydant ($21,69 \pm 3$ mg EAG / 100 g) en dépit de leur origine florale différente. Le miel M03 (*Ramnaceae*) révèle une très faible teneur antioxydante 8,82 mg EAG / 100 g, qui indique une très faible activité antioxydante. Les échantillons M01, M04, M06 et M07 ne montrent pas une différence significative.

D'après Doukani *et al.* (2014), l'activité antioxydante peut être attribuée à la présence de différents composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques.

III.4.4. Pouvoir réducteur

L'analyse des miels enregistrent un pouvoir réducteur qui varie entre $16,22 \pm 0,3$ et $36,91 \pm 1$ mg EAG / 100 avec une moyenne $25,40$ mg EAG / 100 g. Tous les miels analysés ont la capacité de réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} . L'échantillon M05 (*Fabaceae*) enregistre un potentiel le plus élevé $36,91$ mg EAG / 100g. Cependant, l'échantillon M02 (*Myrtaceae*) enregistre un faible potentiel antioxydant $16,22$ mg EAG / 100 g. Les moyennes du pouvoir réducteur obtenues avec les miels polyfloraux enregistrent un potentiel élevé avec les échantillons M06 ($33,35$ mg EAG / 100 g) et M08 ($31,40$ mg EAG / 100 g). L'échantillon M04 présente un potentiel antioxydant faible $17,83$ mg EAG / 100 g. Ces résultats présentent une différence significative vis-à-vis les autres résultats obtenus dans cette présente étude.

III.5. ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

III.5.1. Méthode de diffusion en gélose

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huit échantillons de miel sur les trois souches bactériennes est basé sur la mesure des diamètres de la zone claire entourant le disque en (mm), des zones d'inhibitions permettant de déterminer l'activité antimicrobienne des miels, en se référents à l'échelle d'estimation de cette activité donnée par Ponce *et al.* (2003) (tableau X).

Tableau X : Échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne Ponce *et al.* (2003).

Activité antimicrobienne	Degré de sensibilité	Le diamètre de la zone d'inhibition
Extrêmement sensible	+++	Plus de 20mm
Très sensibles	++	15mm à 19mm
Sensibles	+	8 mm à 14mm
Non sensibles	-	Moins de 8 mm

- Les résultats de test de l'activité antibactérienne des huit miels sont regroupés dans le tableau XI.













Miels	M01 – M02	M03 – M04	M05 – M06	M07 – M08
Souches				
Escherichia Coli				
	0 – 10,33 mm	9 – 12 mm	9,67 – 9,67 mm	12– 13,33 mm
Staphylococcus aureus				
	23 mm	31 – 25,67 mm	25,33 – 22 mm	28 – 26,67 mm
Klebsiella pneumoniae				
	9 – 11 mm	8,33 – 11 mm	9,33 – 0 mm	9 – 8,67 mm

Figure 2: Effet des miels sur les souches bactériennes.

1 : Contrôle positif (antibiotique).

2 : Contrôle négatif (eau distillée stérile).

3 et 4 : Échantillons de miel.

Tableau XI : Diamètres des zones d'inhibition en mm du miel sur les souches testées.

Echantillon	Escherichia coli	Degré de sensibilité	Staphylococcus aureus	Degré de sensibilité	Klebsiella Pneumoniae	Degré de sensibilité
M01	0,00 ± 0,00 ^d	-	23,00 ± 0,82 ^{bc}	+++	9,00 ± 0,82 ^b	+
M02	10,33 ± 1,20 ^{bc}	+	23,00 ± 2,16 ^{bc}	+++	11,00 ± 1,41 ^a	+
M03	9,00 ± 0,00 ^{bc}	+	31,00 ± 2,16 ^a	+++	8,33 ± 0,94 ^b	+
M04	12,00 ± 0,00 ^{abc}	+	25,67 ± 1,70 ^{abc}	+++	11,00 ± 0,82 ^a	+
M05	9,67 ± 0,47 ^c	+	25,33 ± 3,40 ^{abc}	+++	9,33 ± 0,47 ^{ab}	+
M06	9,67 ± 0,47 ^c	+	22,00 ± 2,83 ^c	+++	0,00 ± 0,00 ^c	-
M07	12,00 ± 1,60 ^{ab}	+	28,00 ± 4,90 ^{ab}	+++	9,00 ± 0,82 ^b	+
M08	13,33 ± 0,90 ^a	+	26,67 ± 1,70 ^{abc}	+++	8,67 ± 1,25 ^b	+

D'après les résultats obtenus, l'activité antibactérienne est différente pour les huit échantillons de miel. Les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 0 à 13,33 mm pour *E Coli*, 22 à 31 mm pour *S. aureus* et de 0 à 11 mm pour *Klebsiella Pneumonia*.

Les miels testés ont un effet antibactérien moyen envers la souche *Escherichia coli*, l'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec l'échantillon M08 avec un diamètre 13,33 mm et une absence de sensibilité est enregistrée vis-à-vis du miel M1. Une différence significative est marquée entre les huit miels testés par rapport à leurs capacités antibactériennes ($p < 0,05$).

Tous les miels ont un effet antibactérien vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*. L'effet inhibiteur le plus prononcé est obtenu avec le miel M03 avec un même diamètre qui est de 31 mm, suivie par les échantillons M07, M08, M04 et M05, respectivement.

La *Klebsiella Pneumonia* est moyennement sensible aux échantillons de miel testés. L'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec les échantillons de miel M02 et M04 avec un diamètre identique qui est de 11 mm suivie par les miels M05, M01 et M07 respectivement. Le miel M06 n'a pas montré une activité antibactérienne par rapport à la souche testée. Les miels étudiés ne montrent pas une différence significative à l'exception de l'échantillon M06.

Le diamètre des zones d'inhibition obtenue est presque semblable à celui rapporté par Bonté et Desmolière (2013) (7,66 à 11,66 mm) sur *Escherichia coli*. Pour *Staphylococcus aureus*, les diamètres des zones d'inhibition sont plus grands que ceux obtenus par Voidarou *et al.* (2014) (0,9 à 12,88 mm).

Staphylococcus aureus présente une sensibilité extrêmement élevée comparant à *Escherichia coli* et *Klebsiella Pneumonia* qui ont une sensibilité moyenne par rapport aux miels testés.

La comparaison des résultats obtenus démontre que la capacité antibactérienne est variable d'une souche à une autre et d'un miel à un autre. Une activité antibactérienne plus importante est enregistrée sur *S.aureus* (Gram +) que *E. coli* et *Klebsiella* (Gram -). Ceci peut s'expliquer par la composition chimique de la paroi des souches bactériennes. Les bactéries Gram (-) présentent des structures spéciales : les lipopolysaccharides ne permettent pas l'incursion des molécules (Jimoh *et al.*, 2010). La paroi cellulaire des bactéries Gram (+) est constituée d'une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram (-) a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Balentine *et al.*, 1999).

D'après AL-Habsi et Niranjana. (2012) l'effet antibactérien du miel peut être expliqué par le contenu important en enzymes et les propriétés physiques du miel, conformément à Kerkliet (1996) qui rapporte que l'effet antibactérien du miel peut être interprété par son contenu important en enzyme, la glucose oxydase qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.

III.5.2. Méthode de la microdilution

La méthode de microdilution a permis d'établir les CMI (annexe III).

D'après le tableau XII, les résultats de la CMI des différents échantillons de miel testés sur *E-coli* montre que cette souche est résistante. Les miels monofloraux M02 et M03 ainsi que le miel polyfloral M04 ont une CMI comprise entre ($500 \geq \text{CMI} > 250$ mg / ml). Par contre, le miel M01 a une CMI supérieure à 1000 mg / ml. Ces résultats sont supérieurs à ceux apportés par Manisha Deb Mandal et Shyamapada Mandal. 2011 pour le miel Egyptien (100 mg / ml). Le miel M01 (*Fabaceae*) et les miels *polyfloraux* M06 et M07 ne présentent pas une différence significative entre eux ($\text{CMI} > 1000$ mg / ml).

Tableau XII : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des échantillons de miel sur les souches étudiées.

Bactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 700603
Echantillon	(mg / ml)	(mg / ml)	(mg / ml)
M01	CMI > 1000 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	125 ≥ CMI > 62,5 mg / ml
M02	500 ≥ CMI > 250 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	500 ≥ CMI > 250 mg / ml
M03	500 ≥ CMI > 250 mg/ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	500 ≥ CMI > 250 mg / ml
M04	500 ≥ CMI > 250 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	500 ≥ CMI > 250 mg / ml
M05	1000 ≥ CMI > 500 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	1000 ≥ CMI ≥ 500 mg / ml
M06	CMI > 1000 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	250 ≥ CMI > 125 mg / ml
M07	CMI > 1000 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	500 ≥ CMI > 250 mg / ml
M08	1000 ≥ CMI > 500 mg / ml	CMI ≤ 62,5 mg / ml	500 ≥ CMI > 250 mg / ml

La souche *S. aureus* révèle une sensibilité importante vis-à-vis les huit miels testés. La CMI des différentes concentrations de miel (monofloraux, polyfloraux) est inférieur ou égale à 62,5 mg / ml.

Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Miorin *et al.* (2003) (CMI entre 126,23 - 185,70 mg / ml) et ceux obtenus par Francine Manhago Bueno-Costa *et al.* (2015) (10 -250 mg / kg) pour les miels Brésiliens.

Les CMI obtenues avec *K. pneumonia* mentionnent que cette souche est moyennement sensible aux différentes dilutions des miels testés. Un intervalle (500 ≥ CMI > 250 mg / ml) pour les miels M02 (*Ramnaceae*), M03 (*Myrtaceae*) et les miels polyfloraux M04, M07, M08. (125 ≥ CMI > 62,5 mg / ml) pour M01, par contre le M05 a une CMI inférieur à 1000 mg / ml.

D'après Elbanna *et al.* (2014), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par l'action de la glucose oxydase ou l'activité de non-peroxyde est l'aspect principal lié à l'activité antimicrobienne de miel. La concentration du miel a un impact sur l'activité antibactérienne, plus la concentration du miel est élevée, plus son utilité est importante en tant qu'agent antibactérien (Taormina PJ *et al.*, 2001).

III.6. CORRÉLATIONS

III.6.1. Corrélations paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes

L'analyse de la matrice de corrélation a révélé des corrélations très hautement significatives ($p < 0,001$) entre la conductivité électrique et les potentiels antioxydants ($r = 0,90$ avec flavonoïdes ; $r = 0,72$ avec test d'ABTS ; $r = 0,68$ avec les polyphénols ; $r = 0,66$ avec test DPPH ; $r = 0,64$ avec test de FRAP). De plus une corrélation très hautement significative est marqué entre le pouvoir réducteur et les polyphénols ($r = 0,68$) (annexe V).

III.6.2. Corrélations couleurs, antioxydants et activités antioxydantes

L'analyse statistique des résultats indique l'existence d'une corrélation très hautement ($P < 0,001$) entre la couleur et les activités antioxydantes ($r = 0,81$ avec test de FRAP ; $r = 0,73$ avec test d'ABTS ; $r = 0,92$ avec flavonoïde ; $r = 0,86$ avec les polyphénols ; $r = 0,76$ avec le test DPPH) (figure 3 ; 4 ; annexe V). Ces résultats sont inférieurs à ceux d'Isla *et al.* (2011) (polyphénols $r = 0,95$), et similaire à ceux d'Escuredo *et al.* (2013) ($r = 0,84$ avec les flavonoïdes).

Le potentiel antioxydant dépend énormément des composés phytochimiques présents dans le miel.

III.6.3. Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

L'analyse statistique a révélé des relations très hautement significatives entre les antioxydants et le potentiel antioxydant.

Les teneurs en polyphénols indique des corrélations très hautement significatives ($p < 0,001$) avec les différentes activités antioxydantes ($r = 0,82$ avec les flavonoïdes ; $r = 0,72$ avec test de DPPH; $r = 0,69$ avec test d'ABTS, test de FRAP et le pouvoir réducteur) (Figure 9 ; annexe V).

En outre, les proportions en polyphénols et flavonoïdes des échantillons de miel sont en accord avec les résultats d'Ouchemoukh (2012) et Canadovic *et al.* (2014) ($r = 0,83$; $r = 0,82$, respectivement). De même que des corrélations remarquées à $p < 0,001$ entre les flavonoïdes et test de DPPH ($r = 0,86$) et le test d'ABTS ($r = 0,84$) (Figure 12 ; annexe V). Ceci est en accord avec les résultats d'Ouchemoukh (2012) ($r = 0,83$).

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

III.6.4. Corrélations activités antibactériennes, paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes

L'analyse statistique montre une présence de corrélation hautement significative ($p < 0,01$) entre le diamètre des zones d'inhibition d'*E. coli* avec quelques paramètres physico-chimiques : la conductivité électrique ($r = 0,59$), la couleur ($r = 0,53$) et l' HMF ($r = 0,55$) (figure 16 ; 14 ; annexe V). Y'a une zone d'inhibition qui manifestent une corrélation significative avec les Flavonoïdes ($r = 0,52$) (figure 13; annexe V). Une outre l'activité antioxydante avec le DPPH est en relation directe avec les zones d'inhibitions de *Klebsiella pneumonia* ($r = 0,42$) (Figure 15; annexe V).

III.7. ANALYSES STATISTIQUE

III.7.1. Analyse en composant principal (ACP)

L'ACP conduit à évaluer l'effet total des paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes et antibactériennes des miels analysés.

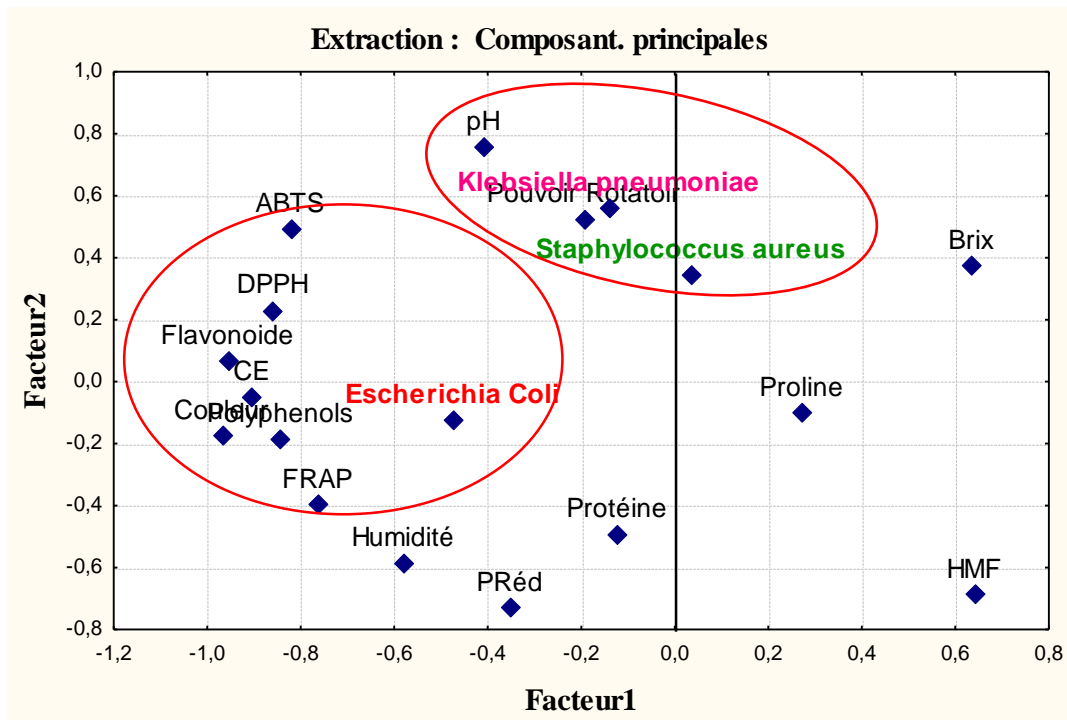


Figure 3 : Distribution des échantillons en fonction des 2 facteurs.

D'après le graphe, certains paramètres contribuent un groupe : ABTS, DPPH, Flavonoïde, CE, Couleur, FRAP et *Escherichia coli*. Ces paramètres sont liés et proches dans la figure car ils manifestent des corrélations significatives qui sont confirmées auparavant dans la matrice de corrélation. En effet la couleur montre une corrélation très hautement significative avec les flavonoïdes, les polyphénols, ABTS, DPPH et FRAP. On outre, elle montre une corrélation significative avec le pouvoir rotatoire et une corrélation hautement significative avec les zones d'inhibition d'*E. coli*. *Klebsiella pneumoniae* et *staphylococcus aureus* sont proches dans le graphe car les zones d'inhibition ne manifestent pas de corrélation avec les paramètres étudiés (annexe VI).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

La présente étude a déterminé la qualité de huit échantillons de miel récoltés en 2016 dans différentes wilayas d'Algérie (Bejaïa, Tizi-Ouzou, Al Bayadh et Jijel) en analysant l'origine botanique, les propriétés physico-chimiques et les activités antioxydantes ainsi que les activités antibactériennes.

Les analyses polliniques montrent que quatre miels sont multif floraux et 4 autres sont monofloraux (deux miels de Fabaceae, un miel de *Myrtaceae* et l'autre de *Ramnaceae*). La majorité des résultats obtenus, concernant les paramètres physico-chimiques, sont en accord avec des normes du Codex Alimentarius. Cependant, quelques exceptions ont été retenues dans le taux d'humidité. L'humidité des miels analysés varie de 10,50 à 22,60 % (l'échantillon M06 et M08 ont des taux d'humidité supérieurs à 20 %). Le pH oscille de 3,46 à 4,42. La conductivité électrique de tous les miels est inférieure à 0,8 mS / cm, elle est entre 0,21 à 0,65 mS / cm. Par conséquent, les échantillons analysés sont d'origine florale et cela est confirmé par les résultats de pouvoir rotatoire (-8,35 à -3,14), les miels sont lévogyres. Les taux d'HMF des miels étudiés sont inférieurs à la limite maximale (40 %), ce qui prouve que les miels sont frais et de bonne qualité. La teneur en protéines révèle des valeurs allant de 28,97 à 61,94 mg EBSA / 100 g. La concentration en proline varie de 252,62 à 615,50 mg / kg. La couleur des miels varie de jaune ambré au brun avec des densités optiques allant de 0,36 à 1,23. La couleur joue un rôle très important dans la détermination de la capacité antioxydante du miel. Ces critères de qualité sont influencés par les conditions environnementales, le type de la flore butinée, la force de la colonie d'abeille et les compétences de l'apiculture.

La teneur des miels analysés en polyphénols montre une différence significative qui varie de 24,91 à 101,68 mg EAG / 100 g ; leur teneur en flavonoïdes oscille de 7,01 à 34,52 mg EC / 100 g. Le miel M01 contient des taux faibles en polyphénols et en flavonoïdes et il est de couleur claire contrairement au miel M05 de couleur très foncée qui présente des taux en polyphénols et en flavonoïdes élevés.

Ce travail a montré que les miels étudiés possèdent des activités antioxydantes. L'activité antiradicalaire par l'ABTS et par le DPPH fluctue de 12,14 à 84,91 % et de 27,41 à 54,00 % respectivement. L'activité antioxydante par le test de FRAP et le pouvoir réducteur montre des taux qui oscillent de 8,82 à 162,00 mg EAG / 100 g et de 16,22 à 36,91 mg EAG / 100 g, respectivement.

Les résultats de l'activité antibactérienne de huit miels analysés enregistrent des zones d'inhibitions qui varient de 0 à 13,33 mm pour la souche *Escherichia coli*, 22 à 31 mm avec la

souche *Staphylococcus aureus* et 0 à 11 mm avec la souche *Klebsiella pneumoniae*. En comparant ces résultats aux antibiotiques utilisés, on conclut que les miels analysés présentent une valeur thérapeutique importante.

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- D'évaluer l'activité gastroprotectrice et d'identifier les composants impliquant impliqués dans cette activité.
- De réaliser l'activité antibactérienne sur une vaste gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des maladies.
- De faire des études sur des mélanges du miel ou miel-plante médicinale afin d'augmenter leurs pouvoirs thérapeutiques.
- D'évaluer l'effet de la conservation du miel et l'influence de traitement thermique afin de déterminer les conditions optimales permettant de préserver les qualités organoleptiques et biologiques du miel.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Adam, G. (2011).** Botanique apicole, production du nectar et pollen. Ecole d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, p : 1-11.
- Adebiyi, F.M., Akpan, I., Obajunwa, E.I. & Olaniyi, H.B. (2004).** Chemical/physical characterization of Nigerian honey. *Pakistan Journal of nutrition*, 3 (5), p: 278-281.
- Al-Habsi, N. A., & Niranjana, K. (2012).** Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food chemistry*, 135(3), p: 1448-1454.
- Alimentarius, C. (2001).** Revised codex standard for honey. *Codex stan*, 12, 1982. *Revue*, 12, p: 1-7.
- Al-Khalifa, A.S., Al-Arif, I.A. (1999).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry* 67, p: 21-25.
- Allen K.L., Molan P.C. and Reid G.M. (1991).** A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43, p: 817-822.
- Allen K.L., Molan P.C. and Reid G.M. (1991).** A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43, p: 817-822.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A., & Al-Habori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition research*, 22(9), p : 1041-1047.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., González-Paramás, A. M., Damiani, E., Astolfi, P., Martínez-Sánchez, G., ... & Battino, M. (2012).** Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), p: 1508-1516.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., ... & 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(8), p: 2490-2499.
- Amellal, H. (2008).** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes, formulation d'un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en Technologie Alimentaire. Université M'hamed Bouguera. Boumerdes. p: 127.
- Ames, N. B., Shigenaga, M. K. & Hagen, T.M. (1993).** Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 90, p: 7915-7922.
- Aupy, G., Paccalin, J. & Lostalot, J.D. (1994).** Miel et abeilles. *Diététique et Médecine*, 4, p : 161-173.
- Azeredo L. da C., Azeredo M.A.A., de Souza S.R., Dutra V.M.L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey sample of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry* 80, p: 249-254.

B

- Ballot-flurin, C. (2010).** Les fondements de la santé par les abeilles : l'apithérapie. Les bienfaits de l'apithérapie, 36268, p : 1-162.
- Bath, P.K. & Singh, N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. Food chemistry, 67, p: 389-397.
- Belay, A., Solomon, W. K., Bultossa, G., Adgaba, N., & Melaku, S. (2013).** Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. Food chemistry, 141(4), p: 3386-3392.
- Bentabol Manzanares, A., Hernandez Garcia, Z., Rodriguez Galdon, B., Rodriguez Rodriguez, E. and Diaz Romero C. (2011).** Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. Food Chemistry, 126, p: 664-672.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R. M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. Analytica Chimica Acta, 533(2), p: 185-191.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. and Golob T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. Food Chemistry, 105 (2), p: 822-828.
- Bertrand, B. (2013).** Analyse de la diversité moléculaire de populations d'abeilles de la lignée ouest-méditerranéenne (*Apis mellifera mellifera*), application à la conservation. HAL.
- Bettar, I., González-Miret, M. L., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia, F. J., & Terrab, A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. Arabian Journal of Chemistry.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M.P., Albertini, M.C. & Piatti, E. (2006).** Raw Milleriori honey is packed full of antioxidants. Food Chemistry, 97, p: 217-222.
- Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Känzig A., Stöckli H. and Zürche K. (1995).** Miel: définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. Centre Suisse de Recherches Apicoles, p : 1-26.
- Bogdanov S., Lüllman C., Martin P., Von Der Ohe W., Russmann H., Vorwohl G., Persano- Oddo L., Sabatini A. G., Marcazzan G. L., Piro R., Flamini C., Morlot M., Heritier J., Borneck R., Mariolas P., Tsigouri A., Kerkvliet J., Ortiz A., Ivanov, T., D'Arcy B., Mossel B. and Vit P. (1999).** Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. Bee World, 80(2), p : 61–69.
- Bogdanov, S. (1997).** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. LWT-Food Science and Technology, 30(7), p: 748-753.

Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., & Flamini, C. (1999). Honey quality and international regulatory standards, review by the International Honey Commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.

Bogdanov, S., Ruoff, K., & Oddo, L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys, a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4-S17.

Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013). Le miel, origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), p : 18-21.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), p: 248-254.

Brady N. F., Molan P. C. and Harfoot C. G. (1996). The sensitivity of Dermatophytes to the antimicrobial activity of Manuka honey and other honey. *Pharmaceutical Sciences*, 2, 471-473.

Brady N. F., Molan P. C. and Harfoot C. G. (1996). The sensitivity of Dermatophytes to the antimicrobial activity of Manuka honey and other honey. *Pharmaceutical Sciences*, 2, p: 471-473.

Bruneau E. 2002. Le miel. In «Le Traité Rustica de l'Apiculture». Edition Rustica, p : 354-364.

Bueno-Costa, F. M., Zambiasi, R. C., Bohmer, B. W., Chaves, F. C., da Silva, W. P., Zanusso, J. T., & Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology*, p: 65, 333-340.

C

Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys, their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food chemistry*, p: 180, 133-141.

Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Šaponjac, V. T., Stajčić, S., Vulić, J., Djilas, S., & Popović, B. (2014). Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, p: 62, 1-7.

Canini A., DE Santis L., Leonardi D., DI Giustino P., Abbale F., Damesse E. et Cozzani R., 2005. Qualificazione dei miele e piante nettariifere del Camerun Occidentale. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, anno n 34 , p: 4.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2015). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard-Twelfth Edition; CLSI document M02-A12.

Codex Alimentarius Commission (2001). Codex standard 12, Revises Codex Standard for honey, p : 1-7.

Commission Européenne (2002). Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10, p : 47-52.

Conti, M. E., Finoia, M. G., Fontana, L., Mele, G., Botrè, F., & Iavicoli, I. (2014). Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(1), p: 44.

Cortopassi-Laurino M. and Gelli D.S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Méliponinés* du Brésil. *Apidologie*, p : 22, 61-73.

D

da C Azeredo, L., Azeredo, M. A. A., De Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80(2), 249-254.

da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey, Chemical composition, stability and authenticity. *Food chemistry*, p: 196, 309-323.

Das, A., Datta, S., Mukherjee, S., Bose, S., Ghosh, S., & Dhar, P. (2015). Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *LWT-Food Science and Technology*, 61(1), p: 244-250.

Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., & Hacini, Z. (2014). Étude physico-chimique et phyto-chimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, p : 10, 37-49.

E

Elbanna, K., Attalla, K., Elbadry, M., Abdeltawab, A., Gamal-Eldin, H., & Ramadan, M. F. (2014). Impact of floral sources and processing on the antimicrobial activities of different unifloral honeys. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(3), p: 194-200.

El-Haskoury, R., Kriaa, W., Lyoussi, B., & Makni, M. (2017). *Ceratonia siliqua* honeys from Morocco, Physicochemical properties, mineral contents, and antioxidant activities. *Journal of food and drug analysis*.

Esta, M., Panfili, G., Macroni, E. & Trivisonno, M. C. (1996). Valorization of the honeys from the Molise region through physico-chemical, organoleptic and nutritional assessment. *Food Chemistry*, 58 (1-2), p: 125-128.

F

Flores, M. S. R., Escuredo, O., & Seijo, M. C. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food chemistry*, 166, p: 101-106.

Flurin, C. B. (2009). Miels et gelée royale, leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie*, 7(2), p : 87-90.

France. (2003). Journal officiel de la République française.

G

Gidamis, A. B., Chove, B.E., Shayo, N. B., Nnko, S. A. & Bangu, N.T. (2004). Quality evaluation of honey harvested from selected areas in tanzania with special emphasis on hydroxymethyl furfural (HMF) levels. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59, p: 129-132.

Gomes S., Dias L.G., Moreira L.L., Rodrigues P. and Estevinho L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48, p : 544-548.

Gonnet M. (1982). Le miel : composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture, 1982, p : 1-18.

Gonnet M. 1986. Miel de tournesol. Revue Française d'Apiculture ; 464, 60-62.

Guo Wenchuan, Zhu Xinhua, Zhuang Hong, Liu Yi. (2010). Sugar and water contents of honey with dielectric property sensing. Journal of Food Engineering, Volume 97, Issue 2, p: 275-281.

H

Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U. D., & Ibrahim, W. H. (2014). Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. Food chemistry, 153, p: 35-43.

Hoyet, C. (2005). Le miel, de la source à la thérapeutique (Thèse d'Etat, Université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy), p : 87.

I

Isla M.I., Craig A., Ordonez R., Zampini C., sayago J., Bedascarrasbure E Alvarez A., Salomon V. and Maldonado L. (2011). Physico-chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. LWT, 44 (9), p: 1922-1930.

J

Jean-Prost P. (2005). Apiculture ; Connaitre l'abeille, Conduire Le Rucher (7^{ème} édition). Edition Tec & Doc. p : 379-419.

Jean-Prost, P. & Medori, P. (2005). Miel. In « Apiculture ». Ed. Tec et Doc, p : 180-424.

Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., & Afolayan, A. (2010). Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of Argemone subfusiformis (Papaveraceae) and Urtica urens (Urticaceae). Revista de biología tropical, 58(4), p : 1517-1531.

Johnston, J.E., H.A., Miano, C.L., Brannan, R.G. & Alderton, A.L. (2005). Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. Meat Science, 70, p: 627-631.

Journal Officiel de la République Française (2003). Décret sur le miel (Décret n° 2003-587 du 30 juin 2003). Bulletin Technique Apicole, 30(3), p : 157-160.

K

Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. Food Chemistry, 111(2), p: 400-407.

Kenjerić, D., Mandić, M. I., Primorac, L., Bubalo, D. & Perl, A. (2007). Flavonoid profil of Robinia honeys produced in Croatia. Food Chemistry, p: 102: 683-690.

Kropf, U., Korošec, M., Bertoneclj, J., Ogrinc, N., Nečemer, M., Kump, P., & Golob, T. (2010). Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. Food Chemistry, 121(3), p: 839-846.

Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100(2), p : 526-534.

L

- Lachman J., Kolihová D., Miholová D., Košata J., Titěra D. et Kult K. (2007).** Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*. 101, p: 973-979.
- Lazaridou Athina, Biliaderis Costas G., Bacandritsos Nicolaos, Sabatini Anna Gloria. (2004).** Composition, thermal and rheological behavior of selected Greek honeys *Journal of Food Engineering*, Volume 64, Issue 1, p: 9-21.
- Leleux, J.P. (2012).** Guide pour la mise en place de plantations mellifères. Communauté d'Agglomération Pôle Azur Provence, p: 2-39.
- Li, C. C., & Lin, E. S. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of Areca catechu seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), p : 7831-7836.
- Liu, J. R., Ye, Y. L., Lin, T. Y., Wang, Y. W., & Peng, C. C. (2013).** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food chemistry*, 139(1), p: 938-943.
- Lobreau-Callen D., Clément M-C. and Marmion V. (1999).** Les miels. In «Techniques de l'ingénieur », p : 1-20.
- Louveaux J., Maurizio A. and Vorwohl G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, p: 139–157.
- Louveaux, J. (1968).** Étude expérimentale de la récolte du pollen. *Traité de biologie de l'abeille*, Masson et Cie, Paris, 3, p : 174-203.

M

- Makhloufi C., 2001.** Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels de nord Algérien. Mémoire de magistère d'Agronomie .Université de Tiaret. p 100.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. D., D'albore, G. R., Choukri, A., & Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41(5), p: 509-521.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J., & Schweitzer, P. (2015).** Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, 54(2), p: 156-166.
- Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011).** Honey, its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), p: 154-160.
- Manzanares, A. B., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., & Romero, C. D. (2014).** Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), p: 572-578.
- Miorin, P. L., Levy Junior, N. C., Custodio, A. R., Bretz, W. A., & Marcucci, M. C. (2003).** Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. *Journal of applied microbiology*, 95(5), p: 913-920.
- Molan, P. (1992).** The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity. *BeeWorld*, 73 (1): 5-28.

Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., Khalil, M. I., & 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(1), p: 138.

Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014). Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography, determination of antioxidant capacity. *BioMed research international*, 2014.

Moreira L., Dias L.G., Pereira J.A. and Estevinho L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46, p: 3482-3485.

Mouhoubi, Z., & Aissani, D. (2007). Stability of the Inventory-Backorder Process in the (R; S) Inventory/Production Model. *Pliska Studia Mathematica Bulgarica*, 18(1), p: 255-270.

Muli E., Munguti A. et Raina S. K. (2007). Quality of honey Harvested and Processed Using Traditional Methods in Rural Areas of Kenya. *ACTA VET. BRNO*, 76, p: 315-320.

N

Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., & Suzuki, N. (2002). Scavenging capacities of pollen extracts from *cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. *Nutrition Research*, 22(4), 519-526.

Nair, S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyse physicochimique des miels algériens, Thèse de Doctorat en Biologie, Biochimie, Université d'Oran, p : 202.

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, p: 176-181.

Nanda, V., Sarkar, B. C., Sharma, H. K., & Bawa, A. S. (2003). Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(5), p: 613-619.

NJIA N.M., 1998. Caractéristiques socio-économique et technique de l'apiculture dans les Hauts Plateaux de l'Ouest Cameroun. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome. Université de Dschang, FASA, p : 75.

Nzeako B.C. and Hamdi J. (2000). Antimicrobial potential of honey on some microbial isolates. *Medical Sciences*, 2, p: 75-79.

O

Odoux, J. F., Aupinel, P., Gateff, S., Requier, F., Henry, M., & Bretagnolle, V. (2014). ECOBEE: a tool for long-term honey bee colony monitoring at the landscape scale in West European intensive agroecosystems. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), p: 57-66. ISO 690.

Ouchemoukh Salim, Schweitzer Paul, Bey Mostapha Bachir, Djoudad-Kadji Hafsa, Louaileche Hayette (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys Food Chemistry, Volume 121, Issue 2, 15 July 2010, p: 561-568.

Ouchemoukh, S. (2012). Caractérisation physico-chimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira de Béjaia).

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Control, 18(1), p : 52-58.

P

Percival, M. (1998). Antioxidants. Clinical Nutrition Insights, 31, p: 1-4.

Perdrix J. L., (2003). Critères de qualité du miel. Bulletin de liaison N°41.Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.France.

Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I., & 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), p: 428.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7), p: 679-684.

R

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine, 26(9), p: 1231-1237.

Rossant A., (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, p: 132.

Ruoff K., Luginühl W., Kilchenmann V., Bosset J.O., von der Ohe K., von der Ohe W. eMulit Renato A. (2007). Apidologie. 38, p : 438-452.

S

Sagdic, O., Silici, S., & Ekici, L. (2013). Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. International Journal of Food Properties, 16(3), p: 658-666.

Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food Chemistry, 118(2), p : 391-397.

Schramm, D. D. , Polagruto, J. A., Wang-Polagruto, J. F., Lee, L., & Keen, C. L. (2003). Effects of flavonoid-rich beverages on prostacyclin synthesis in humans and human aortic endothelial cells: association with ex vivo platelet function. Journal of Medicinal Food, 6(4), p : 301-308.

Schweitzer, P. (2004). Le monde des miellats. Revue l'abeille de France, p: 908.

Sivasubramaniam, L. (2005). Medicinal properties of liquid gold: Honey. www.Pharmainfo.net.

T

Taormina, P. J., Niemira, B. A., & Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International journal of food microbiology*, 69(3), p: 217-225.

Terrab, A. & Herdia, F.J. (2004). Characterization of avocado (*Persea Americana* Mill) honeys by their physicochemical characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, p: 1801-1805.

Terrab, A., González, A. G., Díez, M. J. & Heredia, F. J. (2002). Characterization of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *Food Chemistry*, 79, p: 373-379.

W

Werner A. and Laccourreye O. (2011). Honey in otorhinolaryngology: when, why and how? *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases*, p: 128, 133-137.

Z

Zamora., M. C., Chirife., J. (2006). Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. *Food Control*. 17, p: 59-64.

ANNEXES

Table de CHATAWAY

Indice de réfraction à 20°C	Teneur en eau(%)	Indice de réfraction à 20°C	Teneur en eau(%)
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

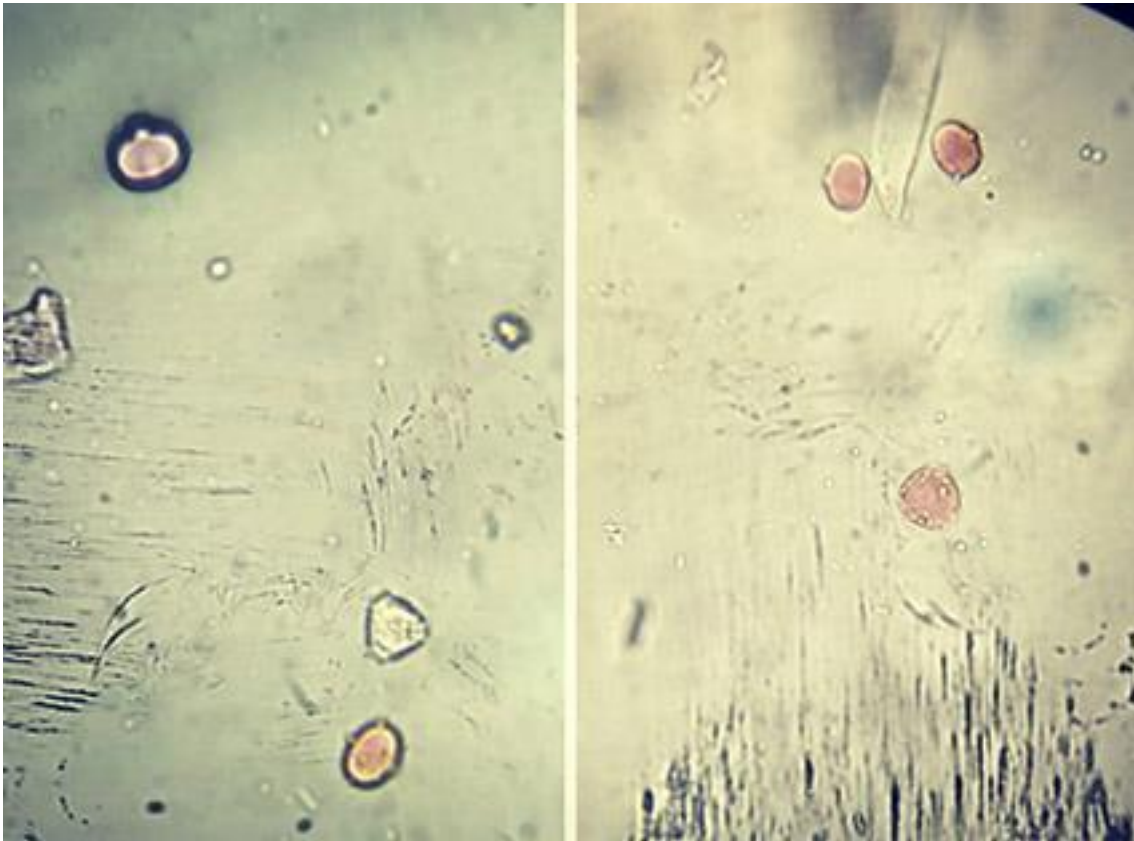


Figure 1 : Les grains de pollen du miel M01 sous microscope optique (G x 40).

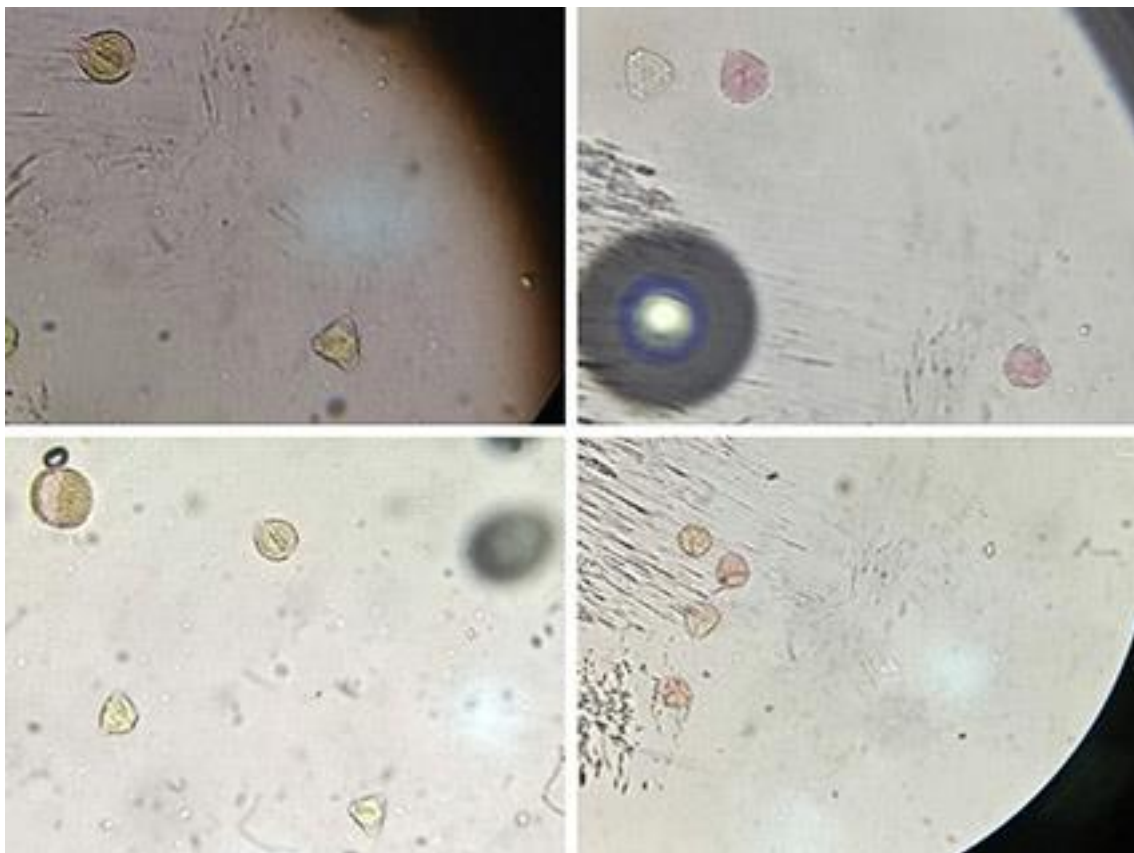


Figure 2 : Les grains de pollen du miel M02 sous microscope optique (G x 40).

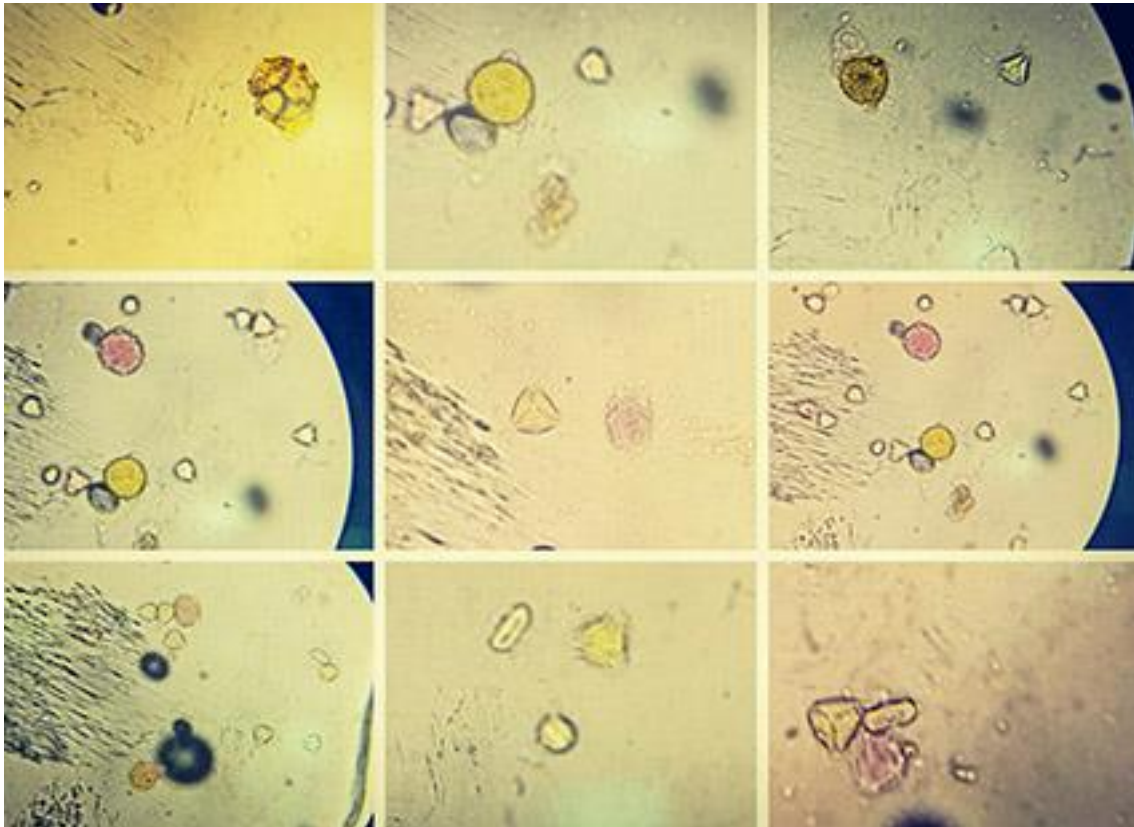


Figure 3 : Les grains de pollen du miel M03 sous microscope optique (G x 40).

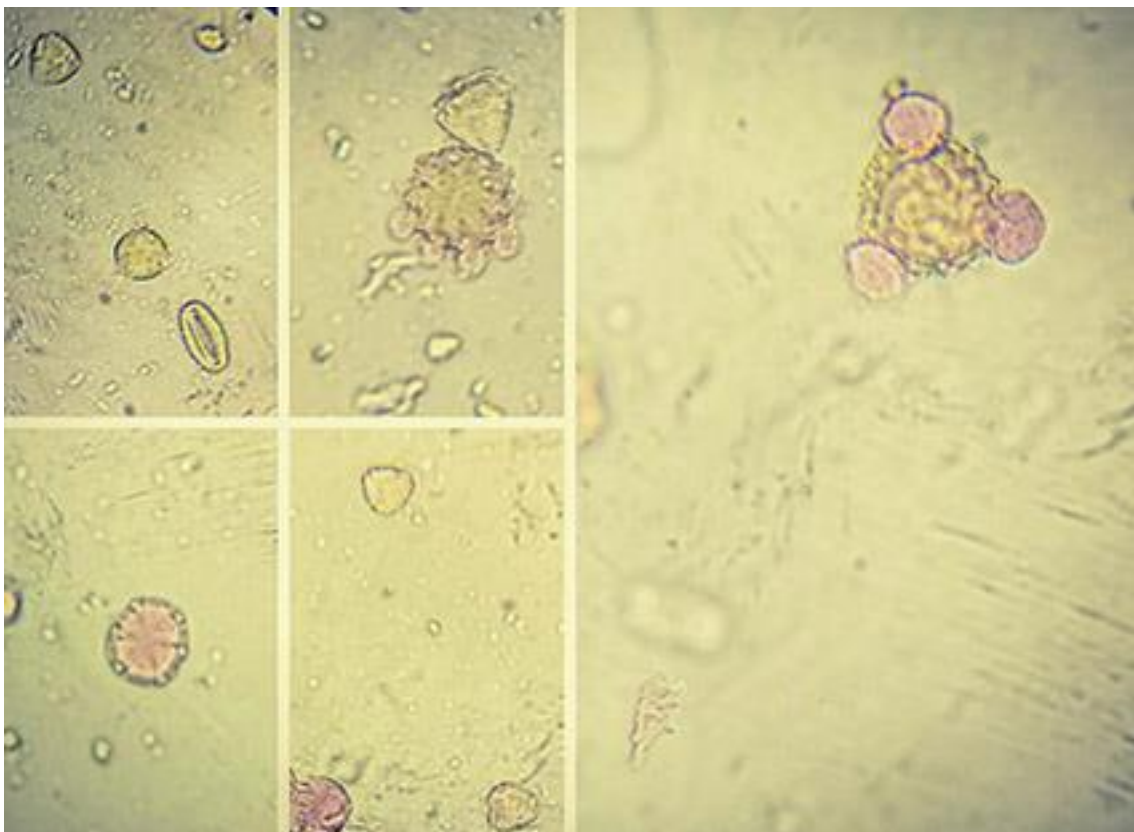


Figure 4 : Les grains de pollen du miel M04 sous microscope optique (G x 40).

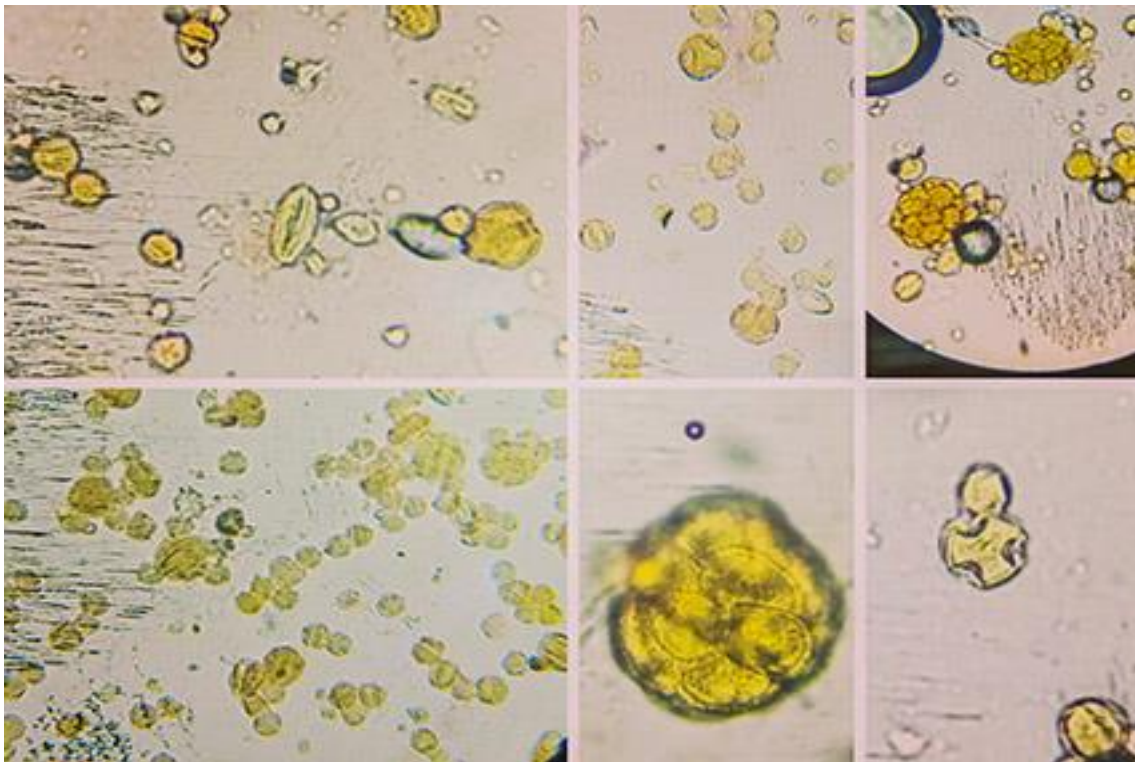


Figure 5 : Les grains de pollen du miel M05 sous microscope optique (G x 40).

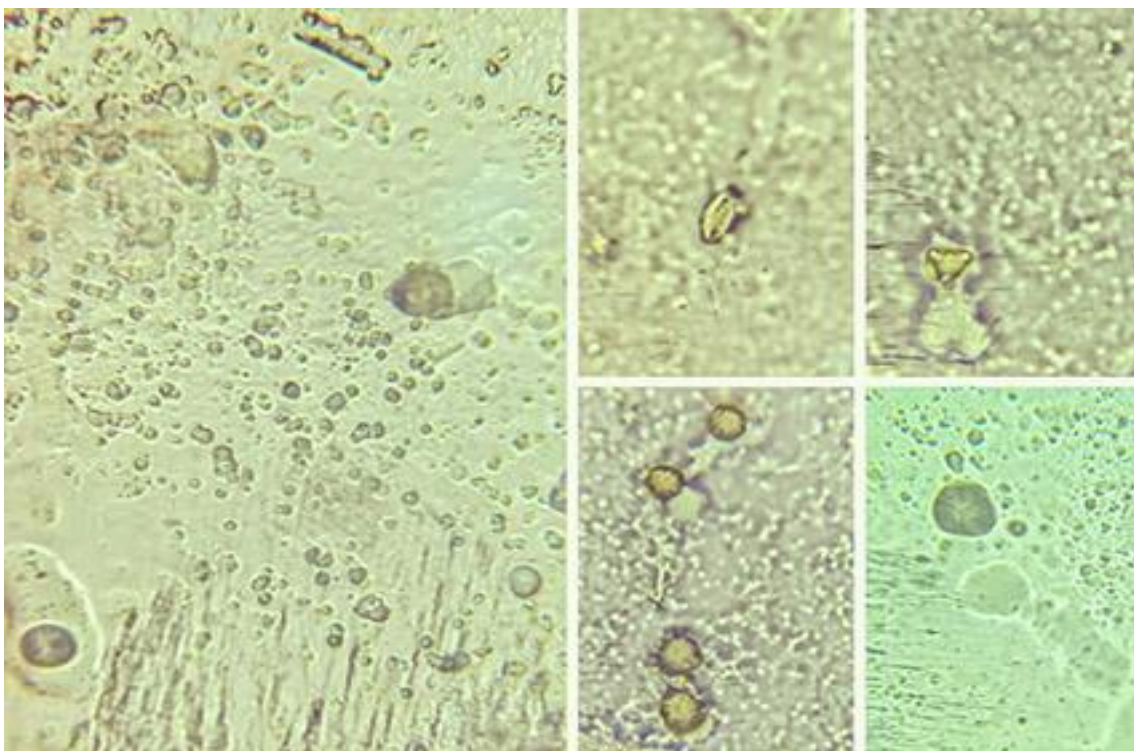


Figure 6 : Les grains de pollen du miel M06 sous microscope optique (G x 40).

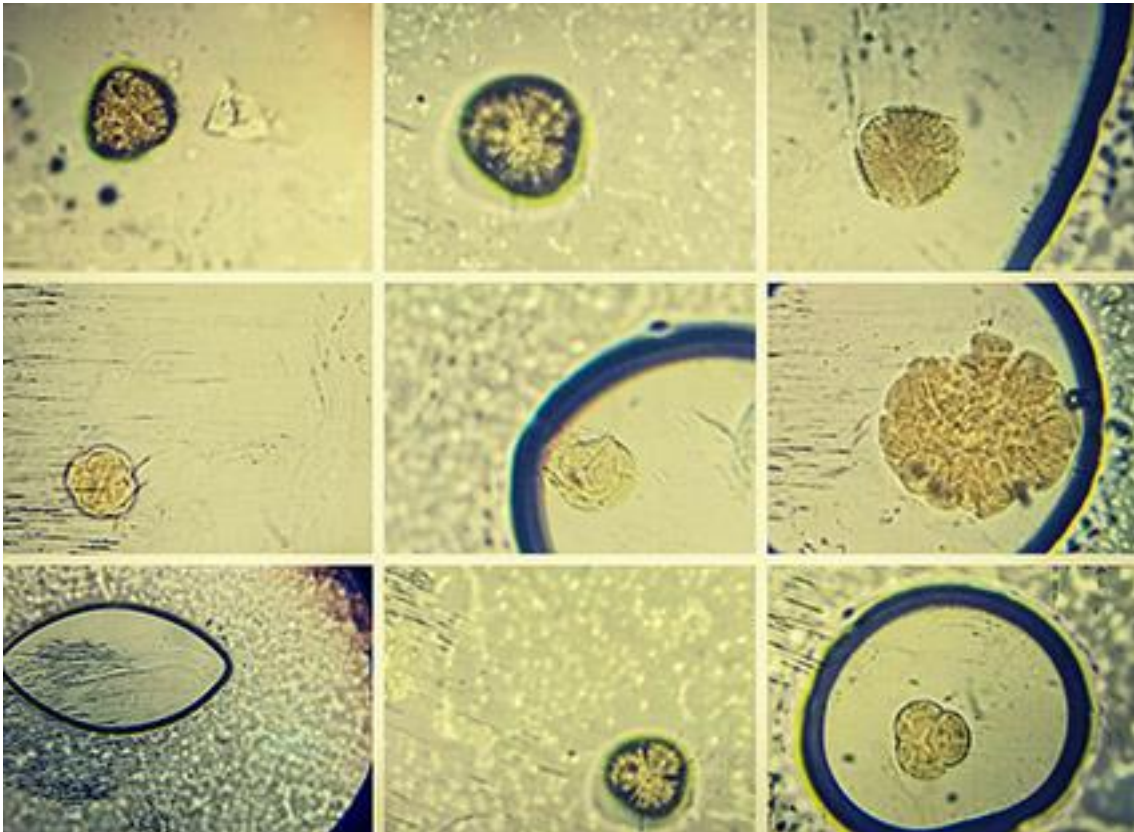


Figure 7 : Les grains de pollen du miel M07 sous microscope optique (G x 40).

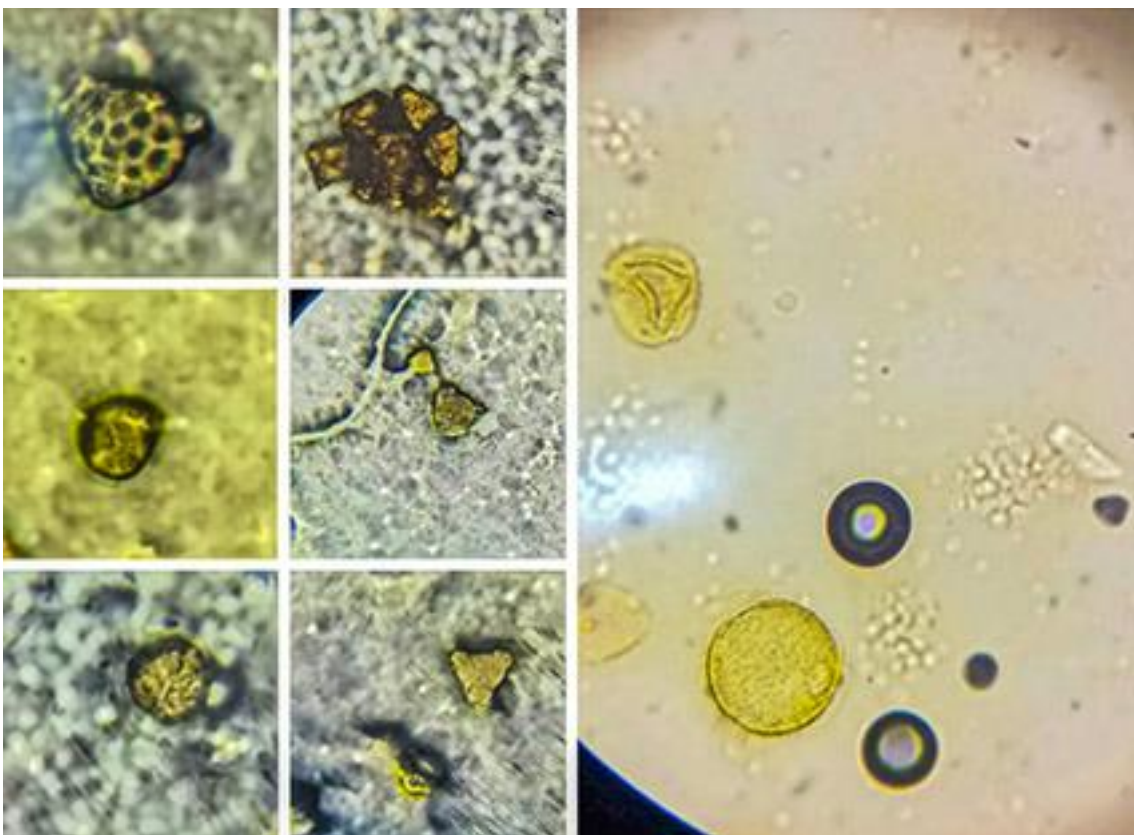


Figure 8 : Les grains de pollen du miel M08 sous microscope optique (G x 40).

Concentration minimale inhibitrice (CMI) des échantillons de miel sur *E coli*, *S aureus*
Klebsiella p.



Figure 1 : Concentration inhibitrice des échantillons de miel sur *E coli*.



Figure 2 : Concentration inhibitrice des échantillons de miel sur *S aureus*.



Figure 3 : Concentration inhibitrice des échantillons de miel sur *Klebsiella p.*

Courbes d'étalonnages

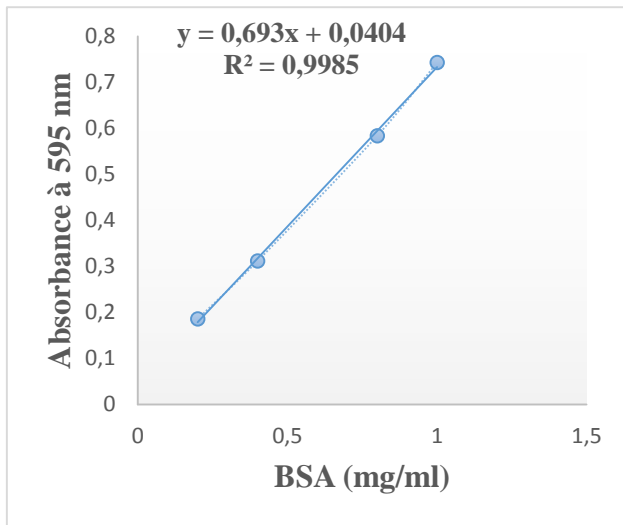


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines

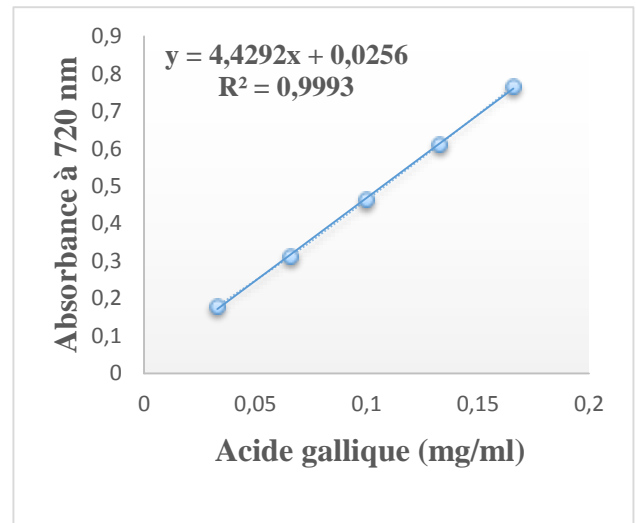


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des polyphénols

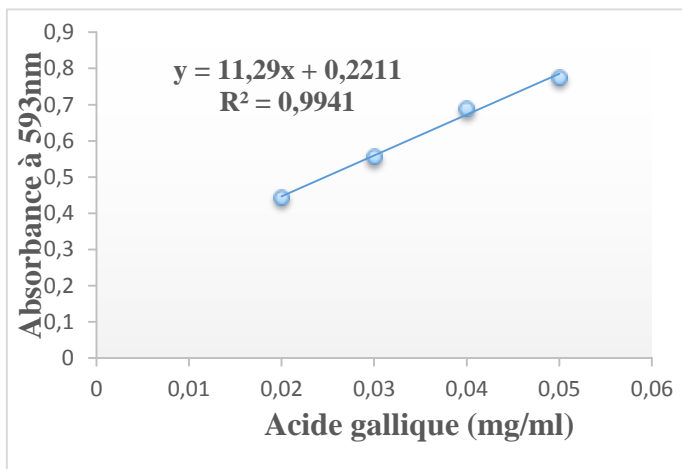


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du test de FRAP

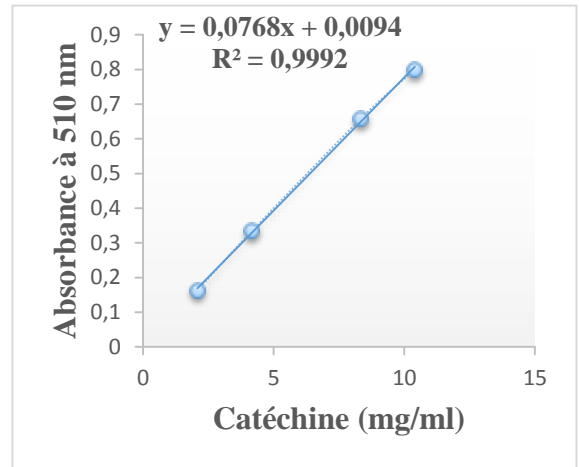


Figure 4 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Corrélation couleur et paramètres physico-chimiques, activités antioxydantes

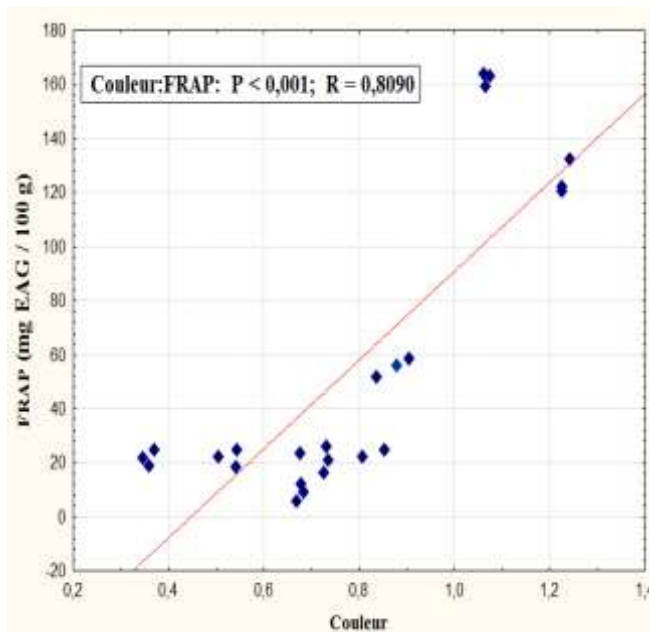


Figure 01 : Corrélation entre la couleur et FRAP

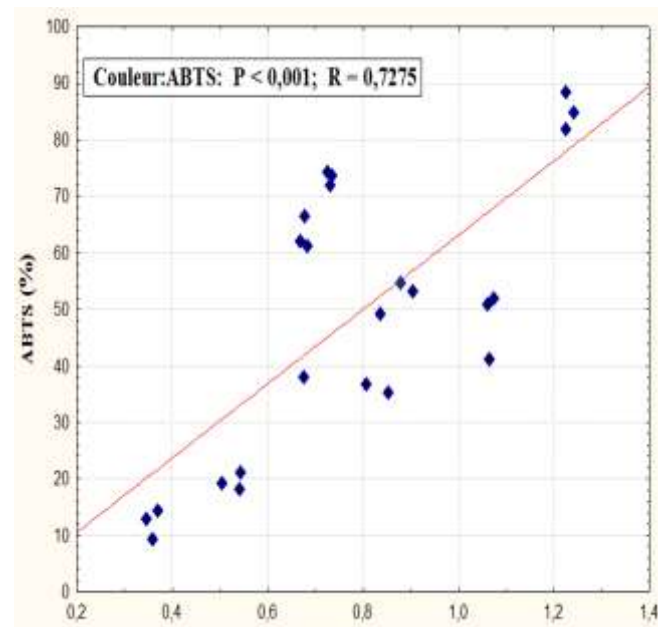


Figure 02 : Corrélation entre la couleur et ABTS

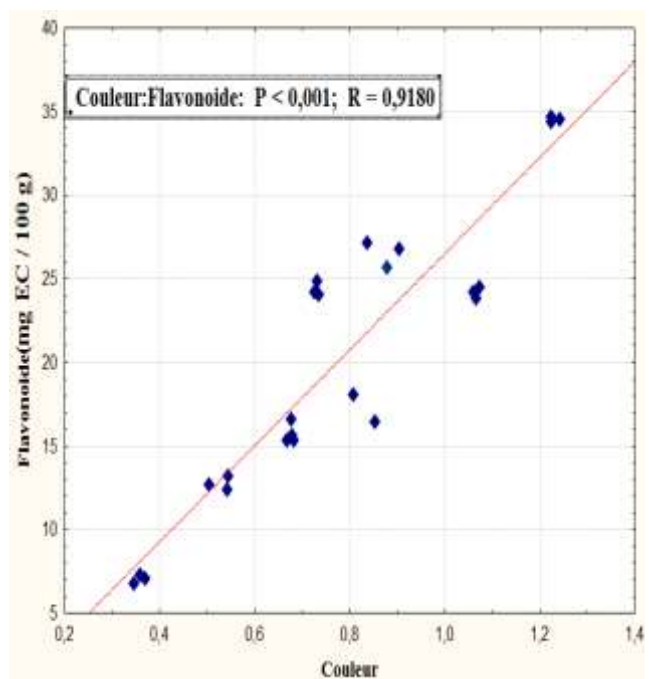


Figure 03 : Corrélation entre la couleur et flavonoïde

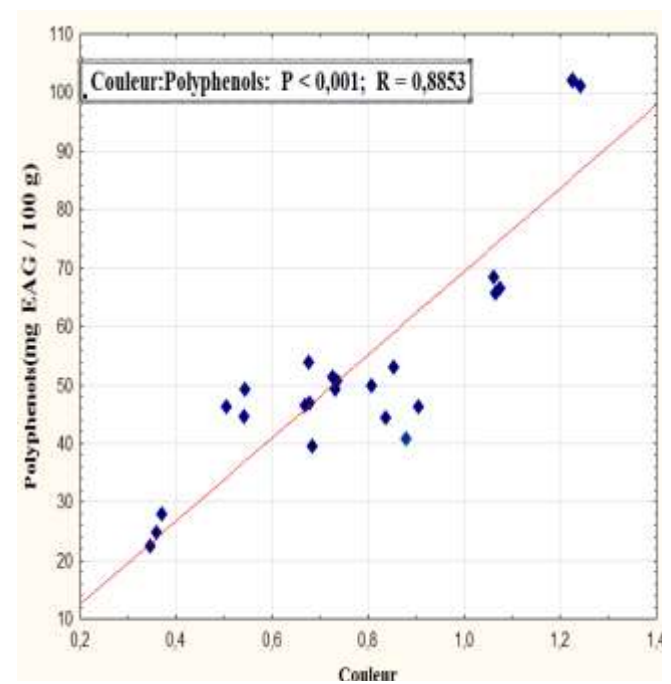


Figure 04 : Corrélation entre la couleur et polyphénols

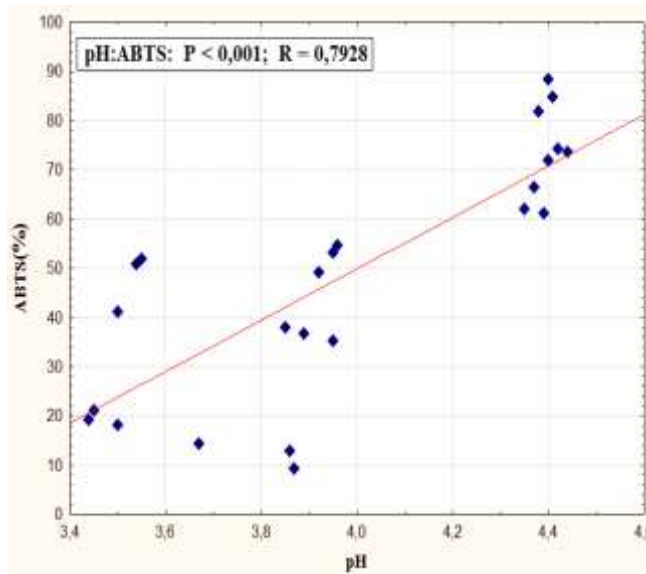


Figure 05 : Corrélation entre pH et L'ABTS

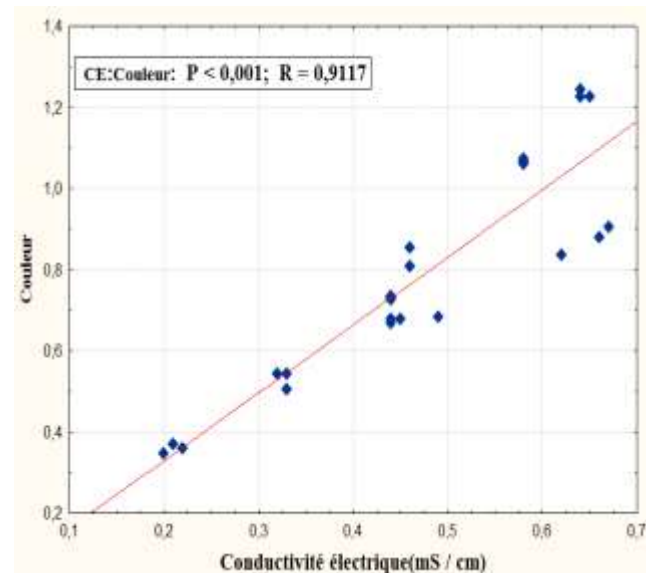


Figure 06 : Corrélation entre conductivité électrique et la couleur

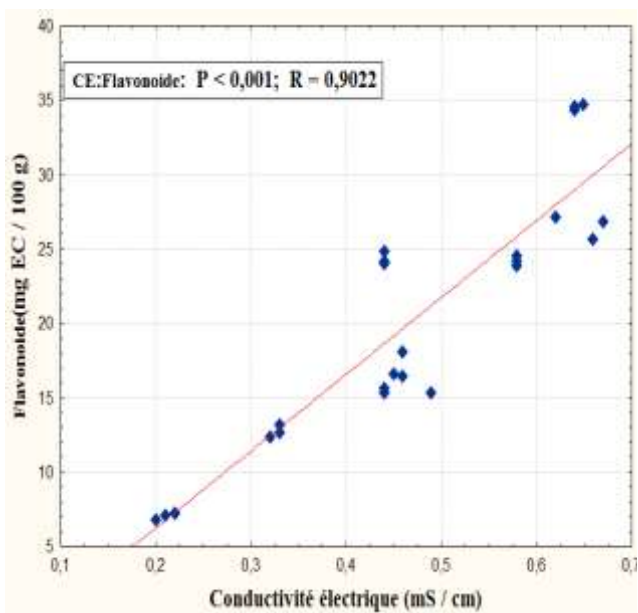


Figure 07 : Corrélation entre la conductivité électrique et flavonoïde

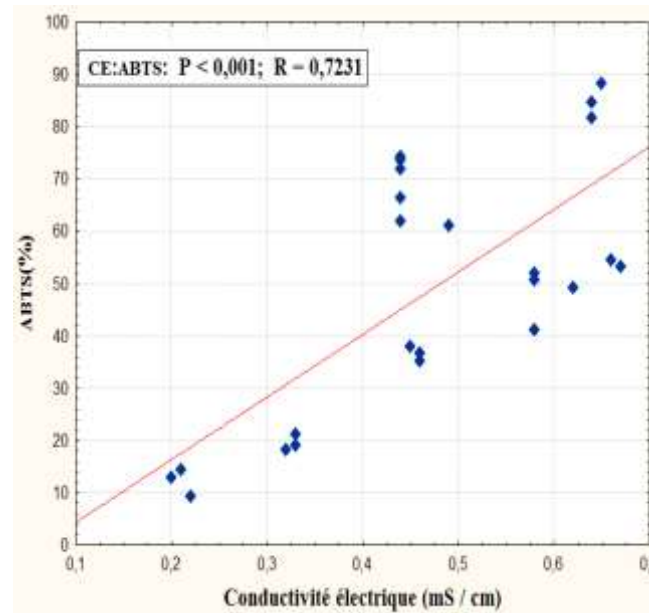


Figure 08 : Corrélation entre la conductivité électrique et ABTS

Corrélation antioxydants et activités antioxydantes

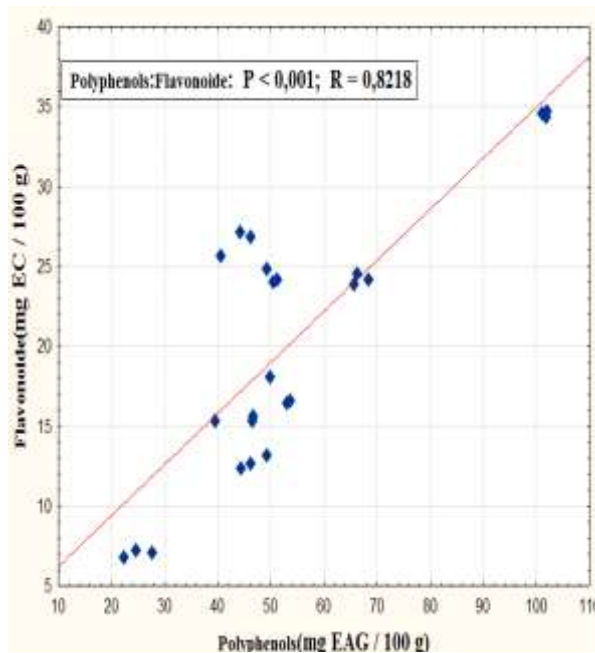


Figure 09 : Corrélation entre polyphénols et flavonoïde

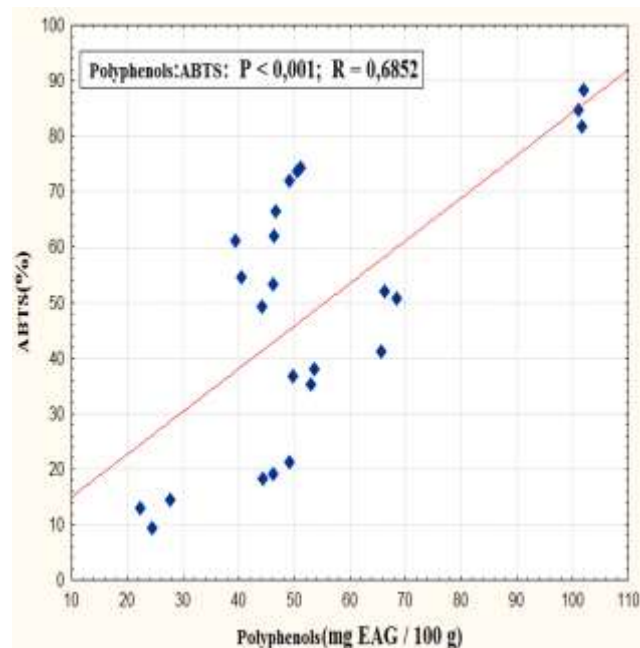


Figure 10 : Corrélation entre polyphénols et ABTS

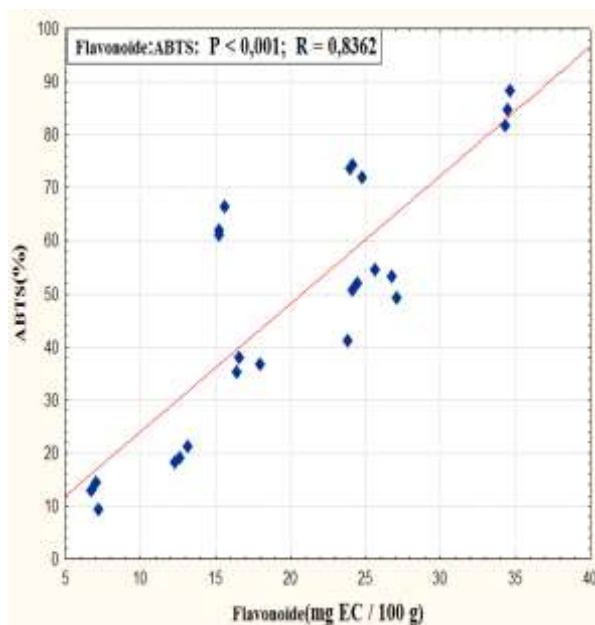


Figure 11 : Corrélation entre flavonoïde et ABTS

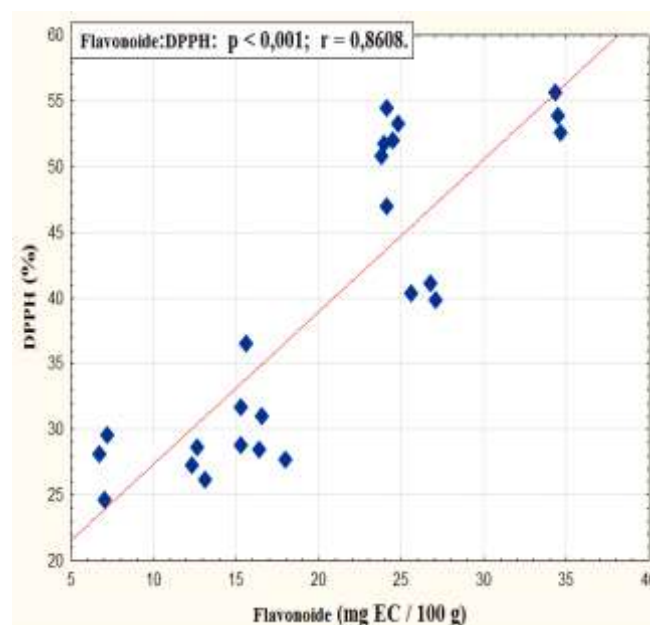


Figure 12 : Corrélation entre flavonoïde et DPPH

Corrélation activités antibactériennes et physico-chimiques et activités antioxydantes

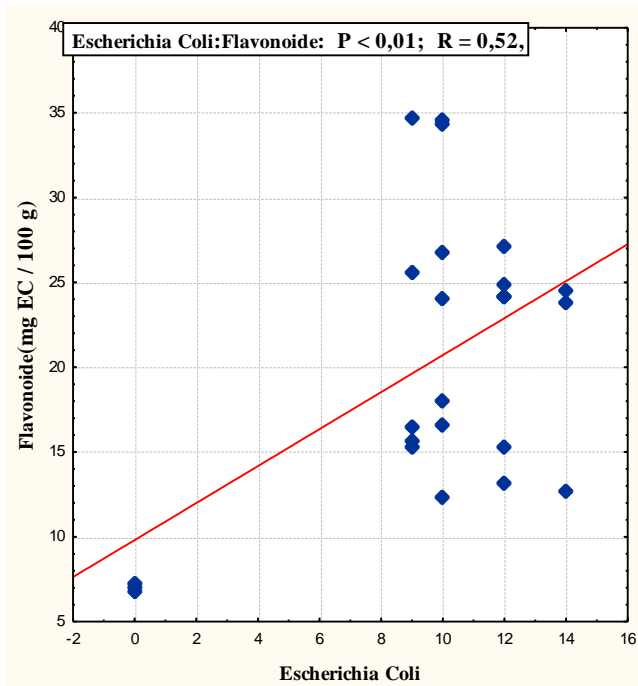


Figure 13 : Corrélation entre la souche E coli et les flavonoïdes

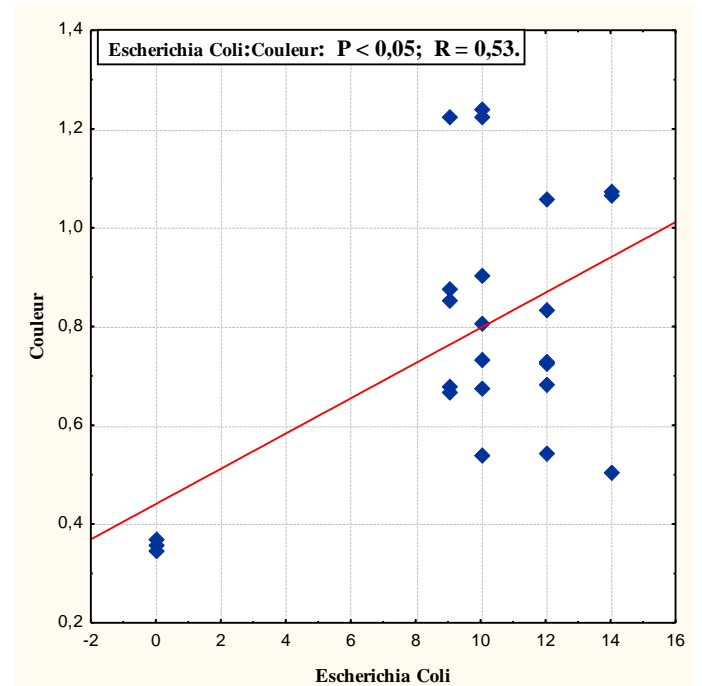


Figure 14 : Corrélation entre la souche E coli et la couleur

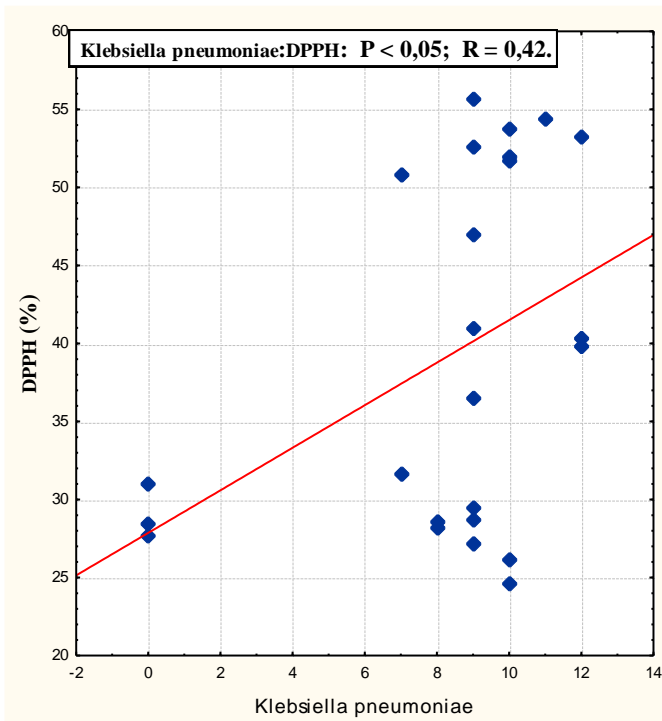


Figure 15: Corrélation entre la souche Klebsiella et le test DPPH

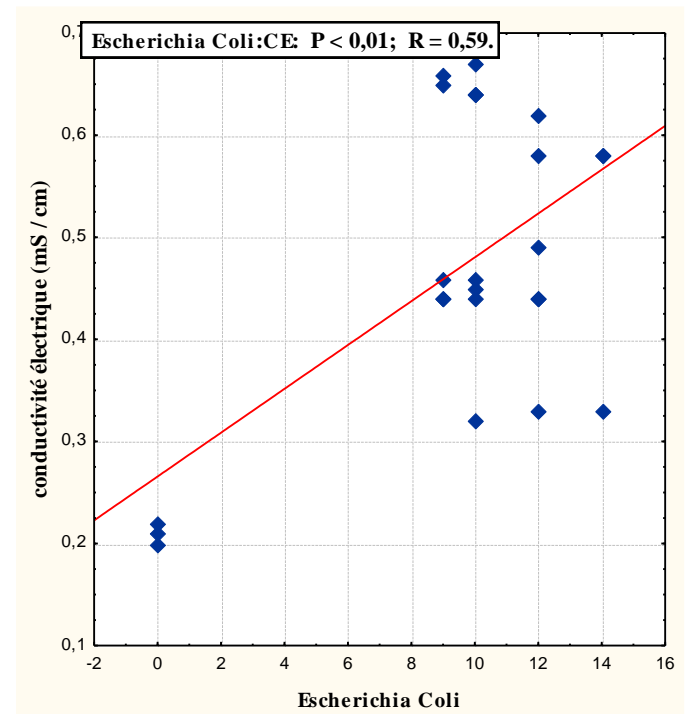


Figure 16: Corrélation entre la souche E coli et la conductivité électrique

Résumé

L'objectif principal de cette étude est la détermination des caractéristiques physico-chimiques, l'origine botanique et les activités antioxydantes ainsi que l'activité antibactérienne sur trois souches, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*, de huit miels provenant dans différentes régions d'Algérie à savoir Bejaïa, Tizi-Ouzou, Al Bayadh et Jijel. La majorité des miels analysés répond aux normes du Codex Alimentarius. L'analyse pollinique a montré que 50 % des miels sont monofloraux. Les analyses relatives aux paramètres de qualité sur les miels révèlent que le taux d'humidité oscille de 10,50 à 22,60 %. Le pH moyen est de 3,48 ; la conductivité électrique moyenne est de 0,47 mS / cm. La teneur moyenne en protéines, en proline et en HMF est de 46,30 mg EBSA / 100 g, 387,43 mg / kg et 6,13 mg / kg respectivement. Tous les miels analysés sont lévogyres. L'analyse phyto-chimique montre des taux en polyphénols allant de 24,91 à 101,68 mg EAG / 100 g. Pour les flavonoïdes, leurs taux se situent entre 7,01 à 34,52 mg EC / 100 g. L'étude de la capacité antioxydante par différentes méthodes (le pouvoir réducteur, le test de FRAP et des activités antiradicalaire contre le DPPH et l'ABTS) révèlent que les huit miels analysés possèdent des activités antioxydantes qui diffèrent d'un miel à un autre. Les tests de l'activité antibactérienne des miels ont montré que la souche *S. aureus* est la plus sensible contrairement aux *E. coli* et *K. pneumoniae* qui sont moyennement sensibles. Des corrélations significatives sont obtenues entre la couleur, les antioxydants et les activités antioxydantes des miels analysés.

Mots clés : miel, propriétés physico-chimiques, analyse pollinique, analyses phyto-chimiques, activité antioxydante et activité antibactérienne.

Abstract

The main of this study is the determination of the physicochemical characteristics, the botanical origin and the antioxidant activities as well as the antibacterial activity on three stocks, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* of eight honeys coming in various Algerian areas like Bejaïa, Tizi-Ouzou, Al Bayadh and Jijel. The majority of analyzed honeys meets the standards of the Alimentarius Codex. The pollinic analysis showed that 50% of honeys are monofloraux. The analyses relating to the parameters of quality on honeys reveal that the water content oscillates of 10.50 with average 22,60 %. pH is of 3,48; average electric conductivity is of 0,47 ms/cm. The average content of proteins, proline and HMF is of 46,30 Mg EBSA/100 G, 387.43 mg/kg and 6,13 Mg/kg respectively. All analyzed honeys are laevogyrous. The phyto-chemical analysis shows going polyphenol rates from 24,91 to 101,68 mg EAG/100 G. For the flavonoids, their rates account between 7.01 for 34.52 Mg EC/100 G. The study of the antioxidant capacity by various methods (reduction, the test of FRAP and the antiradicalaire activity against the DPPH and the ABTS) reveal that eight analyzed honeys have activities of the antioxidant activities which different with another. Testing the antibacterial activity of honey to show that the strain *S. aureus* is the most sensitive unlike *E. coli* and *K. pneumoniae* that are moderately sensitive. Significant correlations are obtained between the color, antioxidants and the antioxidant activities of analyzed honeys.

Keywords: honey, physical and chemical properties, pollen analysis, phytochemical analysis, antioxidant activity and antibacterial activity.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والأنشطة المضادة للأكسدة والمضاد للجراثيم. النشاط اختبر وثبت على ثلاث سلالات: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae*، ثمانية عينات عسل القادمة من مناطق مختلفة من الجزائر وهي بجاية، تيزي وزو، البيض وجيجل. الغالبية العظمى من عينات العسل تلبية معايير هيئة الدستور الغذائي. وأظهر تحليل حبوب اللقاح أن 50٪ من العسل أحادية الأزهار. التحاليل المتعلقة بمعايير الجودة للعسل تكشف على أن نسبة الرطوبة تتراوح بين 10.50 إلى 22.60 ٪. درجة الحموضة المتوسط 3.48. التوصيل الكهربائي المتوسط 0.47 ميلي سيمينس/ سم. النسبة المتوسط للبروتين، البرولين و HMF هو 46.30 ملغ EBSA/100 غ، 133.12 ملغ / كغ و 6.13 ملغ / كغ على التوالي. كل أنواع العسل التي تم تحليلها هي أيسري التدوير. ويظهر تحليل الكيميائي النباتي للبوليفينول بقيمة تتراوح بين 24.91 و 101.68 ملغ EBSA/100 غ. مركبات الفلافونويد عن معدلاتها تتراوح 7,01 حتى 34,52 ملغ المفوضية الأوروبية / 100 غ. دراسة القدرات المضادة للأكسدة بطرق مختلفة (الحد من قوة، اختبار FRAP والنشاط مكافحة الجذرية ضد DPPH و ABTS). اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا من العسل لإظهار أن سلالة بكتريا *S. aureus* أكثر حساسية على النقيض من *E. coli* و *K. pneumoniae* التي تعتبر حساسة باعتدال تكشف عن أن عينات العسل تمتلك نشاطات مضادات للأكسدة مختلفة عن بعضها البعض. وقد تم الحصول على الارتباط ملموس بين الألوان ومضادات الأكسدة والأنشطة المضادة للأكسدة.

الكلمات الرئيسية: العسل، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، تحليل حبوب اللقاح، التحليل الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للأكسدة و للجراثيم.