

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme de Master

Option: Pharmacologie moléculaire

Thème

*Teneur en polyphénols et activité
antimicrobienne de quelques miels de la région
de Bejaia*

Présenté par :

M^{elle} ATMANI Safia

M^{elle} DJERMOUNI Meriem

Membres de jury:

Présidente: M^{elle} CHAHER N (MAA)

Promoteur: M^f HAMOUM M (MAB)

Examinatrice: M^{me} ABDERRAHIM S (MAA)

2015-2016

Remerciements

- *Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promoteur Mr Hamoum Mhand, pour nous avoir proposé cet intéressant sujet et pour ses précieux conseils et encouragements, sans lesquels cette étude n'aurait pas vu le jour. Merci pour votre confiance, votre disponibilité et vos encouragements.*
- *On tient à remercier tout particulièrement Mr Harfi Tsoufik, pour son aide dans le domaine de la microbiologie ainsi que sa disponibilité et son encouragement.*
- *Nous remercions tous particulièrement les membres du jury, en l'occurrence M^{elle} Chaher N et M^{me} Abderrahim S d'avoir accepté d'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'ils y portent.*
- *De très précieux remerciements vont à Mr Bouchenoua Farouk ingénieur du laboratoire de méthodes chimiques d'analyses et M^{elle} Tabti Naima ingénieur du laboratoire BPC, qui nous ont permis de réaliser notre travail et qui n'ont pas hésités de nous venir humblement en aide, et nous ont jamais privés de leur savoir.*
- *Nous ne remercierons jamais assez Mr Ouchemoukh Salim, pour avoir répondu à toutes nos questions.*
- *Nous souhaitons remercier Monsieur Touati chef du département de microbiologie, pour ces conseils et son aide scientifique en microbiologie.*
- *Nous adressons aussi nos sincères remerciements au doctorant Mr Zaidi Hichem et aux deux binômes de Mr Ouchemoukh: Yasmine, Toufik, Linda et Selma, qui nous ont beaucoup aidés.*
- *On remercie également tous nos enseignants qui se sont évertués à nous enseigner durant notre cursus universitaire.*
- *Un grand merci à nos familles, pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous ont permis de chercher au plus profond fond de nous même la force, la volonté et la persévérance à même d'arriver à cet instant des plus important de notre vie.*
- *Un merci pudique à nos amis, nos collègues en Master 2 et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de cette œuvre.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers parents, ma mère Krenfla et mon père Salim, pour leur amour,
leur patience et leur encouragement, que Dieu les garde et les protège.*

*A mes grands parents plus précisément Akila, que dieu l'accueille dans son
vaste paradis*

*A mon très chers frère Said, qui ma toujours soutenu, encouragé et poussé à
donner le meilleur de moi-même.*

A ma belle sœur Floriane

A tous mes cousins et cousines, en particulier Kenza

*A mes meilleurs amis (e) qui m'ont appuyé chacun de leur manière Farah,
Samira et plus spécialement Mima.*

A toutes mes tantes en particulier : Khalida et Lila

A tous mes oncles plus particulièrement Zahir et sa femme Yasmina

A toute la famille Atmani et Ati

*A ma collègue Meriem et à toute la promotion Master pharmacologie
moléculaire 2015-2016, à qui je souhaite bonheur et réussite.*

*Ce travail n'aurait pas pu être finalisé sans la présence de ces personnes dans
ma vie.*

Safia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers parents, ma mère Noria et mon père Farid, pour leur amour,
leur patience et leur encouragement, que Dieu les garde et les protège.*

*A mes grands parents plus précisément Zohra, que dieu l'accueille dans son
vaste paradis*

*A mes très chers frères Abdelmoumen et Abdelhadi, qui m'ont toujours
soutenus, encouragés et poussés à donner le meilleur de moi-même.*

A tous mes cousins et cousines

*A mes meilleurs amis (e) qui m'ont appuyé chacun de leur manière Farah,
Samira, Chahinez, Yasmine, et plus spécialement Wassila et Amel.*

A toutes mes tantes

A tous mes oncles plus particulièrement Nadir

A toute la famille Djermouni et Saoud

*A ma collègue Safia et à toute la promotion Master pharmacologie moléculaire
2015-2016, à qui je souhaite bonheur et réussite.*

*Ce travail n'aurait pas pu être finalisé sans la présence de ces personnes dans
ma vie.*

Meriem

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Chapitre I : Revue bibliographique

I-1-Généralités.....	3
I-1-1-L'abeille.....	3
I-1-1-1-Définition des abeilles.....	3
I-1-1-2-Organisation sociale des abeilles.....	3
I-1-1-3-Les produits de la ruche.....	5
I-1-2-Le Miel.....	6
I-1-2-1-Définition du miel.....	6
I-1-2-2-Origine du miel.....	6
I-1-2-3-Types de miels.....	7
I-1-2-4-Production du miel.....	7
I-1-2-5- Composition du miel.....	8
I-2-Propriétés du miel.....	13
I-2-1- Propriétés physico-chimiques.....	13
I-2-1-1-Propriétés physiques.....	13
I-2-1-1-1-Densité.....	13
I-2-1-1-2-Viscosité.....	13
I-2-1-1-3-Couleur.....	13
I-2-1-1-4-Cristallisation.....	14
I-2-1-1-5-Indice de réfraction et humidité	14
I-2-1-1-6-Pouvoir rotatoire.....	14
I-2-1-1-7-Conductivité électrique.....	14
I-2-1-1-8-Turbidité.....	15
I-2-1-1-9-Hygroscopie.....	15
I-2-1-1-10-Fluorescence.....	15

I-2-1-2-Propriétés chimiques.....	15
I-2-1-2-1-Acidité.....	15
I-2-1-2-2-Potentiel hydrogène.....	15
I-2-2-Propriétés organoleptiques.....	16
I-2-2-1-Aspect.....	16
I-2-2-2-Odeur.....	16
I-2-2-3-Goût.....	16
I-2-3-Propriétés thérapeutiques.....	16
I-2-3-1-Effet nutritionnel.....	16
I-2-3-2-Effet sur la respiration.....	17
I-2-3-3-Effet cicatrisant.....	17
I-2-3-4-Effet antibactérien.....	18
I-2-3-5-Effet antioxydant.....	21
I-2-3-6-Effet antiviral.....	22
I-2-3-7-Autres propriétés thérapeutiques.....	22

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Analyses physico-chimiques.....	23
II-1-1-Matériel utilisé.....	23
II-1-2-Paramètres analysés.....	24
II-1-2-1-PH.....	24
II-1-2-2-Humidité.....	24
II-1-2-3-Conductivité électrique.....	24
II-1-2-4-Couleur.....	24
II-1-2-5-Pouvoir rotatoire.....	24
II-1-2-6-Hydroxyméthylfurfural (HMF).....	25
II-1-2-7-Proline.....	25
II-1-2-8-Dosage des protéines.....	26
II-1-2-9-Dosage des composés phénoliques.....	26
II-1-2-9-1-Polyphénols totaux.....	26
II-1-2-9-2-Les flavonoïdes.....	27
II-2-Evaluation de l'activité antibactérienne.....	28
II-2-1-Matériel utilisé.....	28

II-2-1-1-Echantillons de miels.....	28
II-2-1-2-Souches bactériennes.....	28
II-2-1-3-Milieu de culture.....	29
II-2-1-4-Antibiotiques.....	29
II-2-2-Méthodes utilisées.....	30
II-2-2-1-Méthode de diffusion à travers des puits.....	30
II-2-2-2-Méthode de diffusion à travers des disques.....	30

Chapitres III : Résultats et discussion

III-1-Analyses physico-chimiques.....	31
III-1-1-Ph.....	31
III-1-2-Humidité.....	32
III-1-3-Conductivité électrique.....	33
III-1-4-Couleur.....	34
III-1-5-Pouvoir rotatoire.....	35
III-1-6-HydroxyMéthylFurfural.....	36
III-1-7-proline.....	37
III-1-8-Protéines.....	38
III-1-9-Composés phénoliques.....	39
III-1-9-1-Polyphénols.....	39
III-1-9-2-Flavonoïdes.....	40
III-2-Activité antibactérienne.....	42
Conclusion générale et perspectives.....	47
Références bibliographiques	

Annexes

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ATB : Antibiotiques

ADN : Acide désoxyribonucléique

aw: Activité de l'eau

BSA : Bovine Sérum Albumine

CE : Conductivité Electrique

Cm: Centimètre

°C : Degré Celcius

EGA : Equivalent d'acide gallique

E : Echantillon

EBSA : Equivalent Bovin Serum Albumin

E. coli : *Escherichia coli*

EQ : Equivalent catéchine

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

g : Gramme

H : Heur

HMF : HyroxyMéthylFurfural

HSV : Herpès Simplex Virus

IR : Indice de réfraction

KCal: Kilocalories

mg : Milligramme

MS : Milisiémense

MGO : Méthylglyoxal

min: Minute

mm : Millimètre

n°: Numéro

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

nm : Nanomètre

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

pH : Potentiel d'hydrogène

Prot : Protéines

P/V: Poids/Volume

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

T° : Température

T.eau : Teneur en eau

V/V: Volume/Volume

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Organisation sociale des abeilles.....	04
Figure 2 : Diagramme de composition du miel.....	12
Figure 3 : Palette des couleurs de différents miels.....	13
Figure 4 : Photographie des échantillons de miels analysés.....	23
Figure 5 : L'échantillon M2.....	28
Figure 6 : pH des miels analysés.....	31
Figure 7 : Teneur en eau des échantillons de miels analysés.....	33
Figure 8 : Conductivité électrique des échantillons de miels analysés.....	34
Figure 9 : Couleur des échantillons de miels analysés.....	35
Figure 10 : HMF des miels analysés.....	36
Figure 11 : Proline des échantillons de miels analysés.....	37
Figure 12 : Protéines des échantillons de miels analysés.....	38
Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de miels analysés.....	40
Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de miels analysés.....	41
Figure 15 : Effet du miel sur <i>Escherichia Coli</i>	42
Figure 16 : Effet du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Figure 17 : Antibiogramme des deux souches bactériennes.....	44
Figure 18 : Effet bactériostatique et bactéricide sur les deux souches bactériennes....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Echantillons de miels analysés.....	23
Tableau II : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	29
Tableau III : Teneur en eau des échantillons de miels analysés.....	32
Tableau IV : Pouvoir rotatoire des miels analysés.....	35
Tableau V : Effet du miel sur les souches testées.....	43
Tableau VI : Antibiogramme des bactéries à Gram- et Gram+.....	44
Tableau VII : Effet bactériostatique et bactéricide sur les deux souches bactériennes....	46

Introduction

Introduction

L'abeille, insecte sociale fascinant de l'ordre des hyménoptères, est née au Crétacé il y a plus de cent millions d'années. L'espèce *Apis mellifera* est la plus intéressante en apiculture, elle est capable d'élaborer des produits extrêmement complexes. Véritable alchimiste, elle est notamment à l'origine du miel.

Le miel est une solution hautement concentrée en sucres, dont les principaux sont le fructose et le glucose, il renferme aussi une large gamme de composés mineurs tels que les minéraux, les protéines, les vitamines, les acides organiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes,... etc. (Azeredo *et al.*, 2003).

En raison de ses vertus inhibitrices et thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel (Rozainiet *et al.*, 2004 ; Dunfordet *et al.*, 2000).

Par sa composition très variée et selon son origine florale, le miel a d'innombrables applications et une action thérapeutique très variable (Brudzynski, 2006). Les importants composés responsables de l'activité antioxydante sont les composés phénoliques totaux (généralement les flavonoïdes et les acides phénoliques) dotés d'un puissant effet antioxydant et emprisonnent ainsi les radicaux libres néfastes (Siess *et al.*, 1996). En outre, Il a été clairement démontré que plusieurs mécanismes sont impliqués dans les propriétés antibactériennes du miel qui agissent en synergie, notamment l'osmolarité, le pH acide, le système peroxyde d'hydrogène et la présence de facteurs phytochimiques, de défensine-1 et de méthylglyoxal. De plus, de nombreux travaux scientifiques démontrent que le miel présente des activités spécifiques favorisant les différentes phases nécessaires à la cicatrisation et témoignent ainsi de son efficacité pour les traitements des brûlures et des blessures infectées (Aljadi et kamaruddin, 2004 ; Couquet *et al.*, 2013 ; Vallianou *et al.*, 2014).

Aliment parfait, le miel ne subit aucune transformation, aucun ajout après la récolte. C'est un produit pur par excellence. Cependant, les étapes d'élaboration du miel sont complexes et susceptibles d'être altérées par les activités humaines, de manière volontaire ou non.

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

ailleurs, **Al-Mamary *et al.* (2002)** considèrent aussi que les composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel sont des critères de qualité.

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail dont le but principal est l'évaluation de la qualité et de l'activité antibactérienne de quelques échantillons de miels de la région de Béjaia pour une éventuelle alternative en thérapeutique.

Trois parties seront développées dans la présente étude :

- généralités sur le miel.
- Développement des protocoles utilisés (analyse physico-chimique, dosage en antioxydants et la détermination du pouvoir antibactérien) sur quelques échantillons de miels.
- Présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Chapitre I :
Revue
Bibliographique

Généralités

I-1-Généralités

I-1-1-L'abeille

I-1-1-1-Définition des abeilles

Les abeilles sont des insectes sociaux appartenant à l'ordre des hyménoptères (**Plataux et al., 1982**) et à la famille des Apidés. Ils sont apparus il y a 45 millions d'années nettement avant l'Homme (**Daniem, 1983**). Les mieux connus et les plus utilisées sont dans le genre *Apis* et font partie de l'espèce *Apis mellifera* (**Giraudet, 2008**), ce sont elles qui permettent une production maximale de miel et seront donc largement exploitées à cette fin.

I-1-1-2-Organisation sociale des abeilles

Les abeilles sont divisées en castes ayant des rôles bien précis à accomplir dans la ruche (**Imdorf et al., 2010**).

I-1-1-2-1-La Reine

Unique femelle reproductrice et mère de toutes les abeilles. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, elle ne dirige en rien la ruche, elle est au contraire son esclave. Une fois fécondée, elle passera le reste de sa vie à pondre: elle pond entre 500 et 2000 et parfois jusqu'à 2 000 à 3 000 œufs par jour en fonction de son âge, race et la qualité de la miellée. Un autre rôle important de la reine est de sécréter sur son abdomen une phéromone; celle ci circule parmi toutes les abeilles de la colonie par trophallaxie. Cette phéromone inhibe la maturation des ovaires chez les ouvrières.

La reine se fait féconder une fois dans sa vie, elle accumule le sperme du mâle dans sa spermathèque lors de la fécondation et reste fécondée jusqu'à ce que cette dernière soit vide et deviendra alors stérile.

La reine mesure 1,8cm et bien plus grande que les autres abeilles, ne participe pas à la récolte et n'est pas agressive (**Imdorf et al., 2010**).

Naissance : 16 jours

Espérance de vie : 4 à 5 ans

I-1-1-2-2-Les Faux-bourdons

Ils sont peu nombreux dans la ruche, abeilles de grande taille et très noires, ont un abdomen bien large, ils ont de gros yeux qui se touchent presque; leur activité se résume à s'accoupler avec la reine. Les faux bourdons vivent le temps de la miellée et meurent directement après la fécondation (**Imdorf et al., 2010**).

Naissance : 24 jours

Espérance de vie : 6 mois

I-1-1-2-3-Les Ouvrières

Petites abeilles, mesurent 1 cm très agressives de couleur jaunâtre, elles ont des corbeilles de récolte de pollen sur les tibias postérieurs et des glandes cirières sur le ventre. Elles sont les plus nombreuses de la famille d'abeilles. Infatigables travailleuses, ce sont elles les véritables moteurs de la ruche, elles passent leur courte vie à travailler pour la colonie. Chaque abeille ouvrière a une tâche bien précise: elles s'occupent du couvain, de la garde de la ruche (gardiennes), de rapporter le nectar (butineuses), d'élaborer le miel, de ventiler la ruche (ventileuses), ...etc. (**Imdorf et al., 2010**).

Naissance : 21 jours

Espérance de vie : 40 jours



Figure1 : Organisation sociale des abeilles (<http://communicationanimale>).

I-1-1-3-Les produits de la ruche

I-1-1-3-1-Le miel

Substance liquide, visqueuse et sucrée que les abeilles composent avec le nectar qu'elles recueillent en butinant les fleurs et le miellat sur les feuilles des plantes (**Khenfer et al., 2001**).

I-1-1-3-2-La gelée royale

Substance fluide et blanchâtre riche en vitamines, produite par les abeilles nourricières à l'intention des larves et de la reine.

I-1-1-3-3-Le pollen

Ensemble de grains microscopiques produits par les étamines et qui sont les éléments mâles des fleurs (**Straub, 2007**) récolté par l'abeille butineuse, elle en fait une petite pelote qu'elle met dans sa "corbeille". Le pollen mélangé à du miel sert à nourrir les larves de quelques jours, mais le pollen est aussi utilisé en médecine naturelle pour ses propriétés revitalisantes.

I-1-1-3-4-La cire

La cire est le produit de sécrétion des glandes cirières de l'abeille ouvrière, c'est une matière grasse qui se solidifie sous forme de fines lamelles presque transparentes (**Straub, 2007**), elle sert à construire les alvéoles qui contiennent le miel, le pollen et les larves. Du côté de l'Homme, depuis l'antiquité, les bougies à la cire d'abeille servent à nous éclairer.

I-1-1-3-5-La propolis

Substance résineuse jaunâtre récoltée sur les bourgeons par les abeilles, utilisée pour désinfecter, isoler la ruche et obturer ces fissures (**Jansergers, 2007**). En médecine humaine, on accorde de nombreuses vertus thérapeutiques à la propolis, dont la capacité à renforcer les défenses naturelles de l'organisme et à lutter contre les agressions externes, en complément des traitements conventionnels (antiseptique local, renforcement de l'immunité, cicatrisation, etc.).

I-1-1-3-6- Le venin

Le venin est secrété par deux glandes situées dans l'abdomen et conservé dans un réservoir à venin. Lorsqu'une abeille pique, le venin est pompé dans la victime à l'aide d'aiguillon (Leven *et al.*, 2005). Il contient de nombreuses substances chimiques, nous citerons seulement :

- Mellitine 50%.
- Histamine 1% (Khenfer *et al.*, 2001).

I-1-2- Le Miel

I-1-2-1-Définition du miel

Le terme « miel », qui vient du latin mel, apparait dans la langue française au XII^e siècle. Il désigne une denrée alimentaire produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. En effet, elles butinent, transforment, combinent avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (Codex standard, 2001). Cette denrée peut-être fluide, épaisse ou cristallisée (Blanc, 2010).

I-1-2-2-Origine du miel :

Selon Ancheling (2005), Le miel est élaboré par les abeilles à partir de sucres produits par des végétaux, soit sous forme de nectar; soit sous forme de miellat.

I-1-2-2-1-Nectar

Le nectar, qui est en général la source principale du miel est un liquide sucré plus ou moins doux et parfumé produit par les fleurs des plantes supérieures (Biri, 1976), secrété par les glandes nectarifères, souvent présentes au fond de la corolle des fleurs. Selon leurs origines végétales, les nectars contiennent plus ou moins du saccharose. On les classe en :

- Des nectars à saccharose prédominant.
- Des nectars à taux égaux de saccharose, fructose et glucose.
- Des nectars avec prédominance du glucose et du fructose (Schweitzer, 2005).

I-1-2-2-2-Miellat

Le miellat est une sécrétion issue de la plante (comme pour le sapin par exemple) ou une sécrétion se trouvant sur celle-ci et provenant des excréments de certains insectes parasites suceurs de sève comme les pucerons.

Le miellat est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acide organique, en minéraux et en sucres complexes (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

I-1-2-3-Types de miels

Il existe de nombreuses variétés de miel qui peuvent être classées de façon diverses :

- selon l'origine florale, il existe deux grandes variétés de miel en fonction de l'origine sécrétoire : miel de nectar et miel de miellat.

- selon l'origine géographique du miel qui se repose sur l'analyse pollinique (**Chauvin, 1968**), nous avons les miels monofloraux et les miels multifloraux.

I-1-2-3-1-Les miels monofloraux (unifloraux)

Un miel dit monofloral est issu d'un nectar, ou d'un miellat, collecté par les abeilles sur un végétal unique, cela nécessite d'installer des ruches à proximité de la plante recherchée. Par exemple; le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (**Gonnet, 1982**), mais il est impossible d'obtenir un miel monofloral à 100%, car l'abeille garde toujours la liberté de butiner où bon lui semble (**Nazarian et al., 2010**). Les miels monofloraux possèdent des caractéristiques palynologiques et organoleptiques spécifiques.

I-1-2-3-2-Les miels multifloraux (polyfloraux)

Les miels multifloraux ou miels toutes fleurs, ce sont des miels récoltés à partir de plusieurs espèces florales, souvent classés suivant les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) (**Donadieu, 1982**).

I-1-2-4-Production du miel

Comme nous le savons, la fabrication du miel résulte du travail des abeilles. L'abeille butine le nectar des fleurs pour utiliser le sucre, c'est la nourriture de l'abeille adulte, elle le transforme en miel pour le conserver plus longtemps en assurant par la même occasion la pollinisation des plantes. Les abeilles effectuent 20 à 50 voyages par jour, depuis la ruche jusqu'à la plante dans un rayon de 500m à 2km depuis la ruche.

Le nectar aspiré est alors accumulé dans le jabot de la butineuse où il commence sa transformation. C'est dans son tube digestif que s'amorce la longue transformation, des

enzymes agissent sur le nectar, le saccharose sous l'action de l'invertase se transforme en glucose, fructose, maltose et autres sucres. Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. A son retour, la butineuse régurgite, le passe aux ouvrières, qui elles-mêmes le communique à d'autres et ainsi de suite. D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucres gastriques et de substances salivaires. Il est ensuite déposé dans une alvéole qui sera operculée par une couche de cire afin d'assurer sa conservation. La concentration en eau est encore de 50% et va diminuer progressivement par évaporation qui se fait sous une double influence: la chaleur régnant dans la ruche et la ventilation assurée par les abeilles ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes.

Dans la ruche, le miel se garde bien car il est très concentré en sucre, mais on dit que les abeilles pour plus de sécurité injectent dans chaque cellule une gouttelette de venin, celui-ci est un produit conservateur. Quand tout ce travail sera terminé, la cellule pleine de miel sera fermée par un opercule de cire. Les abeilles bâtisseuses vont également s'en servir pour former la cire nécessaire à la construction des cellules de la ruche.

La quantité de miel emmagasinée dans la ruche étant largement supérieure aux besoins des abeilles, la quantité de miel récoltée par l'Homme ne porte pas préjudice à la vie de la ruche. La récolte se pratique généralement à partir de mi-avril jusqu'à novembre selon les régions, en récupérant les cadres garnis de miel. Les alvéoles sont ensuite désoperculées manuellement avec un couteau ou plus souvent mécaniquement et le miel est extrait des cellules par force centrifuge, il doit ensuite être épuré par filtration, centrifugation ou décantation sans toutefois éliminer totalement les grains de pollens (Amirat, 2014).

I-1-2-5-Composition du miel

Le miel est un mélange biochimique complexe, sa composition varie suivant l'origine des plantes butinées par les abeilles (castro-vazquez *et al.*, 2007); et par le procédé de la fabrication (la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie). En général, le miel contient:

I-1-2-5-1-Teneur en eau

La teneur en eau est l'une des caractéristiques la plus importante des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique et dans certaines mesures sa cristallisation (Terrab *et al.*, 2002). Le miel est operculé par l'abeille lorsque sa teneur en eau

atteint en moyenne 17 à 18 % (**Bogdanov et al., 2005**), une valeur plus importante affecterait la conservation du miel avec un risque de fermentation.

I-1-2-5-2-Sucres

Les sucres représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. Chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont des mono, di, tri, ou polysaccharides représentant les 80% du poids total du miel. Deux d'entre eux; le glucose et le fructose, dominent nettement (**Gleiter et al., 2006**).

I-1-2-5-3-Acides organiques

Des acides organiques libres ou combinés sous forme de lactones (0,3%), le principal d'entre eux étant l'acide gluconique, issu de la digestion enzymatique du glucose. On y trouve également une vingtaine d'acides organiques comme l'acide acétique, citrique, lactique, malique, ...etc. Ils sont responsables de l'acidité du miel (**Irlande, 2010**).

I-1-2-5-4-Protéines et acides aminés

Les miels sont généralement pauvres en protéines (moins de 1 %). Les protides du miel sont soit des protéines: Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille; soit des acides aminés libres comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, ... etc. (**Meda et al., 2005**).

I-1-2-5-5-Sels minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,1% dans les miels courants, mais sont plus abondantes dans les miels foncés. Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales, mais on trouve également du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium, du fer ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent. Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement « propre », le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium (**Rossant et Desmouliere, 2011**).

I-1-2-5-6- Enzymes

Elles proviennent soit du nectar ou du miellat, soit des sécrétions salivaires de l'abeille. Les plus connues sont la gluco-invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides,

et les amylases alpha et bêta (couramment appelée diastases) qui permettent la dégradation de l'amidon. On retrouve également dans le miel, une catalase, une phosphatase, des enzymes acidifiantes et une gluco-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique. Ces enzymes sont détruites par la chaleur et leurs présences ou leurs absences peuvent servir d'indicateur de surchauffage du miel (**Rossant, 2011**).

I-1-2-5-7-Lipides

De très faibles quantités de lipides ont été isolées dans le miel, principalement l'acide palmitique et oléique et très peu d'acide laurique, myristoleique, stéarique et linoléique (**Chauvin, 1987**); ils proviendraient vraisemblablement de la cire.

I-1-2-5-8-Vitamines

Le miel ne contient que très peu de vitamines: on trouve des vitamines du groupe B provenant des grains de pollen en suspension dans le miel, il s'agit de la B1, B2, la pyridoxine, de l'acide pantothénique, B3, la biotine et B9. On trouve également de la vitamine C, provenant le plus souvent du nectar des menthes et des vitamines liposolubles (vitamines A et D). Les vitamines du miel sont mieux conservées quant le pH est faible (**Rossant et Desmouliere, 2011**).

I-1-2-5-9-Antibiotiques

Regroupés sous le nom générique d'inhibine, qui sont en effet de puissants bactériostatiques, c'est-à-dire qu'ils empêchent le développement des bactéries mais ne les tuent pas (**Irlande, 2010**).

I-1-2-5-10-Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les structures identifiées dans le miel: les acides phénoliques (acide benzoïque et cinnamique) et les flavonoïdes (flavones et flavonones) en proportions très variables (**Al-Mamary et al., 2002**). Les phénols interviennent sur la couleur par l'intermédiaire des flavonoïdes susceptibles de contribuer à la couleur jaune. Ces substances phénoliques possèdent certaines activités biologiques intéressantes: germicide, bactériostatique et anti-inflammatoire (**Amiot et al., 1989**).

I-1-2-5-11-Hydroxy-Methyl Furfural (HMF)

C'est un composé chimique dérivé de la déshydratation des sucres simples: le fructose. Ni les nectars ou miellats, ni les miels frais n'en contiennent. Cette molécule apparaît au cours du processus de vieillissement naturel du miel. Ce processus est accéléré si les miels sont chauffés ou s'ils sont très acides. La teneur en HMF reflète donc l'âge et le passé thermique du miel (**Dustmann J.H. et al. 1985, Bogdanov S. et al. 1997 et Deschamps V. 1998**). Du point de vue légal (**Décret n°2003-587 du 30 juin 2003**), les teneurs limites en HMF sont les suivantes :

-En général et à l'exception du miel destiné à l'industrie, le seuil maximal est de 40 mg/kg,

-Les miels et mélanges de miels provenant de régions ayant un climat tropical ne peuvent excéder 80 mg/kg.

Il est donc un très bon indice de dégradation, car des valeurs d'HMF supérieures à 40 mg/kg sont révélatrices d'une perte de qualité; en effet, plus la teneur en HMF est faible, plus la qualité de miel s'affirme.

I-1-2-5-12-Autres composés

De nombreuses autres substances diverses, et plus particulièrement un principe cholinergique proche de l'acétylcholine, une substance oestrogénique, des flavonoïdes, des alcools et des esters, des substances aromatiques, des matières pigmentaires et enfin des grains de pollen.

Plus surprenant, un certain nombre de micro-organismes ont été répertoriés dans le miel. Cette présence s'explique par une contamination via l'abeille, la poussière, l'air, les fleurs, ... qui se retrouveront ensuite dans le miel. En effet, les intestins des abeilles contiennent 1% de levures, 27% de bactéries à Gram+ et 70% de bactéries diverses dont les Gram-.

Louveaux J. (1959 et 1968a) résume parfaitement les résultats des différents travaux relatifs à la composition du miel (figure 2).

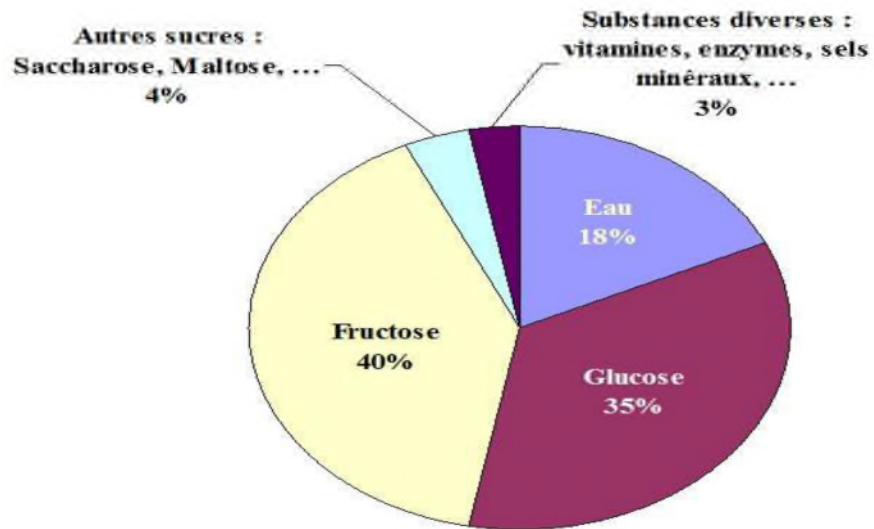


Figure 2 : Diagramme de composition du miel

Le miel est donc un produit naturel extrêmement complexe, riche de près de 200 substances participant à l'équilibre de notre organisme. Impossible à égaler artificiellement, il a donc une place non négligeable dans notre alimentation mais également dans la médecine (Irlande, 2010).

*Propriétés du
miel*

I-2-Propriétés du miel

I-2-1-Propriétés physico-chimiques

I-2-1-1-Propriétés physiques

I-2-1-1-1-Densité (poids spécifique)

Le miel a une densité relativement élevée qui est déterminée par un densimètre. Elle est en fonction de sa teneur en eau et à moindre degré de la composition chimique du miel (**Gonnet, 1982 ; Al-Khalifa et Al-Arif, 1999 ; Labreau-Callen *et al.*, 1999**). Un miel récolté trop tôt ou extrait dans un endroit humide contient trop d'eau.

La valeur de la densité varie entre 1,39 et 1,44 à 20 °C.

I-2-1-1-2-Viscosité

Le miel est un liquide visqueux et sa viscosité est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé (**Descottes, 2004**); par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent se cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, agitation, composition chimique), entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (**Donadiou, 2008**).

I-2-1-1-3-Couleur

Élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du consommateur, Le miel peut présenter une coloration d'une très grande variabilité : de quasiment incolore à presque noir en passant par le beige, le jaune, l'orange et le marron et même parfois du vert (Figure 3). Le chauffage, le vieillissement ainsi que la lumière provoquent son intensification (**Louveaux, 1968**).



Figure 3 : Palette des couleurs de différents miels (www.paulstarosta.com).

I-2-1-1-4-Cristallisation

La cristallisation du miel est un processus naturel, qui se fait à partir de cristaux primaires de glucose. La croissance de ces cristaux aboutit à la formation de 2 phases: une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau. Le miel est une solution sucrée sursaturée, il se trouve à l'état liquide dans la ruche (l'état instable). Sous l'effet de la température et de la présence de germes de cristallisation (poussière, cristaux de glucose, grains de pollen), la cristallisation du miel s'amorce. Le processus de cristallisation des sucres est dépendant des rapports glucose/fructose et glucose/eau. La cristallisation sera faible pour un rapport glucose/eau inférieur à 1,7 mais très importante si cette valeur atteint 2,1 (Dr Sablé, 1997). En effet, le glucose est peu soluble dans l'eau, il se cristallise donc rapidement, alors que le fructose reste liquide (**Rossant et Desmouliere, 2011**).

I-2-1-1-5-Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction du miel est en fonction de la teneur en eau et de la température, sa mesure au moyen du réfractomètre constitue la méthode la plus rapide et l'une des plus sûres pour évaluer la teneur en eau des miels. La plus part des miels ont un indice de réfraction allant de 1,5041 à 1,4915 pour une teneur en eau de 13 à 18 %, car l'indice de réfraction du miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse (**Louveaux, 1985 ; Lobreau-Callen et al., 1999**).

I-2-1-1-6-Pouvoir rotatoire

Egalement appelé « activité optique », le pouvoir rotatoire est la propriété qu'ont certains sucres de faire dévier le vecteur d'un faisceau lumineux la traversant. Il est lié à la présence d'un ou plusieurs carbones asymétriques au sein de la molécule. La majorité des miels de miellat ont des valeurs positives (dextrogyres) tandis que les miels de nectar ont des valeurs négatives (lévogyres) (**Nada et al., 2003**).

I-2-1-1-7-Conductivité électrique

La conductivité électrique représente la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique, elle est étroitement liée à la concentration des sels minéraux et les acides organiques, ainsi elle est exprimée en Siemens par centimètre (S/cm). Des miels d'une même origine florale ont approximativement la même conductibilité, même s'ils proviennent d'années de récolte et de régions géographiques et climatiques différentes (**Lequet, 2010**).

I-2-1-1-8-Turbidité

Lorsque les miels sont ramenés à l'état liquide par passage à l'étuve à 65 °c jusqu'à disparition total des cristaux de glucose, ils se présentent généralement comme des liquides transparents. Toutefois, ils contiennent toujours en suspension des éléments figurés (levures, poussières, grains de pollen, colloïdes) qui leur donne une certaine turbidité (**Marini et al., 2004**).

I-2-1-1-9-Hygroscopie

C'est la capacité du miel à absorber l'humidité de l'air lorsqu'elle est supérieure à 55%. Le fructose est largement responsable de l'hygroscopicité du miel (**www.Beekeeping.com**).

I-2-1-1-10-Fluorescence

Beaucoup de miel présentent une fluorescence plus ou moins importante sous l'action de l'ultraviolet. Les couleurs de fluorescences des miels sont variables (**Gonnet, 1974**).

I-2-1-2-Propriétés chimiques

I-2-1-2-1-Acidité

L'acidité est un critère de qualité important qui permet d'identifier l'origine botanique des miels, ces derniers ont une réaction acide, ils contiennent des acides organiques, dont certains sont volatils et des lactones. Le problème de l'acidité des miels est très complexe, certains acides présents dans le miel proviennent sans aucun doute du nectar ou du miellat, mais leur origine principale est à rechercher dans les sécrétions salivaires de l'abeille et dans le processus enzymatique et fermentatif (**Luis et al., 2007**).

Le principal acide dérivé du glucose est l'acide gluconique, sa formation s'accompagne du dégagement d'eau oxygénée (H₂O₂). D'autres sucres tels que le maltose (7,2%), le saccharose (1,5%) et quelques oligosaccharides (4,2%) sont présent dans le miel (**Shin et Ustunol, 2005**).

I-2-1-2-2-Potentiel hydrogène

Le pH, encore appelé indice de « Sorensen ». C'est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité ou la basicité d'un milieu, il représente la concentration des ions H⁺ d'une solution. Le miel contient une large gamme d'acides issus pour certains du nectar directement, pour d'autres de réactions enzymatiques et de fermentations. La valeur du pH varie en général entre 3,5 et 5,5; elle est due à la présence des acides organiques. Les phénomènes de

dégradations spontanées du miel lors de son vieillissement naturel ou d'un chauffage sont largement dépendants du pH et le font eux-mêmes évoluer (le miel s'acidifie en vieillissant) **(Louveaux J, 1968 a et Décret N°2003-587 du 30 juin 2003).**

I-2-2-Propriétés organoleptiques

I-2-2-1-Aspect

Le miel peut être plus ou moins fluide ou au contraire solide, voire dure, suivant la provenance, le mode de stockage et le degré de cristallisation **(Mahouachi, 2008).**

I-2-2-2-Odeur

L'odeur du miel est fortement influencée par les essences aromatiques communiquées aux nectars initiaux par les fleurs butinées. En général, le miel a une odeur très appréciée par les consommateurs à l'exception de quelques-uns qui dégagent une odeur peu appréciable (miel amer ou naturellement acide). La plante mellifère dominante confère au miel une odeur qui lui est spécifique. En principe, cette odeur permettrait de reconnaître l'origine botanique du miel **(Mahouachi, 2008).**

I-2-2-3-Goût

Il s'agit des arômes, de la saveur (acide, sucrée, salée, amère) et de la flaveur par voie rétro nasale. Le goût spécifique à chaque variété lui est donné par les caractères aromatiques de la fleur dominante butinée **(Mahouachi, 2008).**

I-2-3-Propriétés thérapeutiques :

Le miel a été utilisé pendant des centaines d'années comme la seule source de sucre. Son originalité, sa rareté et sa désirabilité l'ont associé très tôt à des significations symboliques, magiques, divines et thérapeutiques: tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui **(Huchet et al., 1996 ; Gout,1989).**

I-2-3-1-Effet nutritionnel

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

De ce fait le miel :

-Satisfait les besoins énergétiques de l'organisme ;

-Facilite l'assimilation des aliments, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal.

I-2-3-2-Effet sur la respiration

Le miel est utilisé comme remède depuis l'Antiquité, notamment pour traiter les infections de la gorge. En effet, le miel est l'un des traitements les plus efficaces pour soigner la toux. Le miel contient une petite quantité d'acide formique, d'inhibines et des antibiotiques naturels qui empêchent le développement des bactéries, contribuant à soulager les gorges irritées et les bronches. Le miel entraîne, lors de l'ingestion, une augmentation de salive et de mucus, ce qui adoucit la gorge. Cet effet antiseptique provient d'une enzyme appelée « glucose oxydase », qui permet de transformer de petites quantités de sucre en peroxyde d'hydrogène, plus connu sous le nom « d'eau oxygénée ». C'est ce qui explique son efficacité pour soulager les maux de gorge et la toux (**Crepeau**).

I-2-3-3-Effet cicatrisant

Le miel est reconnu depuis longtemps comme favorisant la cicatrisation de plaies qu'elles soient profondes, étendues, nécrosées, surinfectées,etc.

Les sucres présents dans le miel améliorent localement la nutrition de la plaie et donc accélère le processus d'épithélialisation. Les cellules (macrophages, fibroblastes ...) impliquées dans le processus de cicatrisation trouvent grâce à ces sucres une source d'énergie supplémentaire qui contribue à leur bon fonctionnement. Lors de la dégradation du glucose (du miel) en présence d'eau et d'oxygène par la gluco-oxydase, il y'a formation d'acide gluconique et d'eau oxygénée. L'eau oxygénée formée a un rôle très important dans le processus de cicatrisation (c'est un très bon antiseptique), au contact des tissus et du sang, elle se décompose en eau et en oxygène, ce qui crée une « micro-effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (déterSION). De plus le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) apparaît comme un véritable stimulus pour la multiplication cellulaire ainsi que pour la réponse à l'évolution de l'inflammation normale lors de la cicatrisation. Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans un même temps, il stimule le développement d'une néo-vascularisation dans le tissu cicatriciel. Le miel induit également la synthèse de collagène qui est optimale dans un environnement légèrement acide; à cela s'ajoute aussi des pouvoirs antioxydants et anti-

inflammatoires. Le miel contribue à l'hydratation de la plaie, en effet, il génère grâce à ses propriétés hygroscopiques, un milieu humide favorable à la première étape de la cicatrisation, cela permet de solliciter la flore bactérienne normalement présente sur la peau qui est capable d'éliminer les débris nécrotiques et/ou fibrineux. Ce milieu humide permet une cicatrisation plus rapide qu'avec un pansement sec car on ne lèse pas les tissus épithéliaux nouvellement formés. Le miel possède une forte osmolarité qui provoque un "appel" de lymphes et de plasma qui draine les exsudats et favorise l'arrivée massive des cellules entrant dans le processus de cicatrisation (macrophages, fibroblastes...). Enfin, le changement du pansement s'effectue sans douleur. Le miel élimine également rapidement les mauvaises odeurs alors que des plaies malodorantes sont souvent rencontrées avec les pansements humides conventionnels. Cela peut s'expliquer par l'action antibactérienne du miel. Le maintien d'un environnement humide est également un avantage pour permettre le bon fonctionnement des enzymes protéolytiques et l'élimination des croûtes, du pus et des tissus morts. Tous ces mécanismes agissent de façon favorable la cicatrisation, et font du miel un pansement humide bioactif d'une grande efficacité (**Rossant et Desmoulière, 2011**).

I-2-3-4-Effet antibactérien

L'Homme a toujours utilisé le miel non seulement comme nourriture, mais aussi pour ses propriétés antiseptiques. En effet, ces propriétés physiques et chimiques lui confèrent une activité antibactérienne. Les substances responsables de cette activité ainsi que leur mode d'action restent à élucider. Néanmoins, de nombreuses études ont montré que plusieurs mécanismes, potentiellement synergiques, impliquant des agents physico-chimiques, semblent intervenir dans cet effet.

I-2-3-4-1-Effet osmotique

L'activité antibactérienne du miel est principalement due à sa forte teneur en sucre : solution de sucres hyper saturée puisque composée à 80% environ de fructose et de glucose avec une pression osmotique élevée (**Bogdanov et al., 2004**).

Il est connu qu'une osmolarité importante, induite par une forte teneur en sucre, présente un effet bactéricide (**Archer et al., 1990**). D'après **Molan (1992)**, le miel a une basse activité de l'eau (*a_w*) qui varie entre 0,56 à 0,62. **Mescle et Zucca (1996)** expliquent qu'une basse *a_w* provoque une diminution du volume cytoplasmique (plasmolyse) de la cellule, perturbe les fonctions métaboliques des germes pathogènes et inhibe totalement leur développement. D'après **Bogdanov et Blumer (2001)**, le miel agit d'une manière osmotique et absorbe l'eau vitale des microorganismes pathogènes. Ce qui provoque la plasmolyse cellulaire puis la mort

de la cellule microbienne (**Theunissen et al., 2001**). L'effet osmotique joue un rôle fondamental dans l'action antibactérienne du miel.

Mais ces propriétés antibactériennes ne sont pas dues uniquement à cette haute teneur en sucres. En effet, le miel a un pouvoir antibactérien supérieur à celui du sucre. Il y a donc dans le miel des composés autres que les sucres qui empêchent les microorganismes de se développer.

I-2-3-4-2-Acidité

Une des caractéristiques du miel est son acidité avec un pH compris entre 3,2 et 4,5 (**Bogdanov et al., 2004**). Ce pH est suffisant pour inhiber la croissance de la plupart des pathogènes car la majorité de ces micro-organismes préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin (**Molan, 2001**).

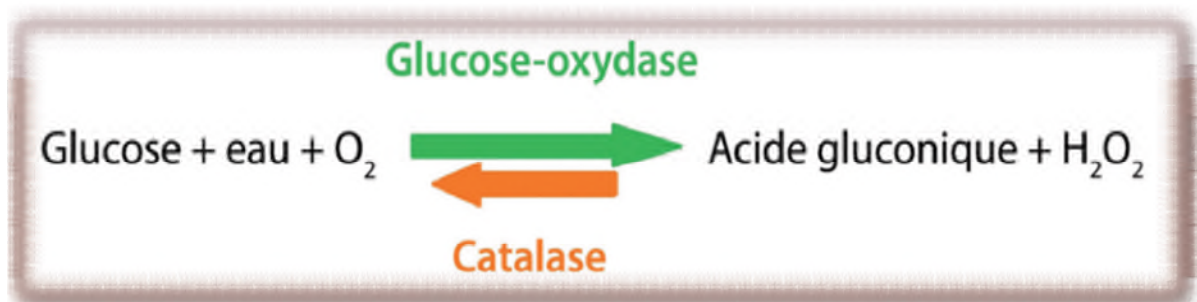
Certaines espèces de bactéries sont capables de pousser dans un milieu plus acide : *Escherichia coli*, 4,3 ; *Salmonella sp*, 4,0 ; *Pseudomonas aeruginosa*, 4,4 ; *Streptococcus pyogenes*, 4,5. Le pH du miel non dilué est un facteur antibactérien significatif; cependant, si on le dilue, le pH peut ne plus être assez bas pour limiter la prolifération des bactéries. L'effet inhibiteur dépend donc de l'espèce de bactérie (**Jason et al., 2004**).

I-2-3-4-3-Inhibines

Inihibine à activité peroxydique

Peroxyde d'hydrogène

La principale activité antibactérienne du miel est liée à la production enzymatique du peroxyde d'hydrogène. C'est la glucose-oxydase sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose, produit continuellement quand le miel est dilué: La glucose oxydase n'est opérationnelle que lorsque le miel est dilué (**Allen et al., 2000**). L'acide gluconique formé

accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement des colonies bactériennes. Le peroxyde d'hydrogène ainsi produit sert d'agent "stérilisant".

La glucose oxydase est une enzyme thermolabile et photosensible: les miels qui ont été stockés dans de mauvaises conditions perdent donc la capacité de produire du peroxyde d'hydrogène et ont une activité antibactérienne moindre.

Le peroxyde d'hydrogène est détruit par les catalases et notamment celles de la peau: Lors de l'application du miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère d'une façon lente et prolongée (**Molan, 1992**). De ce fait, la catalase n'est que faiblement activée et ne peut donc pas détruire l'activité antibactérienne du miel produite par le peroxyde d'hydrogène. Ce peroxyde d'hydrogène a donc un meilleur potentiel antibactérien quand il est libéré par le miel que lorsqu'il est utilisé seul dans une préparation antiseptique (**Assie, 2004**).

Inhibines à activité non peroxydique

L'activité peroxydasique n'est pas la seule responsable de l'effet antibactérien, certains miels sont doués d'une activité qualifiée de "non peroxydasique", c'est-à-dire qu'ils conservent un fort pouvoir antibactérien même quand leur activité peroxydasique est neutralisée (catalase, chauffage...). Contrairement à l'activité peroxyde, l'activité non peroxyde requiert aucune dilution et est donc efficace de façon immédiate. **Molan (2002)** a affirmé la présence de plusieurs substances non peroxydes dans le miel en faibles quantités et qu'elles contribuent significativement à l'activité antimicrobienne. Les facteurs « non peroxydes » sont nombreux tels que le méthylglyoxal, la défensine-1, des flavonoïdes et autres composés polyphénoliques (**Wahdan, 1998 ; Estevinhol et al., 2008**).

La défensine-1

La défensine-1, également connue sous le nom de royalisine, est un peptide antibactérien synthétisé par les glandes hypo pharyngiennes et mandibulaires des abeilles, conserve dans le miel ses propriétés immunitaires.

Les défensines sont aussi présentes chez l'homme. Elles sont divisées en deux groupes : les α - défensines, qui se situent au sein de certains granules sécrétoires dans les leucocytes ou au niveau des cellules immunitaires spécialisées, et les β -défensines, qui se trouvent dans l'ensemble des épithéliums et au sein de nombreux organes. Elles jouent un rôle prépondérant dans les pathologies infectieuses et modulent la réponse immunitaire (**Rossant, 2011**).

Une étude publiée en 2010 (**Kwakman et al., 2010**) a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de la défensine-1, après neutralisations successives des facteurs bactéricides déjà connus dans le miel. Elle a une action puissante sur les bactéries Gram+.

D'autres composés ayant une activité antibactérienne ont été identifiés dans le miel, mais ils sont cependant en quantité trop faible pour contribuer de manière significative à cette activité.

I-2-3-4-4-Variation de l'activité antibactérienne

Il existe une variation importante de l'activité antibactérienne selon le type de miel. En effet, certains miels voient leur efficacité accrue en raison de la présence d'un composant phytochimique particulier (**Adams *et al.*, 2008 ; Mavric *et al.*, 2008**) d'une grande quantité de composés phénoliques et flavonoïdes (miel de sarrasin), ou encore d'un taux élevé de glucose oxydase (**Van den Berg *et al.*, 2008**).

Les traitements éventuels et le mode de conservation du miel doivent également être pris en compte. En effet, si un miel est choisi pour son activité antibactérienne peroxyde, il faut s'assurer qu'il n'ait pas été pasteurisé et qu'il ait été conservé à l'abri de la chaleur et de la lumière pour éviter la dégradation de la glucose oxydase (**Dimins *et al.*, 2006**).

I-2-3-5-Effet antioxydant

Le stress oxydant, défini comme le déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydant. Les antioxydants jouent un rôle important dans la préservation de la santé humaine par désactivation et stabilisation des agents d'oxydations (espèces réactives oxygénées). En effet, l'agression de l'ADN cellulaire par les radicaux libres peut générer des cancers, des perturbations métaboliques, mais aussi accélérer le vieillissement tissulaire et cérébral (**Ames *et al.*, 1993**).

D'après **Bertoncelj *et al.* (2007)**, les composés responsables de l'activité antioxydante dans le miel sont: les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide ascorbique, la catalase, la peroxydase et les caroténoïdes.

Les flavonoïdes

Les miels sont riches en flavonoïdes. Ce sont des pigments présents dans les végétaux et qui constituent une protection contre les rayons ultra violets et la photo oxydation. Ils sont aussi protecteurs vis-à-vis des radicaux libres.

I-2-3-6-Effet antiviral

L'effet anti-viral du miel n'est à ce jour pas expliqué. Cependant, certains composants présents dans le miel sont connus pour leurs effets anti-viraux sur l'HSV comme les flavonoïdes (Amoros *et al.*, 1992) et le cuivre (Sagripanli *et al.*, 1997). Le monoxyde d'azote (NO) jouerait aussi un rôle anti-viral (Torre, 2002); or on retrouve le NO dans de nombreux miels (AI-Waili, 2003).

I-2-3-7-Autres propriétés thérapeutiques

Anti-inflammatoire, antianémique, antiseptique, apéritif, béchique, digestif, diurétique, dynamogénique, émollient, fébrifuge, laxatif, sédatif, amaigrissant, ophtalmique, antitussif, hypoglycémiant...etc.

Chapitre II:
Matériel et
méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Analyses physico-chimiques

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du « laboratoire de méthodes chimiques d'analyses » de l'université Abderrahmane Mira Béjaia.

II-1-1-Matériel utilisé

Echantillons de miels

Trois échantillons de miels, récoltés dans différentes régions de la wilaya de Béjaia qui sont mentionnés dans le tableau I et figure 4.

Tableau I: Echantillons de miels analysés.

Echantillon	Région	Etat
M1	Les oliviers (Béjaia ville)	Non cristallisé
M2	Les oliviers (Béjaia ville)	Non cristallisé
M3	Adekar	Cristallisé

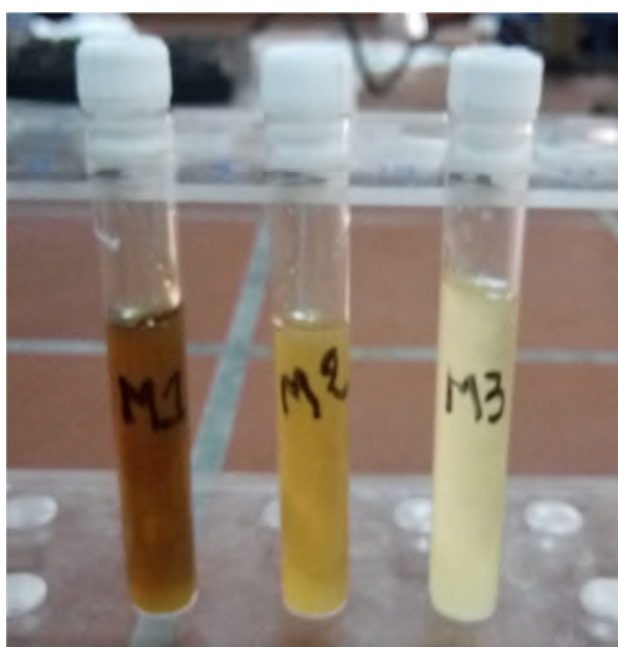


Figure 4 : Photographie des échantillons de miels analysés.

II-1-2-Paramètres analysés

II-1-2-1-pH

Le pH est déterminé selon la méthode de **Bogdanov et al, (1997)** sur une solution de miel à 10% (p/v): 2,5g de miel est dissout dans 25ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la valeur du pH est lue avec un pH-mètre.

II-1-2-2-Humidité

La mesure de la teneur en eau se fait très simplement au moyen d'un réfractomètre: Une goutte de miel est déposée sur la platine du prisme d'un réfractomètre. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure. Cette ligne coupe une échelle verticale graduée directement en pourcentage d'humidité dans le miel, ces valeurs correspondent aux indices de réfractions. Connaissant l'indice de réfraction, on en déduit la teneur en eau (en %). La table de CHATAWAY (Annexe 1) donne directement la correspondance (**Louveaux, 1982**).

II-1-2-3-Conductivité électrique

C'est une conductivité mesurée à 20 °c, elle est déterminée sur une solution de miel à 20 % de matière sèche (**Bogdanov et al., 1997**).

Une masse de miel est pesée telle que $M_s = 500/100 - x$ (où x est la teneur en eau et le M_s est la teneur en matière sèche). La prise d'essai est dissoute dans 25ml d'eau distillée.

La mesure s'effectue par immersion de la cellule du conductimètre dans la solution de miel, la valeur de la conductivité électrique est lue sur l'appareil (**Bogdanov, 1999**). Le résultat s'affiche en simens (S), mais on le donne en milli-simens (mS).

II-1-2-4-Couleur

La couleur du miel est déterminée selon la méthode décrite par **Bath et Snigh, (1999)**: 1g de miel est dissout dans un volume de 4ml d'eau distillée. Après agitation, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 450 et 720nm.

II-1-2-5-Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est déterminé par un polarimètre en utilisant une solution aqueuse du filtrat de miel, pour cela une masse de 12g de miel est dissoute dans de l'eau distillée, 2 ml de

la solution d'hexacyanoferrate de potassium (15% carrez I) et 2 ml de la solution d'acétate de zinc (30% carrez II) y sont ajoutés. Le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée et après 24h, les solutions sont filtrées. Le filtrat est versé dans le polarimètre de Laurent ayant un tube de 10 cm de longueur. La valeur affichée sur l'appareil à l'échelle de la solution de saccharose et à température de 20°C donne la valeur du pouvoir rotatoire (**Bogdanov et al., 1997**).

II-1-2-6-Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Le taux en HMF est déterminé par la méthode de **Bogdanov et al (1997)**. Une masse de 5g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée, 500µl de carrez I (à 15 %) et 500µl de solution de carrez II (à 30 %) y sont additionnés. Le mélange est ajusté à 50ml avec l'eau distillée. Après filtration, les premiers 10ml du filtrat sont écartés. Deux aliquotes de 5ml sont introduites dans deux tubes à essai, l'une avec 5ml d'eau distillée (aliquote d'analyse) et l'autre avec 5ml de sodium bisulfite à 2 % (aliquote de référence).

Après homogénéisation, l'absorbance est lue à 284 et 336 nm et la teneur en HMF est donnée par l'équation suivante (**Bogdanov et al., 1999**):

$$(HMF)(mg/kg) = [(A_{284} - A_{336}) * 149.7 * 5 * F] / W$$

A₂₈₄: Absorbance à 284 nm.

A₃₃₆: Absorbance à 336 nm.

F : Facteur de dilution. Lorsque l'absorbance est supérieur à 0,6 les aliquotes d'analyse et de référence sont dilués avec l'eau distillée et avec la solution de sodium bisulfite, respectivement.

W : masse en gramme de l'échantillon de miel.

II-1-2-7-Proline

Le dosage de l'acide aminé (proline) est réalisé selon la méthode de **Bogdanov (1999)**, dont le principe est basé sur l'action de la ninhydrine sur la proline en milieu acide pour donner une coloration dont le maximum d'absorbance est situé entre 500 et 520nm.

500µl de la solution de miel à 5% sont introduits dans un tube à essai. Le tube témoin renferme 500µl d'eau distillée. Trois autres tubes renferment 500µl de la solution standard de proline. 1 ml d'acide formique et 1 ml de la solution de ninhydrine (3%): diluée dans l'éthanol) sont ajouté à chaque tube. Les tubes sont fermés, agités 15 mn puis placer au bain-

marie à 100°C pendant 15 min. Ensuite, ces tubes sont transférés dans un autre bain-marie à 70°C durant 10 min. 5 ml de la solution aqueuse de 2-propanol (50% v/v) sont additionnées à chaque tube. Après 45 min à l'obscurité, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 510nm. La teneur en proline est déterminée par cette formule:

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

E_s : Absorbance de la solution d'échantillon.

E_1 : mg de proline pour la solution standard.

E_a : Absorbance de la solution de la proline.

E_2 : quantité de miel prise en kg.

80 : Facteur de dilution.

II-1-2-8-Dosage des protéines

Les teneurs en protéines sont déterminées par la méthode de **Bradford, (1976)**. Elle est basée sur un dosage colorimétrique détectant le changement de couleur du bleu de Coomassie G250 à 595nm lorsque ce dernier se fixe sur la protéine et se lie aux groupements aromatiques présents dans la solution. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité du colorant, indiquant ainsi la concentration en protéines dans l'échantillon.

Dans une série de tube à essai, il ya introduction de 0,1 ml d'une solution de miel à 50% (v/v) et 5 ml du réactif de Bradford. Après 2 min, l'absorbance est lue à 595nm (**Azeredo et al., 2003**). La teneur en protéines du miel est déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage de BSA comme standard (Annexe 2).

II-1-2-9-Dosage des composés phénoliques du miel

II-1-2-9-1-Polyphénols totaux

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin –Ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMO12O40) de ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleue de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). La coloration bleu produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans la solution (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

La teneur en polyphénols totaux du miel est déterminée selon la méthode apportée par **Naithani et al (2006)**.

200µl de la solution de miel à 10 % est additionnée à 100µl de réactif de Follin-ciocalteu (50% v/v) et 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2%. Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 750nm. Une courbe d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 100 grammes de miel (mg EAG/100g miel) (Annexe2).

II-1-2-9-2-Les flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été évalués par colorimétrie. Selon le **Directive du conseil de l'union Européenne, (2002)**: 0,4 g de miel est dissout dans 4 ml d'eau distillée (SM), on prend 1 ml de la solution mère et on lui ajoute 4 ml d'eau distillée, les 5 ml obtenue sont mélangées avec 0,3 ml de nitrite de sodium à 5%. Après 5 min, 0,3 ml de chlorure d'aluminium à 10% y sont ajoutés, 5min après 2 ml de soude (1M) y sont ajoutés, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 510nm. (Les 5 min d'attente sont faites à l'obscurité).

Une courbe d'étalonnage est élaborée avec des solutions standards de catéchine (Annexe 2) préparées à différentes concentrations (0-100µl) (**Zhishen et al., 1999; Khalil et al., 2012**)

La concentration en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100g de miel (mg EQ/100g).

II-2-Evaluation de l'activité antibactérienne

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire BPC de l'université Abderrahmane Mira Béjaia.

II-2-1-Matériel utilisé

II-2-1-1-Echantillons de miels

L'échantillon M2 à été remplacé par un autre échantillon (Miel de Toudja), réputé pour son activité antibactérienne (figure 5).



Figure 5 : L'échantillon M2

II-2-1-2-Souches bactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des trois échantillons de miel, nous avons utilisé des souches bactériennes de références:

staphylococcus aureus ATCC 25923, Gram+

Escherichia coli ATCC 25922, Gram-

Ces souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université Abderrahmane mira.

Le choix de ces souches est basé sur leurs différences pariétales (Gram+ et Gram-), les problèmes qu'elles causent en clinique ainsi que le défi qu'elles posent à l'antibiothérapie moderne.

II-2-1-3-Milieu de culture

Les tests ont été réalisés sur milieu gélosé de Mueller-Hinton qui est considéré comme le milieu de référence pour les tests antibactériens selon les recommandations nationales et internationales ((EUCAST, 2003); (NCCLS, 2003)), du fait qu'il contient tout les éléments requis pour une bonne croissance des bactéries.

II-2-1-4-Les antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques est étudiée par l'antibiogramme.

Tableau II : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

E. coli		S. aureus	
A	Ceftazidime CAZ	A	Ceftazidime CAZ
B	Cefalexine CN	B	Vancomycine VA
C	Aztreonam ATM	C	Acide fusidique AF
D	Amoxicilline AMC	D	Oxacilline OX

Préparations

Le Protocol suivi est celui décrit par **Mazari et al (2010)**.

-Préparation du milieu de culture

Suspendre 38g de la poudre dans 1l d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution total du milieu et stériliser par autoclavage à 120 °c pendant 20 minutes.

-Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une lance de platine, prélever quelques colonies à partir des différentes souches bactériennes déjà repiquées, puis les incorporer dans deux tubes contenant du bouillon nutritif (5 ml/tube), après agitation, incubées les tubes à 37°C pendant 18 à 24 heures. Un ensemencement par écouvillonnage est réalisé sur la gélose Mueller-Hinton. Laisser sécher.

II-2-2-Méthodes utilisées

II-2-2-1-Méthode de diffusion à travers des puits

L'activité antibactérienne des miels est étudiée selon cette méthode (**Meda *et al.*, 2005**) : elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution, cette dernière se diffuse de façon radiale en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable (**Bousbia, 2004**).

4 puits équidistants sont creusés avec un embout dans chacune des boîtes : Trois puits sont remplis de miel (3 essais), le quatrième puits est utilisé comme un témoin (une solution de saccharose de concentration égale à la teneur en sucre des échantillons de miel utilisés (80%)).

II-2-2-2-Méthode de diffusion à travers des disques

L'antibiogramme est réalisé selon cette méthode, elle est basée sur la diffusion des antibiotiques à tester (**Cos *et al.*, 2006**).

A l'aide d'une pince stérile, déposer les disques d'antibiotiques sur la géloseensemencée, les boîtes sont ensuite placées au frigo pendant 1 heure pour faciliter la diffusion puis incubées à 37 °C. Après 18 à 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle graduée. Elle est réalisée en prenant la moyenne des trois mesures des trois essais. Plus la zone d'inhibition est grande, plus la souche bactérienne est sensible au miel ou à l'antibiotique.

Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité, nous avons considéré une souche sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 10 mm; résistante si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm; intermédiaire si le diamètre est égal à 10 mm.

Après la lecture des zones d'inhibition, à l'aide d'une pipette pasteur gratter la zone d'inhibition et la plonger dans un bouillon nutritif puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Le miel naturel a deux types d'effets sur les bactéries: un effet bactériostatique qui se traduit par l'apparition d'un trouble et un effet bactéricide par l'absence d'un trouble.

Chapitre III :
Résultats et
discussion

Chapitres III : Résultats et discussion

III-1-Analyses physico-chimiques

III-1-1-pH

Le pH est un critère de qualité, il est en fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme (ions H⁺) ainsi que de sa composition minérale.

La valeur du pH varie en général entre 3,5 et 5,5; elle est due à la présence des acides organiques qui contribuent à la stabilité du miel contre la détérioration microbienne. L'acide organique principal est l'acide gluconique (Bogdanov *et al.*, 2004). Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5. Un pH extrême, en dehors de ces valeurs, révèle une dégradation biochimique suite à de mauvaises conditions de récolte ou de conservation.

L'examen des résultats montre que le pH mesuré varie entre 3,67 et 3,96 (figure 6). Les valeurs obtenues rentrent dans les normes internationales, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur. On conclut que nos échantillons sont des miels de nectar.

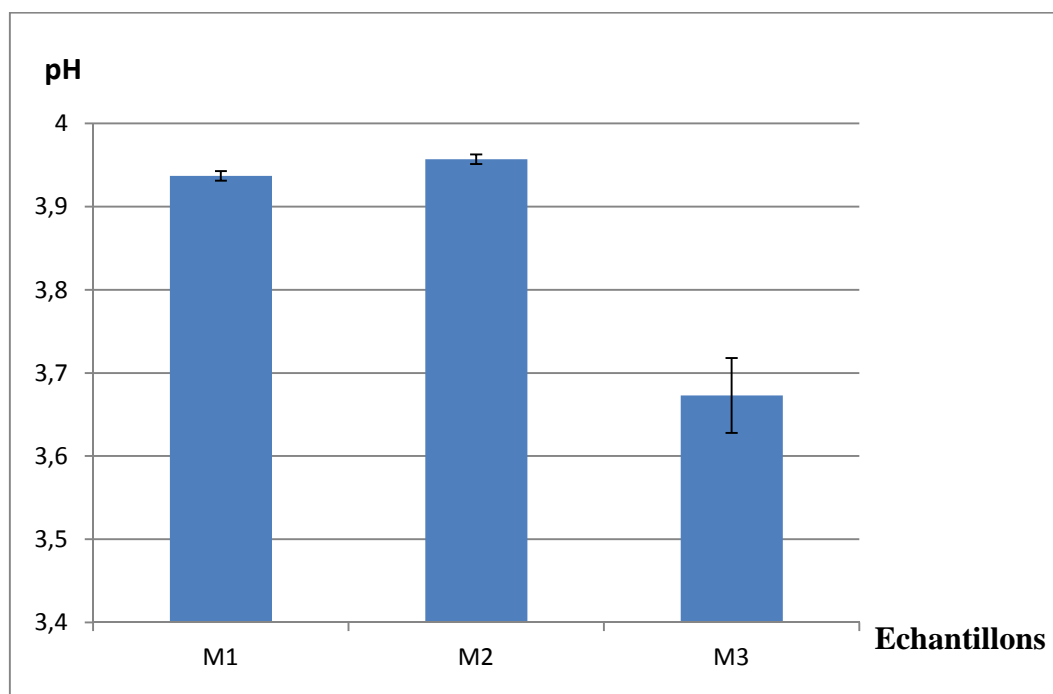


Figure 6 : pH des miels analysés.

III-1-2-Humidité

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré de maturité du miel et renseigne sur la stabilité du produit contre la fermentation durant la conservation (**juszezak et al., 2009**).

La plupart des miels ont un indice de réfraction allant de 1,5041 à 1,4915 pour une teneur en eau de 13 à 18 % (**labreau-collen et al.,1999**).

La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais peut être influencée par de nombreux facteurs: La teneur en eau des plantes butinées par les abeilles ouvrières, l'origine florale, le climat et aux compétences de l'apiculteur (**ouchemoukh, 2012**).

En excès, l'humidité est souvent responsable de la fermentation du produit et provoque donc un goût désagréable d'alcool de prune. Trop sec, le miel ne libère plus ses arômes de façon optimale. Il colle en bouche et assèche toute votre salive.

Selon **Nombre et al (2010)**, l'humidité est la caractéristique la plus importante du miel car elle est étroitement liée à sa qualité, sa viscosité, sa cristallisation, sa fermentation et à sa saveur.

L'examen des résultats montre que la teneur en eau dans tous les échantillons varie entre 15,99% et 19,20% (tableau III et figure 7). Ces valeurs cadrent les normes qui sont Inférieures à 20% (miels de nectar). Les miels dont le taux d'humidité est supérieur à 18% présentent un risque de fermentation causé par les levures tels que M2, les miels M1 et M3 se conservent mieux car ils sont moins riches en eau (<18%).

Les résultats obtenus sont similaires à celles d'**Amrouche et Kessi (2003)** sur les miels algériens révélés de valeurs comprises entre 15% et 22,6%.

Tableau III : Teneur en eau des échantillons de miels analysés.

Echantillons	IR	Pourcentage D'humidité	Normes d'IR	Norme en %
M1	1,4930	17,47	1,5041-1,4915	20 %
M2	1,4885	19,20		
M3	1,4965	15,99		

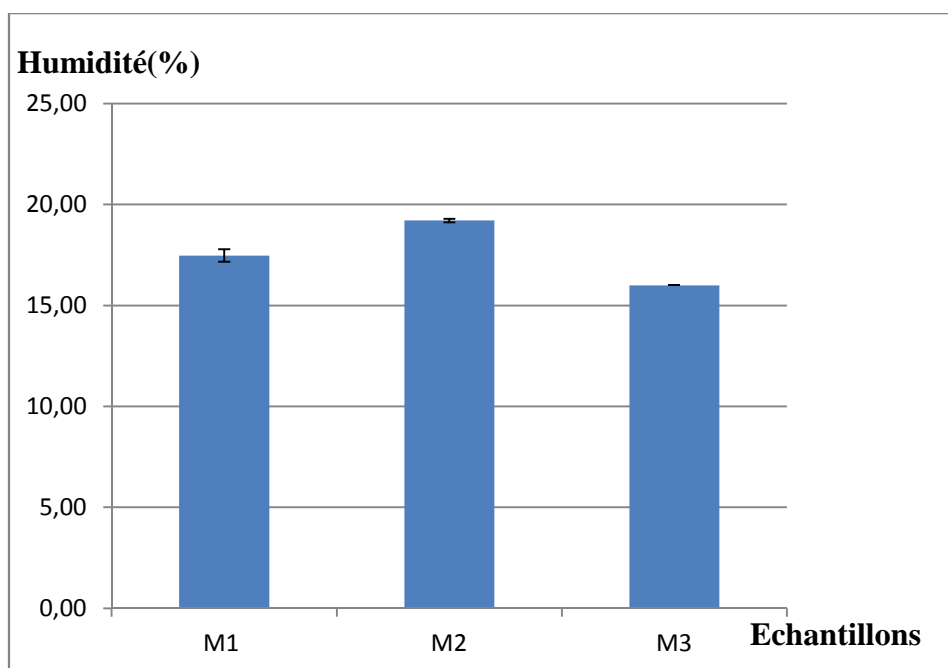


Figure 7 : Teneur en eau des échantillons de miels analysés.

III-1-3-Conductivité électrique

La mesure de la conductivité donne de précieux renseignements sur l'origine botanique et permet notamment de différencier les miels de fleurs des miels de miellat et détecter si les abeilles ont été artificiellement nourries au sucre. Elle dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel.

Selon leur origine florale, les miels ont une conductivité variable. D'une manière générale, les miels de miellat conduisent beaucoup mieux le courant et ont donc une conductivité plus élevée ($>0,8$ mS/cm) que des miels de nectar ($<0,8$ mS/cm) (Codex alimentarius, 2001).

L'examen des résultats montre que la conductivité électrique des échantillons varie entre 0,523 et 0,621 mS/cm (figure 8) (ils rentrent dans les normes). On conclut que nos miels sont d'origine florale.

La conductivité de l'échantillon M1 est la plus élevée (0,621 mS/cm), il est donc un bon conducteur électrique par rapport aux autres échantillons.

Les valeurs obtenues sont inclus dans l'intervalle de valeurs rapporté par Ouchemoukh (2012) sur le miel d'Erica arborea possède une conductivité électrique variant de 0,54 à 0,89 mS/cm.

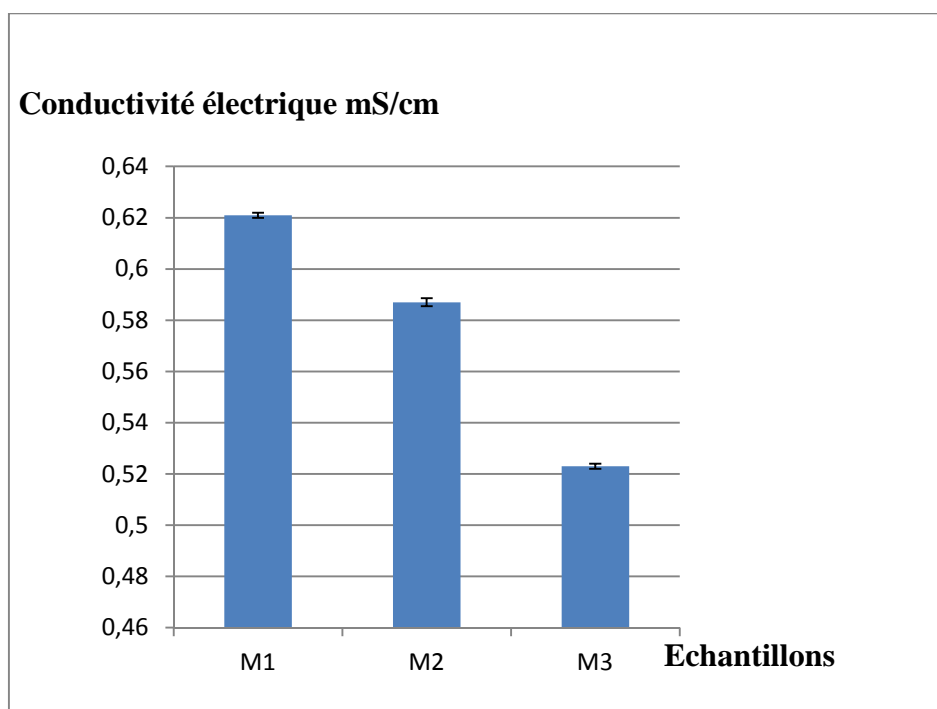


Figure 8 : Conductivité électrique des échantillons de miels analysés.

III-1-4-Couleur

La couleur est immédiatement aperçue par le consommateur. C'est un critère très important pour la classification des miels dont elle reflète leurs origines (**Juszczak et al., 2009**). Plusieurs composés sont à l'origine de la couleur du miel tels que les caroténoïdes (carotène, xanthophylles), composés phénoliques (flavonoïdes: impliqués dans le phénomène du brunissement), de même que les minéraux et les acides aminés (tyrosine, tryptophane) (**Amiot et al., 1989**).

La couleur des échantillons analysés varie de jaune claire (M3) au marron foncé (M1). Les résultats obtenus pour ce paramètre varient de 0,14 (M3) à 0,604 (M1) (figure 9). Cette variation de couleur est attribuée à: L'origine botanique, La composition, La cristallisation, l'oxydation et la caramélisation. Le miel foncé est plus riche en matières minérales (manganèse, fer, cuivre et l'azote).

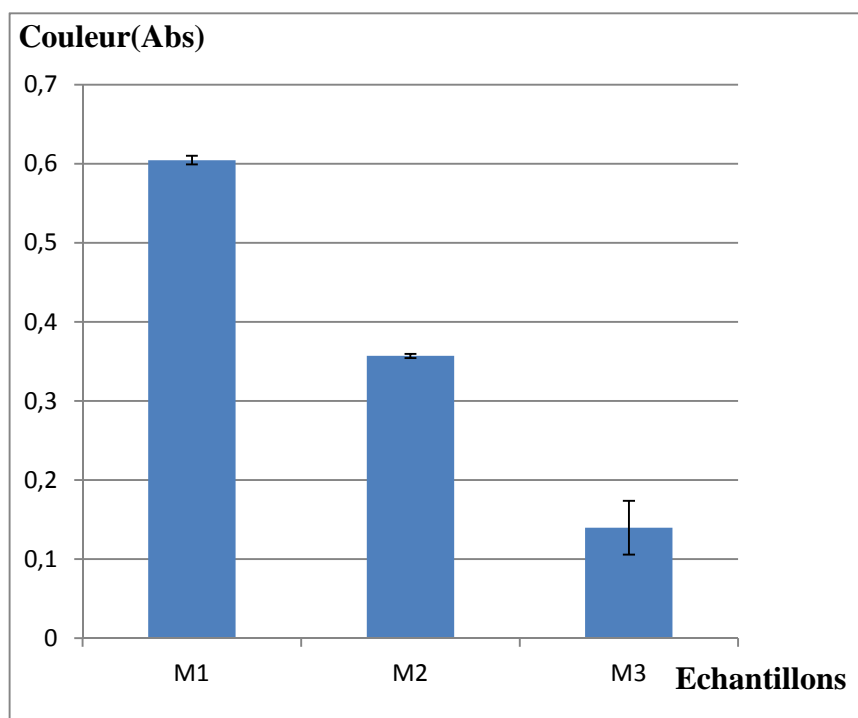


Figure 9 : Couleur des échantillons de miels analysés.

III-1-5-Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire du miel est utilisé pour distinguer le miel de fleurs du miel de miellat. Les miels de miellats induisant une déviation du vecteur vers la droite sous l'effet du glucose et sont qualifiés de « dextrogyres », tandis que les miels de nectar induisant une déviation du vecteur vers la gauche sous l'effet du fructose sont dits « lévogyres ».

La somme des deux angles nous donnera un angle de rotation alpha dans le même sens que le sucre dominant, cet angle est influencé par deux facteurs: la concentration et l'angle spécifique (L'angle de rotation spécifique du fructose est de $(-92,2^\circ)$ et celui du glucose et de $(+52,7^\circ)$) et nous renseignera sur le rapport fructose/glucose qui sera d'autant plus important si la concentration du fructose est plus grande que celle du glucose et inversement. Tout les miels analysés sont lévogyres (Lequet, 2010).

Tableau IV: Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons	M1	M2	M3
Pouvoir rotatoire	$-3,6^\circ$	$-3,2^\circ$	$-4,9^\circ$

Le miel M3 est le plus lévogyre tandis que le miel M2 est le moins lévogyre. Le pouvoir rotatoire de M3 est similaire à celui rapporté par **Ouchemoukh (2012)** pour le miel de tazmalt.

III-1-6-Hydroxy-Méthyl-Furfural

L'analyse de la quantité d'HMF est une excellente méthode pour apprécier la qualité d'un miel: son vieillissement et son chauffage. L'apparition de ce composé est le résultat de la transformation des sucres simples et plus particulièrement du fructose en hydroxyméthylfurfural: 5-(hydroxyméthyl)-2- furaldéhyde sous l'effet du stockage et/ou de la chaleur. Son taux ne doit pas dépasser 40 mg/kg (**Ouchemoukh, 2012**).

La teneur en HMF d'un miel est pratiquement nulle au moment de la récolte, elle augmente progressivement, lentement tout d'abord pour s'accélérer par la suite. L'HMF est un indicateur de la fraîcheur et le surchauffage du miel.

L'examen des résultats montre que les teneurs en HMF varient entre 13,92 et 19,71 mg/kg de miel (figure 10). Ces résultats rentrent dans l'intervalle de valeur rapporté par **Amri (2006)** sur les miels de l'est d'Algérie (1,12 à 38,59 mg/kg).

Les résultats obtenus montrent que les miels n'ont pas été stockés pendant longtemps et n'ont pas subis de chauffage, ce qui affirme que les miels analysés sont de bonne qualité et conforme aux normes fixées par le **codex alimentarius (2001)**.

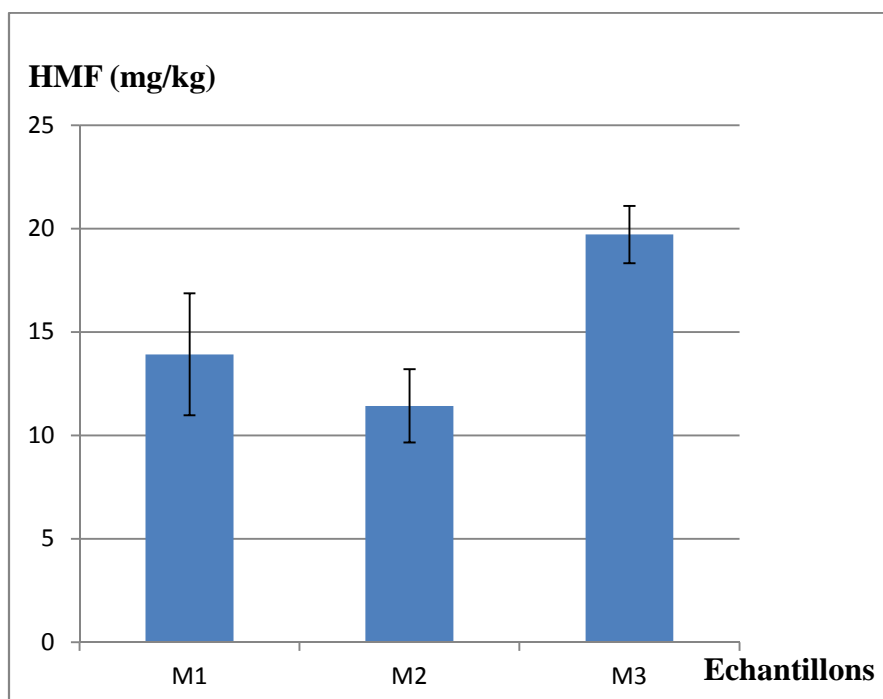


Figure 10 : HMF des miels analysés.

III-1-7-Proline

La proline, principal acide aminé du miel, utilisé comme un standard pour quantifier la teneur en acide aminés. Il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière, durant la conversion du nectar et/ou du miellat après la consommation du pollen. Cet acide aminé donne des informations sur l'origine botanique (Bosi et col ,1978 ; Davies, 1975) et sur la maturité du miel souvent falsifié. Généralement, la teneur en proline ne doit pas être inférieure à 180 mg/kg; soit environ 66% de quantité totale d'acides aminés du miel (Wang et al., 2011).

La teneur en proline des échantillons de miels analysés varie de 190,10 à 212,91 mg/kg de miel (figure 11). Ces résultats sont proche de ceux rapportés par Ouchemoukh et al., 2007 (202 et 680mg/kg) sur les miels algériens.

Les résultats obtenus indiquent que les miels analysés sont authentiques (non falsifiés) et mûres.

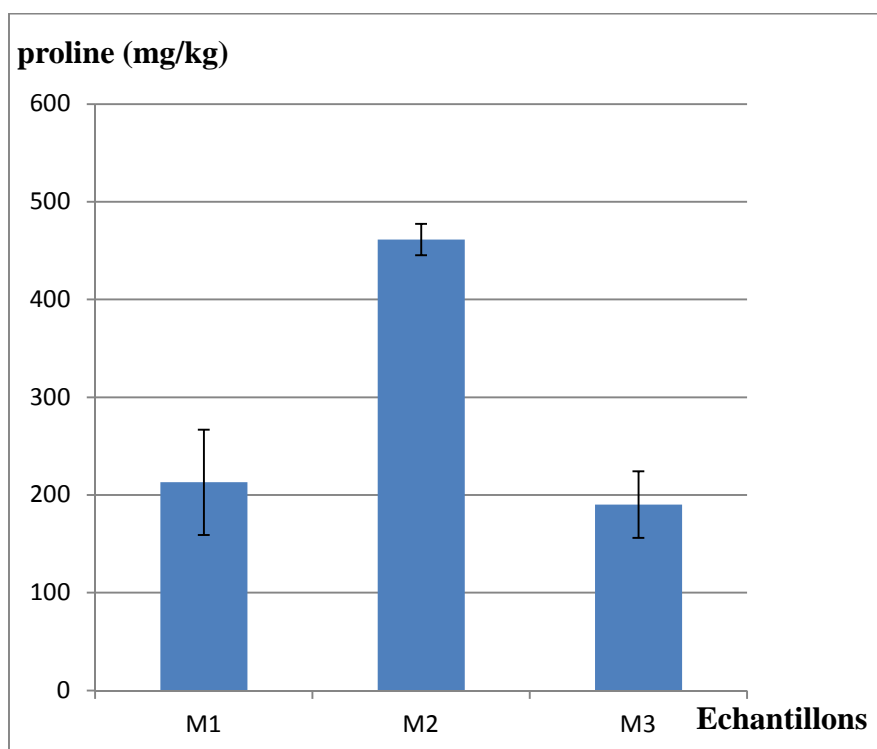


Figure 11 : Proline des échantillons de miels analysés.

III-1-8-Protéines

Le dosage des protéines du miel est un caractère qui ne figure pas les normes internationales. Cependant, leur richesse donne une valeur nutritionnelle aux miels (Amri, 2006).

La teneur en protéines des variétés de miel est située entre 5,45(M3) et 58,86mg (M1) ESAB/100g (figure 12). L'échantillon M3 est le plus riche en protéines.

Il est montré que la richesse en protéines essentiellement les peptones, les albumines, les globulines et les nucléo-protéines proviennent de la plante, et/ou de l'abeille et qui diffèrent selon l'origine botanique des miels ce qui explique la différence dans les taux de protéines des miels analysés (Jonathan *et col.*, 1978 .White *et col.*, 1967).

Cette intervalle de valeurs est similaire a ceux rapportés par Kishor *et al* (2011) sur les enchantions de miel de cuba (12-92,3 mg/100g) sauf pour l'échantillon M1 qui est pauvre en protéines (5,45mg/100g).

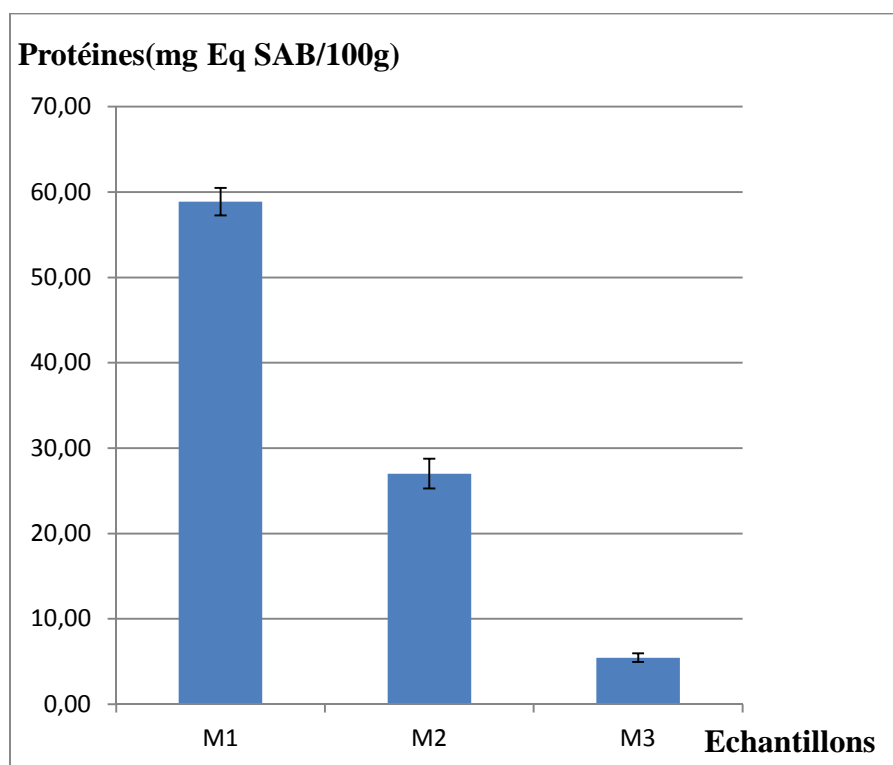


Figure 12 : Protéines des échantillons de miels analysés.

III-1-9-Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont abondants dans les fruits et boissons. Ils sont également présents dans le miel, leur contenu dépend de l'origine botanique, géographique et climatique (**Saric et al., 2012**).

De nombreux travaux font état d'une forte corrélation entre la couleur du miel et la teneur en composés phénoliques (**Massaux, 2012 ; Dong et al., 2013**); la coloration jaune semble liée à la concentration en flavonoïdes alors que l'intensité de la couleur ambré dépend de la teneur en acides phénoliques (**Amiot et al., 1989**). De même, l'amertume des miels est probablement due à une teneur élevée en polyphénols totaux (**Campus et al., 1983 ; Amiot et al., 1989**).

III-1-9-1-Polyphénols

Les polyphénols sont l'une des plus importantes classes de composés trouvés dans le miel (**Ibrahim et al., 2012**).

Nos résultats ont révélé une variabilité dans les teneurs des composés phénoliques en fonction des régions.

Dans notre étude, les teneurs en polyphénols totaux des miels varient de 64,56(M3) à 179,29 (M1) mg EAG/100g de miel (figure 13). Les résultats obtenus rentrent dans l'intervalle de valeurs rapportés par **Ouchemoukh et al. (2007)** (64-1304mg EAG/100g de miel) pour des miels Algériens.

Généralement, les miels foncés sont plus riches en composés phénoliques que les miels clairs, ceci a été confirmé par notre étude: l'échantillon M3 de couleur jaune clair a une faible teneur en polyphénols totaux, par rapport à l'échantillon M1 qui est d'une couleur plus foncée (marron foncé), riche en composés phénoliques.

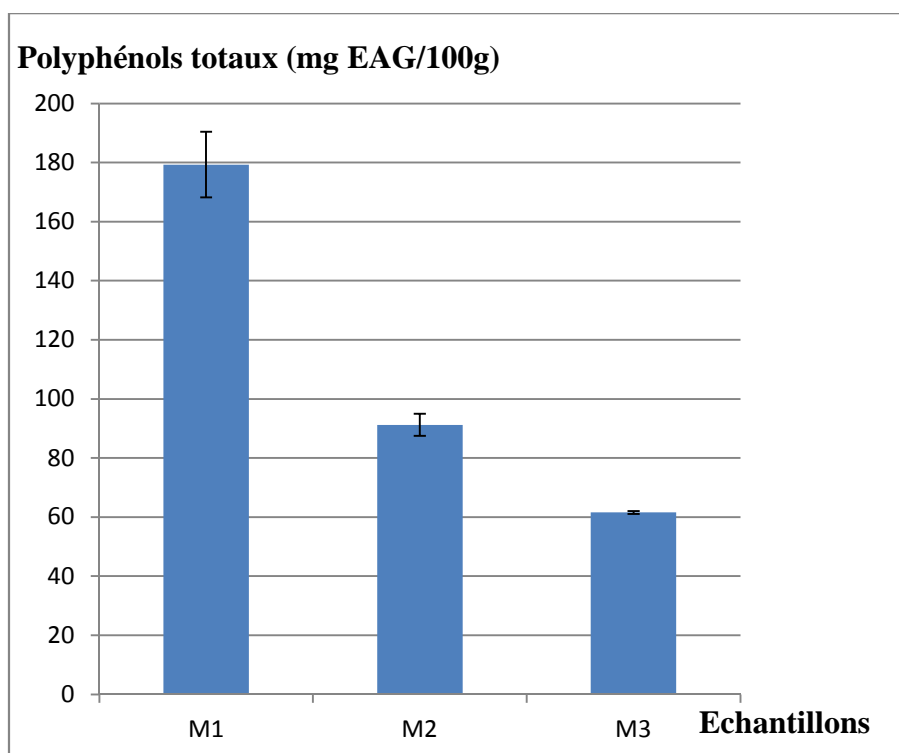


Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de miels analysés.

III-1-9-2-Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. De faible poids moléculaire, ils participent activement aux propriétés organoleptiques et antioxydantes des miels.

Les flavonoïdes sont reconnus par leurs hautes activités pharmacologiques comme piègeurs de radicaux, ils sont efficaces contre les maladies coronariennes et le cancer (Saba *et al.*, 2011).

Le taux de flavonoïdes des différents miels analysés est compris entre 2,452 (M1) et 14,60mg (M2) EQ/100g (figure 14). Ces résultats sont différents de ceux rapportés par **Habib *et al* (2014)** sur des miels orientaux (12,76 à 109,49 mg CE/100g), ils sont proche de ceux rapportés par **Ouchemoukh (2012)** sur des miels algériens (0,30 à 35,61 mg CE/100g).

Généralement, les miels de couleurs jaune sont plus riche en flavonoïdes que les autres miels, ceci a été confirmé par notre étude: l'échantillon M1 de couleur marron foncé a une faible teneur en flavonoïdes, par rapport à l'échantillon M2 qui est d'une couleur jaune foncé, riche en flavonoïdes. On déduit que l'échantillon M2 présente une activité antioxydante plus importante que celle des autres échantillons.

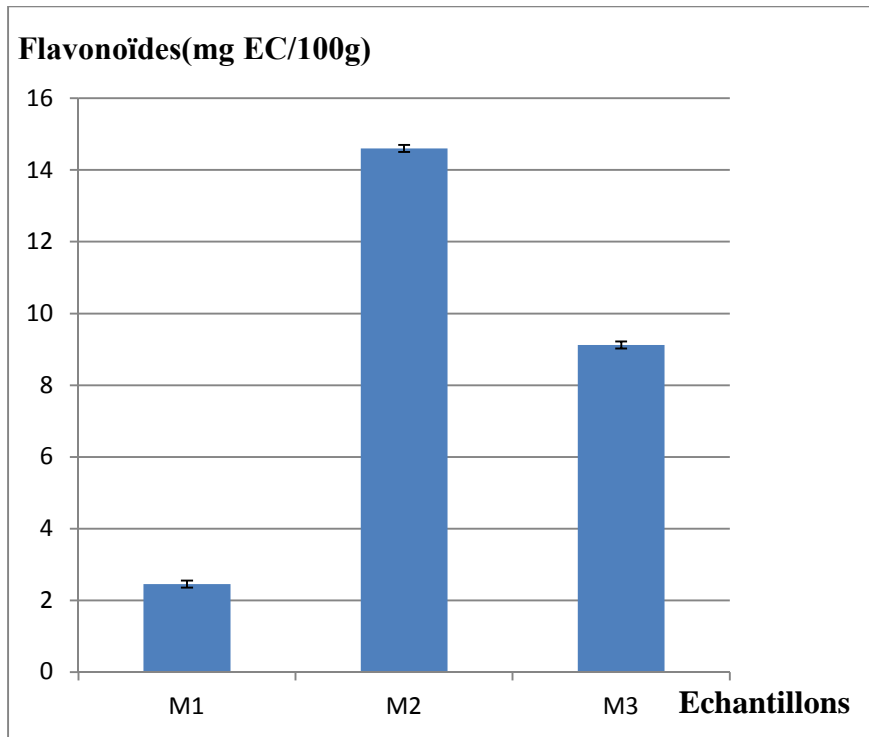
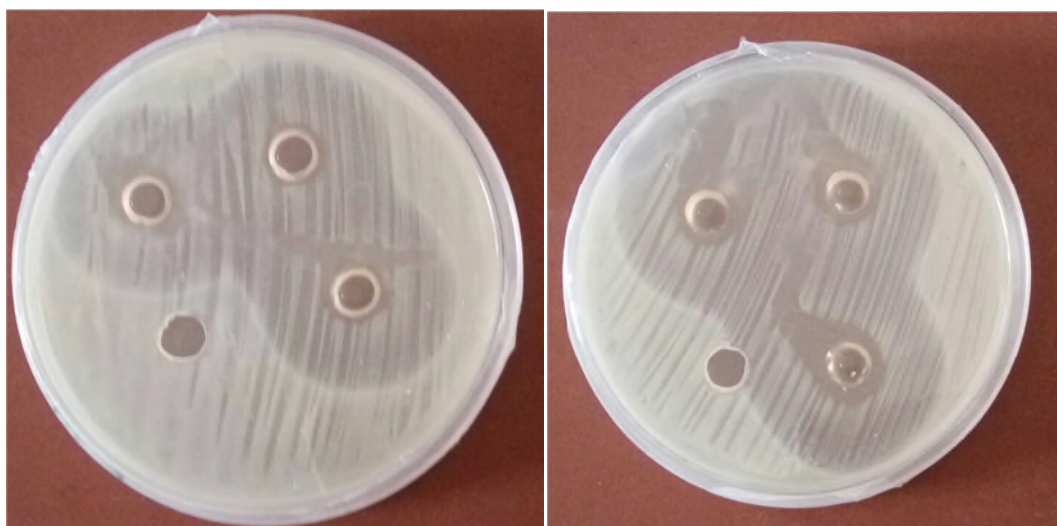


Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de miels analysés.

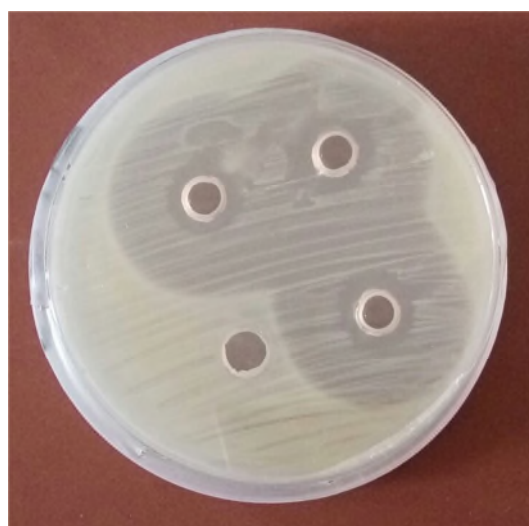
III-2-Activité antibactérienne

Les résultats de l'évaluation antibactérienne des trois échantillons de miel ainsi que celle de la solution sucrée sur les deux souches sont regroupés dans les figures 15 et 16 et le tableau V. Les photos des deux antibiogrammes d'*E. Coli* et *S.auerus* (figure 17 et le tableau VI) sont présentés pour une comparaison avec les tests de miel.



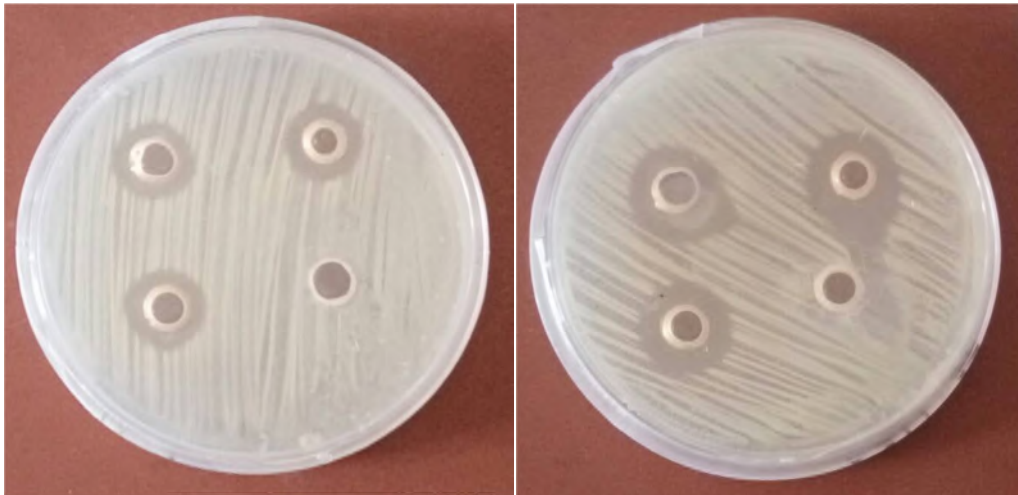
Echantillon M1

Echantillon M2



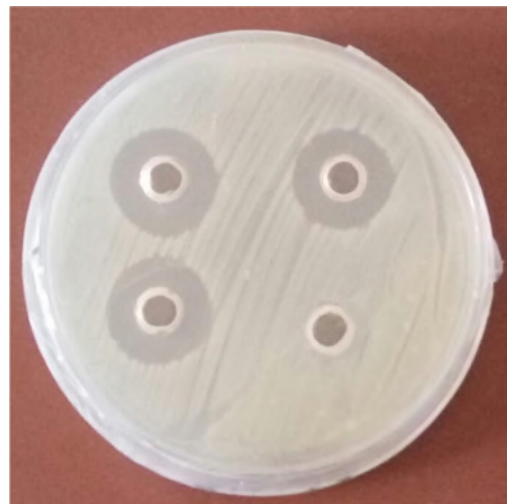
Echantillon M3

Figure 15 : Effet du miel sur *Escherichia Coli*.



Echantillon M1

Echantillon M2



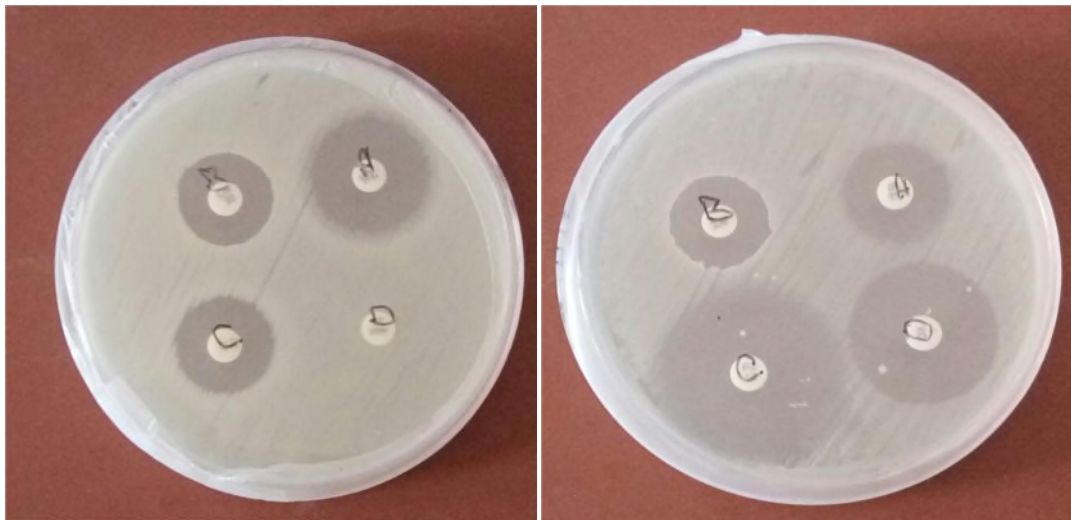
Echantillon M3

Figure 16 : Effet du miel sur *Staphylococcus aureus*.

Tableau V : Effet du miel sur les souches testées.

	Sucre	Echantillon M1				Echantillon M2				Echantillon M3			
Essais	T	E1	E2	E3	Moy	E1	E2	E3	Moy	E1	E2	E3	Moy
E. coli	<10	14	11	11	12	15	13	15	14,33	14	15	15	14,66
S. aureus	<10	15	16	14	15	17	18	17	17,33	19	20	20	19,66

Les chiffres représentent les diamètres des Halos d'inhibition en mm.



Escherichia Coli

Staphylococcus aureus

Figure 17 : Antibiogramme des deux souches bactériennes.

Tableau VI : Antibiogramme des bactéries à Gram- et Gram+.

Antibiotiques (Gram-)	A	B	C	D
E. coli	23	18	19	00
Antibiotiques (Gram+)	A	B	C	D
S. aureus	19	17	34	26

Les chiffres représentent les diamètres des halos d'inhibition en mm.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne, on peut constater ce qui suit :

- ❖ Les différents échantillons de miels ont montrés une action inhibitrice sur les deux souches bactériennes (pas de résistance): Les diamètres d'inhibitions varient de 12 à 19,66 mm qui sont supérieurs à 10 mm; et une très faible zone d'inhibition au tour de la solution sucrée (80%). Cela signifie que les propriétés antibactériennes ne sont pas dues uniquement à cette haute teneur en sucres. En effet, le miel a un pouvoir antibactérien supérieur à celui du sucre. Il y a donc dans le miel des composés autres que les sucres qui empêchent les microorganismes de se développer.

❖ La comparaison des moyennes démontre que l'inhibition est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble des miels analysés avec une activité plus importante sur *S.aureus* (Gram+) que sur *E.coli* (Gram-), ceci dépend d'une part de la composition du miel et d'autre part à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et Gram négatives: La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée d'une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouches liée par une membrane cellulaire externe (**Balentine et al., 1999**). Ces résultats concordent avec les travaux de **Salwa et Maher (2014)** qui ont testé l'effet antibactérien des miels de Yémen sur les bactéries à Gram+ et Gram-.

❖ La plus grande zone d'inhibition est obtenue avec l'échantillon M3 sur les deux Souches (*E.coli* et *S.aureus*) avec des diamètres d'inhibitions de 14,66 et 19,66mm respectivement, et la plus faible est obtenue avec l'échantillon M1 sur les deux souches (*E. coli* et *S.aureus*) avec des diamètres d'inhibitions de 12 et 15 mm respectivement.

Le M3 avec les plus grands diamètres est le moins riche en composés phénoliques par rapport aux M1, ceci signifie que les composés phénoliques interviennent faiblement dans le processus antibactérien des miels. Une étude de l'activité antibactérienne d'extrait d'acides phénoliques et de flavonoïdes de miels devrait permettre de mieux évaluer l'activité antibactérienne des phénols des miels (**Aldjadi et Kamaruddine, 2004**).

❖ Le diamètre de la zone d'inhibition obtenu par l'antibiotique Ceftazidime (A) est de 19mm et par l'échantillon M3 est de 19,66mm sur la même souche (*S.aureus*), dans ce cas là l'échantillon M3 a eu un effet similaire à cet antibiotique.

Cependant, des travaux déjà effectués par **Nair Samira (2014)** sur des miels algériens montrent que l'activité inhibitrice du miel naturel sur *E.Coli* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs. Concernant *S.aureus*, une souche polyrésistante aux antibiotiques, l'activité inhibitrice du miel naturel sur cette souche est excellente (deux fois plus que les antibiotiques) : la plus grande zone d'inhibition pour le miel est de 27mm et de 8mm pour les antibiotiques.

L'effet bactéricide et bactériostatique de nos échantillons de miels est représenté dans la figure 18 et le tableau VII.

Un effet bactéricide : la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués.

Un effet bactériostatique: un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués.

D'après les résultats obtenus :

- ✓ L'échantillon M1 a un effet bactériostatique sur E.Coli et bactéricide sur S.aureus.
- ✓ L'échantillon M2 a un effet bactériostatique sur les deux souches bactériennes.
- ✓ L'échantillon M3 a un effet bactériostatique sur E.Coli et bactéricide sur S.aureus.



Figure 18 : Effet bactériostatique et bactéricide sur les deux souches bactériennes.

Tableau VII : Effet bactériostatique et bactéricide sur les deux souches bactériennes.

Bactéries	Echantillon M1	Echantillon M2	Echantillon M3
E. coli	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique
S. aureus	Bactéricide	Bactériostatique	Bactéricide

Conclusion

Conclusion

Béjaia possède une diversité végétale très importante et des conditions climatiques favorables à la production du miel.

La qualité d'un miel pur est principalement déterminée par son humidité, sa teneur en HMF, son taux d'acidité, sa conductivité électrique et son spectre de sucres (**Lazarevic et al., 2012**). Les résultats physicochimiques obtenus nous permettent de constater que nos miels s'accordent avec les normes établies par le codex Alimentarius. Les paramètres étudiés diffèrent d'un miel à un autre et révèlent que la majorité des échantillons de miels analysés sont d'origine florale. Chacun des paramètres analysés contribue à une indication précise sur la qualité du miel. Ainsi, ils peuvent être classés en trois groupes; ceux qui déterminent la maturité (teneurs en eau), l'origine florale (conductivité électrique et le pH) et la fraîcheur (HMF).

Il est nécessaire de signaler que les miels inconvenablement traités subissent en général des transformations plus au moins importantes, pouvant dévaloriser ces produits :

- La coloration s'intensifie ;
- La teneur en HMF augmente ;

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram+ et à Gram-, ainsi que les souches testées. Cet effet inhibiteur a été constaté pour tous les échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

La souche *Staphylococcus aureus* est plus sensible à l'effet des échantillons de miels qu'*Escherichia Coli*. Tous les échantillons ont eu un effet bactériostatique sauf M1 et M3 qui ont eu un effet bactéricide sur *S.aureus*.

Mais ces propriétés antibactériennes ne sont pas dues uniquement à cette haute teneur en sucres. En effet, le miel a un pouvoir antibactérien supérieur à celui du sucre. Il y a donc dans le miel des composés autres que les sucres qui empêchent les microorganismes de se développer.

La valeur médicinale du miel comme antibiotique naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement pour limiter les recours aux antibiothérapies et de réduire ainsi la probabilité

d'émergence de nouvelles souches résistantes, ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Compte tenu de son très grand champ d'application, à la fois préventif et curatif, antiseptique et antibiotique et de sa grande efficacité dans de nombreuses indications, de sa facilité de mise en œuvre, de sa parfaite innocuité et de l'absence d'effets secondaires, l'utilisation du miel représente une possibilité thérapeutique de premier plan qui ne demande qu'à être mieux connue.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche sont proposées :

- Effectuer des analyses physico-chimiques sur une large gamme d'échantillons de miels du pays afin de dégager des normes pour les miels spécifiques de l'Algérie.

- Effectuer des analyses physico-chimiques sur un même échantillon de miel récolté à des saisons différentes.

- Approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactérie et jouer sur la composition pour identifier les composants responsables de cette activité.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- Adams CJ., Boulton CH., Deadman BJ., Farr JM., Grainger MNC. And Manley-Harris M. (2008). Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate Research*, 9: 343-651.
- Ai Waili N.S. Identification of nitric oxide metabolites in various honeys effects of honey on plasma and urinary nitrite/nitrate concentration. *J. Med Food*, 2003, (6), 359-364
- Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85: 513–518.
- Al-khalifa., A.S., Al-Arif, I.A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food chemistry* 67, 21-25.
- Allen KL., Hutchinson G. and Molan PC. (2000). The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. First World Healing Congress, Melbourne, Australia, 54:10-13.
- Al-Mamary M., Al-Meerri A. and Al-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.
- Ames N. B., Shigenaga M. K and Hagen T. M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. *Proceeding of The National Academy of Sciences*, 90: 7915-7922.
- Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M. and Tachini M. (1989). Les composés phénoliques: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par famille. *Apidologie*, 20 (2) : 115-125.
- Amirat, A. Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de thymus algériens de la région de Tlemcen. Travail de diplôme réalisé en vue de l'obtention du diplôme de master en biologie, science des aliments, Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen, 2014, p. 16-17.
- Amoros M., Simoes M., Cirre L., Sauvager F. Synergistic effect of flavonone and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. *J. Nat Prod*, 1992, 55, 1732-40.
- Amri, A. Evaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. (2006). Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme de magistère, filière biochimie appliquée, université Badji Mokhtar-Annaba, p. 51.

- Anchling F, (2005): juin, sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. *Revue j'abeille de France*, volume n° 915. p 07.
- Archer HG., Barnett S., Irving S., Middleton KR. and Seal DV. (1990) A controlled model of moist wound healing: comparison between semipermeable film, antiseptics and sugar paste. *International Journal of Experimental Pathology*, 71:155-70.
- Assie. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat. Université de Limoges, 22-67.
- Azeredo L.D.C., Azeredo M.A.A., De Souza S.R. and Dutra V.M.L. (2003). Proteins contents and physicochemical proprieties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80: 249-254.
- Balentine d.a. albano mc, et al., (1999). Role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health. *nutr rev*,57(2):41-5.
- Bath, P.K. and Snigh, N. (1999). A comparaison between *Helianthus anus* and *Eucalyptus lanceolatus* Honey, *Food chemistry*, 67: 389-397.
- Bertoncelej J., Dobersek U., Golob T and Jamnick M. (2007). Evaluation of the Antioxidant Activity of Three Varieties of Honey from Different Botanical and Geographical Origins.
- Biri M, (1976): l'élevage moderne des abeilles. Ed vecchi S.A Paris . 321p.
- Blanc M., Chulia A. (dir.). *Propriétés et usage médical des produits de la ruche*. Thèse de doctorat : Pharmacie. Limoges : Université de Limoges : 2010.
- Bogdanov S., Bieri K., Kilchmann V. and Gallamn P. (2005). Miels monofloraux Suisses. *ALP Forum*, 23 : 1-55.
- Bogdanov S. and Blumer P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre Suisse de recherches apicoles. Station fédérale des recherches laitières. Liebefeld, CH-3003 Berne,1-8.
- Bogdanov, S., Kilchenmann V., Fluri P., Bühler U., Lavanchy P. (1999). Influence of organic acids and components of essential oils on honey taste. *American Bee Journal*., 139: 61-63.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lüllmann, C. (1997) Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, Extra issue, 1-59.
- Bogdanov S., Ruoff K. and Persano Oddo L. (2004). Physico- chemical methods for characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, 35 (1): 4–17.

- Bosi, G. und Battaglini, M. (1978). Gas chromatographic analysis of free and protein amino acids in some unifloral honeys, *J. Apic. Res.* 17: 152-166.
- Brudzynski K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, 52 (12): 1228-1237 (10).
- Campus, R, Madau, G., & Solinas, B. (1983). La composizione dei mieli sardi : notasul contenuto in sostanze azotate e polifenoliche. *Tecnologie Alimentari*, 6, 10-15.
- Castro-Vázquez, L., Diáz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S.(2007). Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food chemistry*, Volume 103, Issue 2, Pages 601-606 (2007).
- Chakir, A., Romane, R, Maracazzan, G.L., Ferrazi, P. (2011). Physicochemical properties of some honey produced from different plants of Morocco. *Arabian journal of chemistry*.
- Chauvin R (1968) : Actions physiologiques et thérapeutiques des produits de la ruche, in *Traité biologique de l'abeille*, Tome 3. Edition Masson de Cie, Paris. Pp : 116-155.
- Chauvin, R. (1987). Le miel. In « La ruche et l'homme ». Edition Calmann-Lévy : 45-47.
- Codex stan(12-1981, 1987 2001) : Codex Alimentarius commission Standards.
- Cos, P .,Arnold J.V ., Dirc, V. B. and Louis, M.,(2006)Anti-infective Potential of natural products: How to develop a stranger in vitro 'proof-of concept'. *J.Ethnopharmacol.*, 106,290-302.
- Couquet, Y., Desmolière, A. and Rigal, M.L. (2013). « Le miel, quel intérêt en cicatrisation ? » Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, p. 22-25.
- Crepeau, C. Les vertus médicinales du miel. In : *Les vertus miraculeuses du miel*. Les éditions de l'HOMME. P. 53.
- Davies, A. (1975). Amino acid analysis of honeys from eleven countries. *J. Apicultural research* .14: 29-39
- Donadieu, Y, (1982): *Pollen : thérapeutique naturelles*. 5éme Ed Maloine S.A Paris. 31p.
- Dong, R Zheng, Y., & Xu, B.(2013). Phenolic profiles and antioxydant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 762-770.
- Dr Sable. Propriétés, valeur nutritionnelle et diététique du miel, cas du miel de tournesol. *Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être*, 1997, n°57950, p. 25-32.

- Dunford, C., Cooper, RA., White, RJ and Molan, PC. (2000). The use of honey in wound management. *Nursing Standard*, 15: 63-68.
- Estevinhol, L., Prereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G. and Prereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12): 3774-3779.
- Gleiter, R.A., Horn, H. and Isengard, H.-D. (2006). Influence of type and state of cryztallization on the water activity of honey. *Food chemistry*, 96: 441-445.
- Gonnet, M. (1963) L'hydroxyméthylfurfural dans les miels. Mise au point d'une méthode de dosage. *Ann. Abeille*, 6, (1), 53-67.
- Gonnet, M. (1982). Le miel : composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture, 1982 : 1-18.
- Gout, J. Le monde du miel et des abeilles, Paris, Edition Delachaux et Niestlé.S.A. Lanssanne (Suisse), A, p.58 (1989).
- Huchet, E., Coustel, J. et Guinot, L. ; Les constituants chimiques du miel, Méthodes d'analyses chimiques, département science de l'aliment, p.5 (1996).
- Ibrahim khalil, MD., Moniruzzaman, M., Boukraa, L., Benhanifia, M., Asiful Islam, MD., Nazmul Islam, MD., Sulaiman, S.A. and Hua Gan, S., 2012 - Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Journal molecules*, 17, 11199-11215.
- Imdorf Anton, Ruoff Kaspar, Fluri Peter., (2010). Le développement des colonies chez l'abeille mellifère. Agroscope Liebefeld-posieux ALP, ALP forum n°68, p.11.
- Irlande,D. *Le miel et ses propriétés thérapeutiques*, 2010, p. 6-8.
- Jansegers E, (2007): Les produits de la ruche fiche pédagogique.
- Jonathane, W., White, Jr et Orest, N.(1978). Protein content of honey. *Journal of apicultural research*. 17(4) :234-238.
- Juszczak, L., Soca, R., Roznowski J., Fortuna, T., Nalepka, K. (2009). Physicochemical properties and quality parameters of herbhoneys. *Food Chemistry*, 113: 538-542.
- Khalil M.I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam A., Islam N., Sulaiman S.A., Gan S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17: 11199-11215.
- Khenfer A et Fettal M, (2001) : les produits de la ruche. ITELV.
- Kwakman, P. H. S., Te Velde, A. A., De Boer, L. [et al.]. How honey kills bacteria. *FASEB journal*, 2010, volume. 24, n° 7, p. 2576-2582.

- Kwakman, P. H. S., Zaat, S. A. J. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 2012, volume. 64, n° 1, p. 48-55.
- Lazarevič Kristina B., Anderič Filip, Trifkovič Jelena, Tešič Živoslav, Milojkovič-Opsenica Dušanka. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food chemistry*, Volume 132, Issue 4, p. 2060-2064.
- Lazaridou, A., Biliaderis Costas, G., Bacondritsos, N., Sabatini, A. (2004). Composition thermal and rheological behavior of selected greek honeys. *Journal of food engineering*, 64(1): 9-21.
- Lequet, L. Du nectar à un miel de qualité: Contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. Travail de diplôme réalisé en vue de l'obtention d'un grade de doctorat vétérinaire. Université de Claude-Bernard-Lyon 1, 2010, 101.
- Leven L-V, Boot W-J, Mutsaers M, Segeren P et Velthuis H, (2005): L'apiculture dans les zones apicoles.
- Lobreau-Callen D., Marmion V. and Clément M-C. (1999). Les miels. In « Techniques de l'ingénieur » : 1-20.
- Louveaux, J. (1959) La technologie du miel. *Ann. Abeille*, 2, (4), 343-354.
- Louveaux, J. (1968) Composition, propriétés et technologie du miel. In : CHAUVIN R. *Traité de biologie de l'abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 277-324.
- Louveaux, J. (1985). Les produits du rucher. In « Les abeilles et leur élevage » : 165-199.
- Luis F. Cuevas-Glory, Jorge A. Pino, Louis S. Santiago, E. Sauri-Duch (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry* 103(2007) 1032-1043.
- Mahouachi, M. Etude de faisabilité de la mise en place de signes distinctifs de la qualité et/ou d'origine pour le miel tunisien, Ministère de l'agriculture et des ressources hydrauliques Tunisie, 2008, p. 49-50.
- Marini, F., Magri, A.L., Belestrieri, F., Fabretti, F., Marini, D. (2004). Supervised pattern recognition applied to the discrimination of the floral origin of six types of Italian honey samples *Analytica Chimica Acta*, Volume 515, Issue 1, p. 117-125.
- Massaux, C. (2012). Polyphénols : des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie*, N°149.
- Mavric, E., Wittmann S., Barth G. and Henle T. (2008). Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka honeys from New Zealand, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52: 483-489.

- Mazari, K., Bendinerad, N., Benkhechi, Ch et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens* . *Medicinal Plants Research*. 4(10) : 959-964.
- Meda, A., Lamien, C. E., Marco, R. [et al.]. Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 2005, volume. 91, n°3, p. 571-577.
- Mescle, J.F. and Zucca, J. (1996). Les facteurs de développement, in: Microbiologie alimentaire; Tome1 (Bourgois. C. M, Mescle. J. F et Zucca. J, editors) édition: Lavoisier, Technique et Documentation, Londres Paris New York. Chapitre 1.4-33.
- Nada V., Sarkar B.C., Sharma H.K and Bawa A.S. (2003). Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plant in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 613-619.
- Nair, Samira. *Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens*. 2014. Travail de diplôme réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en biologie, biochimie, université d'Oran, 2014, p.157-158.
- Naithani, V., Nair, S. and Kakkar, P. (2006). Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181.
- Nazarian, H., Taghavizad, R. and Majd, A. (2010). Origin of honey proteins and method for its quality control. *Pakistan Journal of Botany*, 42(5): 3221-3228.
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweizer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honey. *Food Control*, 18: 52-58.
- Ouchemoukh, S. (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, P. 162.
- Rigal, M-L. Miel et gelée royale : Utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie. 2012. Travail de diplôme réalisé en vue de l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Limoge faculté de pharmacie, 2012, p.49-51.
- Rossant, A., Desmouliere, A. (dir.). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. 132 p. Thèse de doctorat : Pharmacie. Limoges: Université de Limoges: 2011.

- Rozaini, M. Z., Zuki, A. B. Z., Noordin, M., Norimah, Y. and Nazrul-Hakim, A. (2004). The effects of different types of honey on tensile strength evaluation of burn wound tissue healing. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 2(4): 290-296.
- Saba, Z. H., Yusoff, K.M., Mkpol, S., M.A.Y. (2011). Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Journal molecules*, 16: 6378-6395.
- Sagripanli, L., Routson, B., Bonilacion, C. Mechanism of copper mediated inactivation of herpes simplex virus. *Antimicrobial Agent Chemother*, 1997,41(4): 812-7.
- Salwa, H.A.and Maher, A.A.M. (2014). Antibacterial Potential and Physicochemical Properties. *Global Advanced Research Journals*, 3 (3): 049-058.
- Šaric, G., Markovic, K., Major, N., Krpan, M., Ursulin-Trstenjak, N., Hruskar, M. and Vahcic, N., 2012 - Changes of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Acacia and Multifloral Honey During Storage. Original scientific paper, FTB-ms 2946.
- Shin, H.S & Ustunol, Z. (2005). Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro comparison. *Food Research International*, 38: 721-728.
- Siess, M. H., Le Bon, A. M., Canivenc-Lavier, M. C., Amiot, M. J., Sabatier, S., Auber, S. Y. and Suschetet, M. (1996). Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes and Benzo pyrene-DNA Binding in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (8): 2297-2301.
- Starosta Paul. *Abeille et apiculture* [en ligne]. Disponible sur :
- Straub, P, (2007) : l'abeille sentinelle écologique.
- Terrab, A, Diez, MJ., Heredia, FJ (2002). Characterisation of moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*; 79: 337-73.
- Theunissen, F., Grobler, S. and Gedalia, I. (2001). The antifungal action of three South African honeys on *Candida albicans*. *Apidologie*. 32: 371–379.
- Torre, D., Pugliese, A., Speranza, F. Role of nitric oxide in HSV1 infection: friend or foe? *Lancet Infected Diseases*, 2002, 2, 273-80.
- Vallianou, NG., Gounari, P., Skourtis, A., Panagos, J. and Kazazis, C. (2014). Honey and its Anti-Inflammatory, Anti-Bacterial and Anti-Oxidant Properties. *General Medicin*, 2: 132.

- Van Der Berg, A. J. J., Van Der Worm, E., Quarles Van Ufford, H. S., Halkes, S. B., Hoekstra, M. J. and Benkelman, C. J. (2008). An invitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory proprieties buckwheat. *Journal of Wound Care*, 17(4):172-178.
- Wahdan, H.A.L. (1998). Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection*. 29(1): 26-31.
- White, J., Kushnir, I.(1967). Composition of honey.VII.Proteins.
- Zhishen, J, Mengcheng, T, Jianming, W. (1999). The determination of flavonoidcontents in mulberry and their scavenging effects on superoxideradicals. *Food Chem.*, 64:555-559.

Sites internet

- Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 pris pour l'application de l'article L.214-1 du code de la consommation en ce qui concerne le miel [en ligne] Adresse URL : <http://www.legifrance.gouv.fr> (page consultée le 01/10/2010).
- http://www.paulstarosta.com/gallery.asp?gallery_id=2220&page=4 (consulté le 28.04.2016).

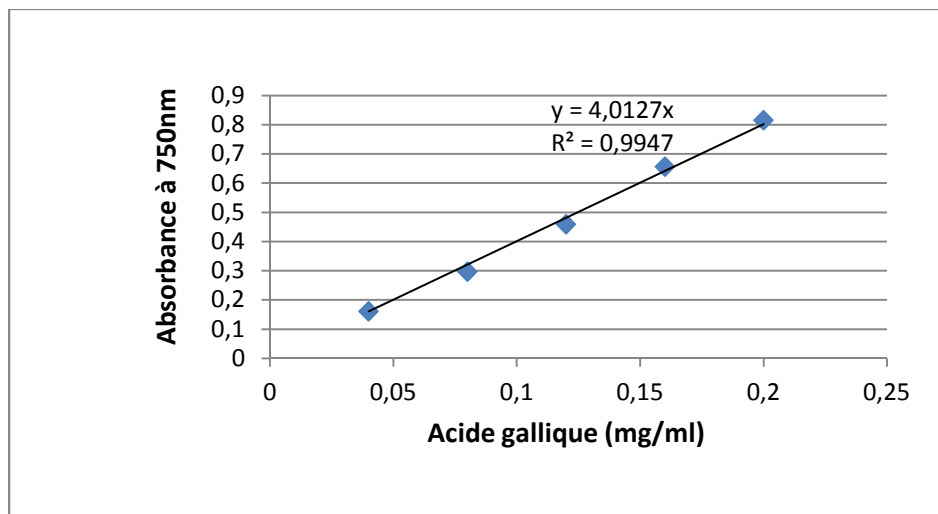
Annexes

LISTE DES ANNEXES

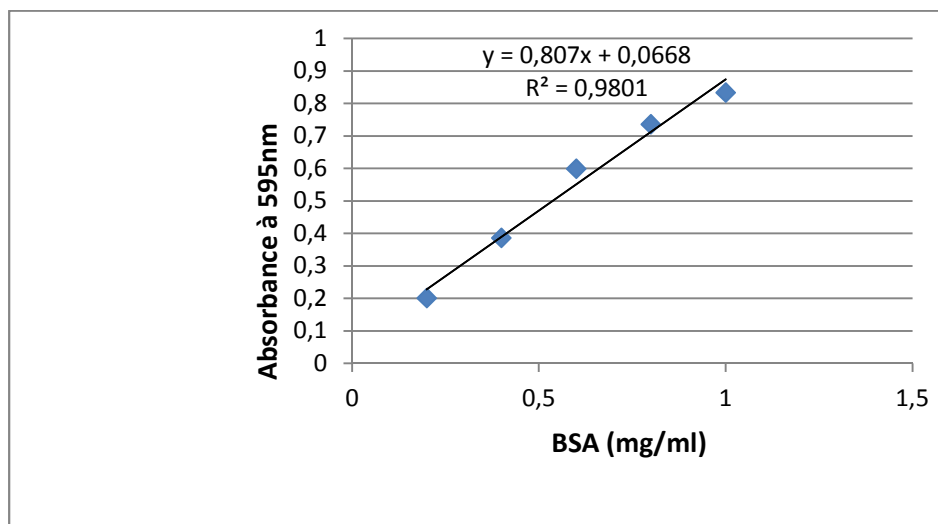
Annexe 1 : Table de CHATAWAY

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

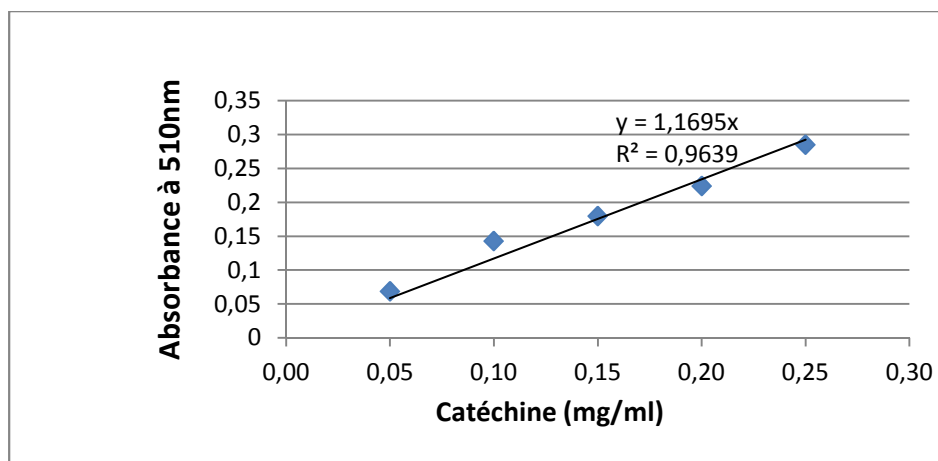
Annexe 2 : Courbes d'étalonnages



Courbe1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.



Courbe2 : Courbe d'étalonnage des protéines



Courbe3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Résumé

Le miel est la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar ou du miellat, les conditions de récolte, du conditionnement et de conservation peuvent influencer sa qualité. Ce travail a permis d'étudier certaines propriétés physicochimiques (pH, couleur, humidité, CE, HMF...) et d'évaluer l'activité antibactérienne de quelques échantillons de miels de la région de Béjaia vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* par la méthode de diffusion en gélose. Le but principal de l'étude est l'évaluation de la qualité et de l'activité antibactérienne de quelques échantillons de miels pour une éventuelle alternative en thérapeutique. Les résultats physicochimiques ont montré que nos miels sont d'origine florale et répondent aux normes internationales. Une corrélation significative a été observée entre la couleur et la teneur en composés phénoliques. Les résultats de l'activité antibactérienne obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne. Cet effet inhibiteur a été constaté pour les trois échantillons testés, avec des différences d'un échantillon à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. Le miel a eu deux effets antibactériens: un effet bactéricide et un effet bactériostatique.

Mots clés : Miel, propriétés physico-chimiques, composés phénoliques, activité antibactérienne.

Abstract

Honey is the foodstuff produced by honeybees from the nectar or honeydew, the conditions of harvesting, packaging and storage can influence its quality. This work has to study some physicochemical properties (pH, color, humidity, CE, HMF...) and to evaluate the antibacterial activity of some samples of honey in the region of Bejaia for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by the agar diffusion method. The main purpose of the study is the evaluation of the quality and the antibacterial activity of some samples of honey for a possible alternative therapeutic. The physicochemical results showed that our honeys are of floral origin and meet international standards. A significant correlation was observed between the color and phenolics content. The results of the antibacterial activity obtained show clearly the impact of natural honey on bacterial sensitivity. This inhibitory effect was found for the three samples tested, with differences from one sample to another and from one bacterial strain to another. Honey had two antibacterial effects: bactericidal and bacteriostatic.

Keywords: Honey, physicochemical properties, phenolic compounds, antibacterial activity.

ملخص

العسل هو مادة غذائية تنتجها نحل العسل من رحيق أو المن، ظروف الحصاد والتعبئة و التخزين يمكن أن تؤثر على جودته. فشل العلاج و ارتفاع متزايد لتكاليف علاج العدوى الناجمة عن البكتيريا المقاومة يدعو إلى إيجاد بدائل أخرى للرعاية، هذا العمل سمح لدراسة بعض الخصائص الفيزيائية (الرقم الهيدروجيني؛ اللون؛ الرطوبة؛ الموصلية الكهربائية؛ الدوران الضوئي...) وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية و الإشريكية القولونية بواسطة طريقة نشر أجار. والغرض الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم جودة والنشاط المضاد للبكتيريا من بعض عينات من العسل لعلاجي بديل ممكن أظهرت النتائج الفيزيائية أن العسل لدينا هي أصل الأزهار و أنها تجيب مع المعايير الدولية. ولوحظ وجود ارتباط كبير بين اللون و المحتوى الفينولي. نتائج النشاط المضاد للبكتيريا التي حصلت تظهر بوضوح تأثير العسل الطبيعي على حساسية البكتيرية. وقد لوحظ هذا التأثير المثبط على ثلاث عينات اختبار مع وجود اختلافات من عينة إلى أخرى ومن سلالة بكتيرية إلى أخرى. العسل لديه اثنين من تأثيرات مضادة للجراثيم: مبيد للجراثيم و كايح للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: العسل ، الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، المركبات الفينولية ، النشاط المضاد للبكتيريا