

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière : Science Biologique
Option : Pharmacologie moléculaire



Réf :

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

MASTER

Thème

***Caractéristiques physico-chimiques et activités
antioxydantes et antibactérienne de quelques miels de
la région de la wilaya de Bejaïa***

Présenté par :

NASRI Lynda & TADJINE Meriem

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr. BELKACEM. N
Mr. HAMMOUM. M
Melle. CHAHER. N

M.A.A
M.A.A
M.A.A

Président
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

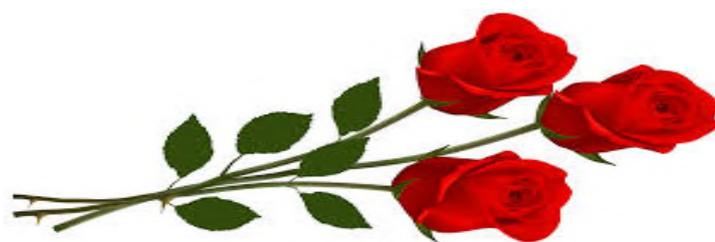
Avant tout, nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les voies du savoir, et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

Au terme de ce modeste travail nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur Mr Hamoum M. pour ces orientations, pour sa compréhension, pour sa gentillesse, et ces précieux conseils, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury, en l'occurrence Mr Belkacem eM^{elle} CHAHER d'avoir accepté d'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'ils y portent.

Nous remercions ainsi tous nos collègues en Master II pharmacologie moléculaire ainsi que Mr Ouchemoukh Salim et Mr Boukhalifa Farid et tous le personne du laboratoire, en particulier Mr Bouchenoua Farouk et Mme Messaoudene Fouzia et Melle Tabti Naima pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesses.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail à:

A ma mère et à mon père qui ont tout fait pour moi pour que je réussisse dans ma vie et mes études. Un grand merci à vous et je ne vous oublierai jamais. Que Dieu vous préserve toujours dans ce bas monde en bonne santé.

A mes très chers frères ;

A ma très chère sœur ;

A mon cher fiancé ;

A toute ma famille et ma belle famille ;

A mes très chers amis ;

A tous ceux qui me sont chers.

Lynda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie,

A, Mes parent.

Que le dieu les gardes et les protèges

A, mes sœurs aimées

SABRINA ET FOUFA

A, mon petit frère adoré

IMADE

A, ma chère grand-mère

« TITI LOUIZA ».

A, toute ma famille.

Meriem

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel

I-1-Définition.....2

I-2-Elaboration du miel.....2

I-3-Origine du miel.....4

I-4- Fabrication du miel.....5

I-5- Composition du miel.....7

Chapitre II : propriétés du miel

II-1-Propriétés physico-chimique du miel.....11

II-2- Propriétés thérapeutiques du miel..... 13

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I-1-Matériel utilisé.....18

I-1-2-Analyses physico-chimiques.....19

I-1-2-1-Humidité.....19

I-1-2-2 pH.....19

I-1-2-3-Conductivité électrique.....	19
I-1-2-4-Couleur.....	19
I-1-2-5-Pouvoir rotatoire.....	20
I-1-2-6-Détermination de l’HMF.....	20
I-1-2-7-Proline.....	20
I-1-2-8-Dosage des protéines.....	21
I-3-Antioxydants et activités antioxydantes.....	21
I-3-1-Antioxydants.....	21
I-3-2-Activités antioxydantes.....	22
I-3-3- Activités antiradicalaire.....	23
I-4-Etude du pouvoir antibactérien de miel.....	24

ChapitreII : Résultats et discussion

I-Analyses physico-chimiques	26
I-1-Humidité.....	26
I-2-pH.....	28
I-3- Couleur.....	28
I-4 Conductivité électrique.....	28
I-5- Protéines.....	30
I-6-Proline	30
I-7-HMF	30
I-8-pouvoir rotatoire	31
II-Antioxydants.....	33

II-1-Dosage des polyphénols.....	33
II-2-Dosage des flavonoïdes.....	33
II-3-Activités antioxydantes.....	35
II-3-1-Pouvoir antiradicalaire par le DPPH.....	35
II-3-2-Activité antiradicalaire par l'ABTS.....	35
II-3-3-Pouvoir réducteur.....	35
II-3-4-Réduction de molybdate.....	35
III-Activité antibactérienne.....	40
Conclusion.....	43
Références biobibliographiques	

Annexes

Liste des figures

<i>Numéro</i>	<i>Description</i>	<i>page</i>
01	Evaluation au fil du temps de la teneur en HMF dans le miel.	9
02	Différents groupes de substances d'inhibine non peroxydes	18
03	Photographie des échantillons de miels analysés	19
04	Forme oxydée et réduite de l'ABTS	24
05	Structure du DPPH	25
06	Teneur en eau des échantillons analysés	27
07	pH des échantillons de miel analysés	27
08	Couleur des échantillons de miel analysés	29
09	Conductivité électrique des échantillons de miel analysés	29
10	Teneur en protéine des échantillons de miels analysés	32
11	Teneur en proline des échantillons de miel analysés	32
12	Teneur en HMF des échantillons de miels analysés	34
13	Teneur en polyphénols totaux des échantillons de miels analysés	34
14	Teneur en flavonoides des échantillons de miel analysés	37
15	Activité antiradicalaire par le DPPH des échantillons de miels analysés	37
16	Activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miels analysés	38
17	Pouvoir réducteur des échantillons de miels analysés	38
18	Activité antiradicalaire par le phosphomolybdate des échantillons de miels analysés	39

Liste des tableaux

Numéro	Description	Page
I	Vitamines dans le miel en mg/100g	10
II	Echantillons de miels analysés	19
III	Teneur en eau des échantillons des miels analysés	26
IV	Pouvoir rotatoire des miels analysés	31
V	Effet des antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i>	40
VI	Effet de miel pur sur <i>Staphylococcus aureus</i>	41

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ABTS : 2,2-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique

AK : Amikacine

ATB : Antibiotiques

Aw: Activity water

BSA: Bovine Sérum Albumine

CE : Conductivité électrique

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CN : Gentamicine

DPPH : 2,2-diphényl -1- picrylhydrazyl

EAG: Equivalent d'acide gallique

EC : Equivalent catéchine

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HMF : HydroxyMéthylFurfural

IR : Indice de réfraction

KCal : Kilocalorie

mg : Milligramme

MS : Milisiémense

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

nm: Nanomètre

PI : Pipéracilline

TE : Tétracycline

TPZ : Pipéracilline + Tazobactère

µl : Microlitre

INTRODUCTION

Introduction

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'Homme depuis la plus haute antiquité.

Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs bien également du miellat.

Le miel est une substance hautement concentrée en sucres, dont les principaux sucres 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, etc (**Azeredo et al., 2003**). En effet, la composition du miel varie en fonction de la source florale utilisée par les abeilles, la période de la récolte et les conditions géo-climatiques des régions concernées. (**Canini et al., 2005**).

Le miel n'est pas seulement un aliment sucré mais un produit médicinal car il possède plusieurs propriétés biologiques (antimicrobiennes, antioxydants et thérapeutiques). Ses vertus curatives sont connues depuis la nuit des temps et son utilisation comme agent antimicrobien est découverte ces dernières années par la profession médicale (**Bruneau, 2002**).

Dans cette perspective, une étude sera présentée qui concernera la caractérisation de certains miels de la région de Bejaia.

Dans ce travail, nous aborderons trois parties distinctes à savoir une synthèse des connaissances actuelles sur les propriétés générales et spécifiques du miel et notamment sur son pouvoir anti oxydant et antibactérien révélé *in vitro*. Une seconde partie concernera l'expérimentation et enfin une dernière partie pour l'analyse des résultats.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
GÉNÉRALITÉ SUR
LE MIEL

Chapitre I : Généralités sur le miel

I-1- Définition

Le miel est la denrée naturelle sucrée produit par l'abeille *Api mellifera*, à partir du nectar de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. (**codex**). Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée. (**Blanc., 2010**).

I-2- Elaboration du miel

I-2-1 Abeilles mellifiques

Les abeilles sont des insectes appartenant à l'ordre des hyménoptères et il en existe plus de 20 000 espèces dont une majorité ne produit pas de miel. Celles de nos contrées existent depuis l'apparition des plantes à fleurs et se sont adaptées aux climats et aux biotopes. Elles sont caractérisées par un comportement hautement social avec, au sein d'une colonie. (**Frédéric et al., 2013**).

Chaque colonie d'abeilles, abritée dans une ruche est généralement constituée :

- ✓ D'une reine unique
- ✓ De Plusieurs centaines de males ou des faux bourdons (1000 à 2000environ).
- ✓ De plusieurs dizaines de millier d'ouvrière (de 40000 à 60000en moyenne).

(**Darrigol., 1979**).

I-2-1-1-Reine

La reine est la seule femelle fertile de la ruche, la seule à pouvoir pondre des œufs. Elle est la mère de tous les individus qui forment une colonie : les ouvrières, les faux bourdons et les futures reines. Elle peut pondre 2 000 œufs par jour. Pour naître reine, un œuf femelle doit être déposé dans une cellule royale. Les ouvrières savent ainsi que les larves de ces alvéoles doivent être nourries uniquement de gelée royale, une substance qu'elles produisent dans des glandes. C'est la gelée royale qui permet à un œuf femelle de se transformer en reine. Une reine se nourrit de gelée royale toute sa vie. Peu de temps après sa naissance, la jeune reine sort de la ruche pour son vol nuptial. Elle s'accouple avec plusieurs mâles en plein vol. Elle est fécondée pour toute sa vie. (**Darrigol, 1979; Ravazzi 2002**).

I-2-1-2-Faux-bourdons

Les mâles des abeilles sont appelés faux bourdons. Ils sont plus gros que les ouvrières mais moins grands que la reine. Ils sont incapables de se nourrir seuls : leur langue ne leur permet pas de recueillir le nectar des fleurs. Ils sont nourris par les ouvrières. Ils sont sans défense (ils n'ont pas de dard). La seule chose que l'on demande aux faux bourdons est de s'accoupler et de féconder les nouvelles reines.

Une ruche est un petit monde très organisé où chaque individu joue un rôle précis pour le bien de toute la colonie. (**Ravazzi, 2007**).

I-2-1-3-Ouvrière

La plupart des abeilles d'une ruche sont des ouvrières. Ce sont des abeilles femelles mais elles sont stériles (incapables de se reproduire). Ce sont de grandes travailleuses qui effectuent de nombreuses tâches pour la colonie. La vie d'une ouvrière est exclusivement consacrée au travail pour la survie de sa ruche. Ces abeilles vivent beaucoup moins longtemps que les reines. Leur espérance de vie est d'environ 40 jours.

Durant sa vie, une abeille domestique ouvrière change plusieurs fois de métier : Il faut 21 jours pour qu'un œuf se transforme en ouvrière. Lorsqu'elle sort de son alvéole, à sa naissance, elle commence par se nourrir de miel et de pollen. Puis, elle se met directement au boulot. Durant les 20 premiers jours de sa vie, elle ne sort pas de la ruche. Il y a suffisamment de travail à accomplir. Les trois premiers jours, elle fait le ménage à l'intérieur des alvéoles. À partir du 4^{ème} jour, elle devient nourrice et prend soin du couvain (de la ponte). Elle nourrit les larves de miel et de pollen. Elle est aussi capable de produire de la gelée royale grâce à deux glandes qui se sont développées. Vers le 10^{ème} jour de sa vie, ces glandes s'atrophient (deviennent toutes petites et incapables de servir). D'autres glandes, capables de produire de la cire, commencent à se développer dans son abdomen. Vers le 12^{ème} jour de sa vie, les glandes cirières sont prêtes à fonctionner. L'ouvrière devient bâtisseuse. Elle fabrique les nouveaux rayons de cire. C'est un travail collectif. La cire qui suinte des glandes cirières devient solide et est pétrie en forme d'écailles. Les abeilles font la chaîne pour les amener jusqu'au rayon en construction. Dès le 20^{ème} jour de sa vie, l'abeille s'envole de la ruche, elle devient butineuse. C'est le métier qu'elle exercera jusqu'à sa mort. (**Lepage, 1990; Ravazzi, 2007**).

I-3- Origine du miel

Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou du miellat recueilli sur les plantes. Donc d'après leur origine botanique le miel peut être divisé en miel de nectar de fleur et du miellat (**Sanz et al., 2005**).

I-3-1 Miel de nectar de fleur

Le nectar qui est en général la source principale de miel, est le liquide sucré sécrété par les glandes, dits nectarifères, sur de nombreuses plantes (**Marchenay et al., 2007**).

Le nectar est un mélange chimique constitué d'eau (20 à 95%), de sucre (5 à 75%) (Saccharose, fructose, glucose), d'acides aminés (0,25 à 15,5 µmol/ml), de protéines, de lipides, de flavonoïdes, de vitamines, de pigments, et d'enzymes (**chauvin, 1987 ; Meda, 2005**). Les proportions de ces sucres varient d'une plante à une autre et influent sur la qualité du miel. Ils sont classés en :

- Nectars à prédominance de saccharose
- Nectars à taux égaux de saccharose, fructose et glucose.
- Nectars à prédominance de glucose et fructose (**Schweitzer., 2005**).

I-3-1-1-Miels mono floraux

Un miel uni floral est un miel récolté par les abeilles sur une espèce végétal unique (**Nair., 2006**). Ce qui nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherché (**Frédéric., 2013**). De tels miels sont exceptionnels, car il est rare que l'abeille ne butine qu'une seul espèce mellifère.

I-3-1-2-Miels multi floraux

C'est un miel donné par plusieurs espèces végétales ou sans origine florale précise, il peut y'avoir la dominance d'un pollen accompagné par d'autres, en petites quantités au bien il peut présenter une mosaïque de pollen (**Nair, 2006**).

I-3-2 Miel de miellat

Le miel de miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout les pucerons), et qu'est butiné par les abeilles.

Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en sucres complexes comme le mélézitose ou l'érlos qui se forme dans le tube digestif des homoptères.

Il est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar et produit un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar.

La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalise essentiellement sur les arbres forestiers d'ornementation comme le Sapin, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (Clement, 2002).

I-4- Fabrication du miel

Les abeilles appartiennent à l'ordre des hyménoptères qui regroupent 2000 espèces d'abeilles. Toutes collectent du nectar et du pollen, elles assurent les meilleurs rendements, de nombreux rôles sont définis à l'intérieur de la ruche comme gardiennes, ouvrières. Chaque abeille accomplira au cours de sa vie toutes ces fonctions. (Alvarez., 2010).

I-4-1-Formation du miel

Une butineuse effectue entre 20 à 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes. Le rayon d'action moyen se situe entre 500 mètres et 2 kilomètres. Elle prélève le nectar, sécrété par des glandes dites nectarifères, ou le miellat (Huch *et al.*, 1996).

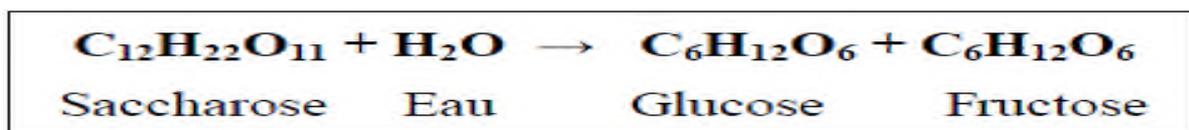
Que se soit du nectar ou du miellat, les abeilles butineuses ajoutent de la salive au nectar ou au miellat qu'elles recueillent, ce qui les rends fluide et surtout les enrichis en enzymes, catalyseurs biochimiques à l'origine de la transformation des sucres dans le miel. Elles remplissent leurs jabots puis transportent jusqu'à leurs ruches. (Bhuiyan *et al.*, 2002).

I-4-2-Transformation chimique (l'emmagasinage)

Le changement de la solution sucrée du miel commence déjà lors de voyage, au cours du quel elle est accumulée dans le jabot de l'abeille. C'est dans le tube digestif qui s'amorce la longue transformation par les enzymes qui agissent sur le nectar ou le miellat.

Le saccharose sous l'action de gluco-invertase, se transforme en glucose (dextrose) et fructose (levrulose).

L'inversion s'exprime par l'équation suivante :



Cette réaction est contrôlable par la proportion de la quantité de sucres et de la naissance d'autres sucres (Jean-prost, 2005).

La butineuse régurgite sa charge, la passe aux ouvrières, qui elles-mêmes la communique à d'autres et ainsi de suite.

La teneur en eau du liquide sucré s'abaisse jusqu'à 40 à 50% par évaporation. Il est en suite déposé dans un alvéole qui sera operculé par une couche de cire afin d'assurer sa concentration.

I-4-3-Maturation

La solution sucrée transformée, qui possède encore 50% d'eau d'environ, va subir une nouvelle concentration par évaporation sous l'influence d'abord de la chaleur régnant dans la ruche qu'est environ 36°C, ensuite par la ventilation due au travail des 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 (10 à 80%) et (14 à 25%) d'eau (**Gonnet *et al.*, 1985**).

Les abeilles injectent dans chaque cellule une gouttelette de venin. Et celui-ci est un produit conservateur. Quand tout ce travail sera terminé, la cellule pleine de miel sera fermée par un opercule de cire (**Berbad et Roger Darchen., 1985**)

I-4-4-Récolte

La récolte peut se pratiquer de la fin de la miellée quand $\frac{3}{4}$ des alvéoles des rayons de cire sont operculés (**Jean-prost et medori., 2005**).

Cette période se situe entre le mois d'avril et le mois de novembre en une ou plusieurs fois (**Donadieu, 2003**).

I-4-5-Extraction

Deux techniques sont exploitées pour extraire le miel :

I-4-5-1-Par pression : le miel obtenu n'est pas pur car il contient des particules de propolis, cire, couvain et pollen.

I-4-5-2-Par centrifugation : cette technique est basée sur l'extraction du miel par centrifugation des rayons désoperculés des hausses.

L'extraction centrifuge ne donne pas un miel pur car elle présente des particules de cires arrachées aux rayons, les fragments de propolis et les amas de pollen (**Labreau-callen et al., 1999**).

Selon Louveaux (1985), pour avoir un miel prêt à la mise en pots, il faut lui faire subir une épuration soit

- **Par décantation** : cette méthode consiste à laisser le miel reposé durant quelque jours. Elle permet d'éliminer les particules remontées en surface.
- **Par filtration** : cette méthode est efficace pour éliminer les débris et les grosses impuretés, par des filtres à mailles de 0,1mm et exige un chauffage modéré dans le cas d'un miel visqueux (**Biri, 2003**).

I-4-6-Conservation

Pour la conservation du miel pendant de nombreux mois, il faut faire attention à trois facteurs : l'humidité, la chaleur et la lumière. Si celui-ci est soumis à une température trop importante, il s'en suivra une dégradation des sucres, une perte d'arôme et augmentation de l'acidité.

En règle générale, la conservation du miel se fera à température constante, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.

Un miel cristallisé supporte mal les excès de température (plus de 25°C), qui risque de provoquer l'effondrement de sa structure cristalline. Il faudra donc le conserver dans un endroit où la température ne dépasse pas 20°C.

Un miel liquide, une température d'environ 25°C est souhaitable. Il faudra cependant le consommer rapidement dans les 6 mois.

Un miel trop humide sera conservé à 11°C pour éviter sa fermentation (**Blanc, 2010**).

I-5-Composition du miel

Le miel est un mélange biochimique complexe. Sa composition varie suivant l'origine des plantes butinées par l'abeille (**Castro-Vazquez et al., 2007**), et par le procédé de la fabrication dont cette dernière demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur la composition chimique.

Le miel contient approximativement 181 composés (**Al-mamry et al., 2002**). C'est un produit liquide naturel, hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les vitamines, les enzymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les pigments (**Nanda et al, 2003; Ozcen et al, 2006; Bertonecelj et al, 2007**), ainsi que des substances volatiles donnant au miel son arôme.

I-5-1-Composés majeurs

I-5-1-1-Teneur en eau

La teneur en eau est l'une des caractéristiques la plus importante du miel. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique et dans une certaine mesure, sa cristallisation (**Terrab et al., 2002**).

La teneur en eau varie entre 14 et 25% selon le miel. L'humidité du miel favorisant sa fermentation. Nous verrons pour qu'un miel se conserve plus de 2 ans, il ne faut pas que sa teneur en eau dépasse 18%.

I-5-1-2 Sucres

Les sucres représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. (**Gleiter et al., 2006**). Ces sucres sont présentés naturellement dans le nectar ou élaborés dans le miel à partir de sécrétions d'abeilles (**Weston et Brocklebank, 1999**).

Chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont de mono, di, tri, ou polysaccharides représentaient les 80% du poids total du miel (**Gleiter et al., 2006**). Mais ces sucres ne sont jamais tous présents simultanément. Parmi eux, il existe :

- **Les monosaccharides** 31% et 38% en moyenne pour le glucose et le fructose respectivement sont les deux principaux sucres du miel.
- **Les disaccharides** (diholoside) maltose 7,3% et le saccharose 1,3%.
- **Les tris saccharides et poly saccharides** représentent 1,8 à 8%, parmi eux, citron, l'érlose, le raffinose, métézitose, le dextrantriose et le mélibiose (**Gomez-caravaca et al, 2006 ; Rossant, 2010; Bonté, 2011; Daniele, 2012**).

I-5-2-Composés mineurs

I-5-2-1-Acides organiques

Le miel contient des quantités variables d'acides organiques (Bogdanov, 2006). La plus part de ces acides organiques proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille (0,5 à 1,7%) (**Rossant, 2011**).

C'est l'acide gluconique, dérivé du glucose, qui prédomine dans le miel. Mais une vingtaine d'acides organiques tel que l'acide acétique, benzoïque, citrique, lactique, mallique... sont également présentés.

I-5-2-2 Acides aminés et protéines

La teneur en protéines varie avec la quantité des grains de pollen dans les miels, sont généralement pauvres en protéines. Les protides du miel sont soit des acides aminés libres. Les recherches les plus récentes ont permis de mettre en évidence la présence de 16 acides aminés différents (Meda, 2005).

Parmi ces acides aminés libres on trouve l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'alanine, etc (Donadieu, 2008).

I-5-2-3 hydroxyméthylfurfural

On appelle un hydroxyméthylfurfural, ou simplement HMF, un dérivé de déshydratation des hexose qui se forme dans le miel au cours de son vieillissement, dans un miel conservé à température ordinaire (entre 15 et 20°C) (kuçuk *et al.*, 2007).

Le taux d'HMF augmente progressivement, lentement tout d'abord pour s'accélérer par la suite (Gonnet, 1999). L'élévation de la température a une action importante sur la formation de l'HMF. Deux paramètres entrent en jeu dans cette formation ; la température et la durée (Tosi *et al.*, 2004).

Selon le manuel suisse des denrées alimentaires, le miel frais, naturel, ne peut contenir que 15 mg d'HMF /kg. (Bogdanov, 2006). Ils ont constaté, en effet qu'une chaleur modérée (35 à 40°C) pendant plusieurs jours peut avoir les mêmes effets sur le miel, qu'un chauffage de quelques heures à 50°C ou de quelques minutes à 80°C (Tosi *et al.*, 2004).

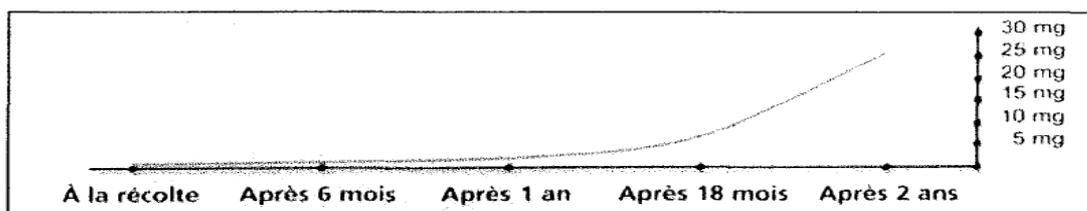


Figure 1 : Evolution au fil du temps de la teneur en HMF dans le miel.

I-5-2-4 Autres composés

✓ Enzymes

Selon Hoyet (2005), de nombreuses enzymes existent dans le miel. Elles proviennent soit de nectars, 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 beta qui permettent la dégradation de l'amidon.

Une catalase, une phosphatase, des enzymes d'acidifiant et une gluco-oxydase qui transforment le glucose en acide gluconique.

Ces enzymes sont des marqueurs spécifiques qui nous permettent de déterminer la qualité du miel.

✓ Vitamines

Le miel contient peu de vitamine. On trouve essentiellement des vitamines du groupe B. parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que la vitamine A, K et D (Clemente, 1980)

Tableau 01 : vitamines dans le miel en mg /100g (Bogdanov *et al.*, 2003).

Thiamine (B1)	0.00-0.01
Riboflavine (B2)	0.02-0,01
Pyridoxine (B6)	0.01-0.32
Niacine	0.10-0.20
Acide panthothénique	0.02-0.11
Acide ascorbique (vitamine C)	2.2-2.5
Phyloquinone (vitamine K)	0.025

✓ Polyphénols

Les composés phénoliques, sont des métabolites secondaires spécifiques du règne végétal (Kähkönen *et al.*, 1999). L'élément structural de base de ces métabolites est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyles, libres ou engagés dans d'autres fonctions chimiques (Mompon *et al.*, 1996). Plusieurs études ont démontrées les propriétés antioxydants des polyphénols. Ces molécules ont la capacité de piéger les radicaux libres et d'empêcher la génération de radicaux hydroxyles hautement réactives (Rice-Evans *et al.*, 1996). En outre, ils ont l'aptitude de chélater les métaux tels que le fer et le cuivre, entravant ainsi leur participation dans la réaction de Fenton (Kähkönen *et al.*, 1999). Ils inhibent aussi la xanthine oxydase et par conséquence, ils empêchent la formation des radicaux libres (Fang *et al.*, 2002).

CHAPITRE II :
PROPRIÉTÉS DU
MIEL

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

Chapitre II : Propriétés du miel

II-1 Propriétés physico-chimique du miel

II-1-1 Propriétés physique du miel

II-1-1-1 Poids spécifique (densité)

Le poids spécifique s'apprécie avec un densimètre. Le miel a une densité relativement élevé qui varie entre 1,40 et 1,45g /cm³. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. On peut admettre une moyenne de 1,4225 à 20°C (**Bogdanov et al, 2003 ; Descottes, 2004**).

II-1-1-2 Viscosité

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, composition chimique et d'autres constituants du miel, en particulier de la composition des différents sucres. La viscosité diminue quand la température s'élève jusqu'à 30°C (**Prost, 2005**).

II-1-1-3 Coloration

La coloration est une caractéristique physique importante, elle est en rapport avec l'origine florale et la composition. Elle est due aux matières pigmentaires diverses telles que les carotènes, les minéraux ... Le chauffage et le vieillissement provoquent une intensification de la coloration du miel (**Gonnet, 1982**).

II-1-1-4 Cristallisation

La cristallisation est une modification de l'état physique du miel (**Gonnet, 1979**). Le miel est instable sous l'effet de la température et de la présence de germes de cristallisation (poussières, cristaux de glucose, graines de pollens), la cristallisation du miel s'amorce. Le processus de cristallisation est dépendant des rapports glucose/fructose et glucose /eau. Pour le rapport glucose/fructose, le glucose est peu soluble dans l'eau, il cristallise donc rapidement, alors que le fructose reste liquide. (**Sable, 1997**).

II-1-1-5 Indice de réfraction

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 pour évaluer la teneur

en eau des miels (**Louveaux, 1985**). La plus part des miels on un indice de réfraction allant de 1,5041 à 1,4915 pour une teneur en eau de 13 à 18%. l'indice de réfraction est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse (**Labreau-collen *et al.*, 1999**).

II-1-1-6 Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de polarisation de la lumière (**Gonnet, 1982**). Ce pouvoir rotatoire 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) (**Nanda *et al.*, 2003**).

II-1-1-7 Turbidité

Lorsque les miels sont sous forme liquides, ils sont généralement très transparents.ils contiennent cependant des éléments en suspension qui leurs confèrent une certains turbidité (levures, poussières, graines de pollens, colloïdes, etc.)

La néphélométrie est une des techniques de mesure de la teneur en particules en suspension (**Louveaux, 1968**).

II-1-1-8 Fluorescence

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

II-1-2 Propriétés chimiques du miel

II-1-2-1 Hygroscopie

une pellicule dure qui empêche le reste d'eau de s'évaporer (**Emmanuelle *et al.*, 1996**). Le miel tend à absorber l'humidité de l'air et, si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable .un miel normal contenant 18% d'eau, peut atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55%, son poids a alors augmente de 84% .d'autre part, lorsqu'on veut dessécher le miel, il est nuisible de le maintenir en atmosphère rigoureusement sèche, parce qu'il se forme en surface.

II-1-2-2 Potentiel d'Hydrogène (pH)

Sa valeur varie en général entre 3,5 et 5,5 ; elle est due à la présence des acides organiques (**Bogdanov et al., 2004**).

Selon Schweitzer (2005), 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.

Cette variation du pH serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Louveaux, 1968**).

II-2- Propriétés thérapeutique du miel

Le miel a été utilisé pendant de centaines d'années comme la seule source de sucre : son originalité, sa rareté et sa désirabilité l'ont associé très tôt à des significations symbolique, thérapeutiques.

II-2-1- Effet énergétique et nutritionnel

Le miel étant composé de sucre simple, il est facilement assimilé par l'organisme. Il passe dans le sang très rapidement et la glycémie décroît ensuite lentement. Il est souvent utilisé par les sportifs pour sa valeur énergétique : 310KCal/100g. Il est cependant moins calorique que le sucre (environ 405KCal/100g), ce qui en fait un aliment apprécié des diététiciens (**Gout, 2009**).

Le miel favorise également l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme contribuant ainsi à une meilleure calcification osseuse et dentaire (**Chauvin, 1968**).

II-2-2- Effet antioxydant

Les capacités antioxydantes du miel sont énormes, la hauteur de leur nombre dans celui-ci. On retrouve comme antioxydants présents dans le miel : des oxydases du glucose, des catalases, de l'acide ascorbique, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des caroténoïdes, des acides organiques, des acides aminés et des protéines (**Beretta et al., 2005**).

L'action des antioxydants consiste à neutraliser les radicaux libres, molécules hautement réactives causant des dommages importants aux protéines, à l'ADN cellulaire et

aux membranes cellulaires (Tomczak, 2010). C'est notamment le cas des artérioscléroses engendrées par des oxydations néfastes des lipoprotéines (Arthasarahy *et al.*, 1992).

Les phénols, déjà présentés pour leurs propriétés bactéricides, protègent ces lipoprotéines des éventuels dommages oxydatifs causés par un surplus de radicaux libres (Gheldof *et al.*, 2003)

II-2-3- Effet anti inflammatoire

Les propriétés anti inflammatoire du miel viennent de ses propriétés antioxydants .dans le cas ou un stimulus inflammatoire persiste, l'activité de phagocytose provoque la libération des radicaux libres, qui stimulent la production des cytokines ce qui amplifie la réponse inflammatoire. Le miel neutralise les radicaux libres, provoque la disparition des douleurs et gonflements (Tomczak, 2010).

II-2-4- Effet cicatrisant

Comme nous l'avons vu, 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 (H₂O₂). L'eau oxygénée formée joue un rôle très important dans le processus de cicatrisation. En effet, c'est un très bon antiseptique. Au contact des tissus et du sang, elle se décompose en eau et en oxygène (H₂O₂ → H₂O + O₂) Ce qui crée une « micro-effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie. De plus, le peroxyde d'hydrogène 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 le même temps, il stimule également le développement d'une néo-vascularisation dans le tissu cicatriciel (Descottes, 2009). Le miel induit également la synthèse de collagène et active le *transforming growth factor-B1* (qui a un puissant pouvoir réparateur); à cela s'ajoute aussi des pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoires. L'application de miel sur la plaie génère, grâce à ses propriétés hygroscopiques, un milieu humide favorable à l'ensemble des processus cités ci-dessus. La quantité d'eau libre du miel étant très faible, on pourrait s'attendre à un dessèchement des tissus. Au contraire, l'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée) (Goetz, 2009). Ce milieu humide permet notamment une cicatrisation plus rapide qu'avec un pansement sec car on ne lèse pas les tissus épithéliaux nouvellement formés. De plus,

l'osmolarité du miel favorise l'exsudation et donc la diminution de l'œdème au sein de la plaie (Descottes, 2009). Enfin, le changement du pansement s'effectue sans douleur. Cependant, les pansements créant un milieu humide peuvent favoriser la croissance des bactéries et sont donc contre-indiqués dans les plaies infectées. Mais le miel au contraire crée un milieu humide dans lequel la croissance des bactéries est évitée grâce à son activité antibactérienne. Egalement, Le miel élimine 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 mais aussi par le fait que les glucides apportés par le miel sont utilisés par les bactéries à la place des acides aminés provenant du sérum ou des cellules mortes. Cela aboutit à la formation d'acide lactique à la place d'amines, d'ammoniac et de composés soufrés qui ont une odeur nauséabonde. Le maintien d'un environnement humide est également un avantage pour permettre le bon fonctionnement des enzymes protéolytiques et l'élimination des croûtes, du pu et des tissus morts.

Tous ces mécanismes agissent de façon très favorable la cicatrisation, et font du miel un pansement humide bio-actif d'une grande efficacité : nombreuses observations obtenues dans le service du Professeur Descottes, CHU Dupuytren (Assie, 2004).

II-2-5 Effet antibactérien

L'action antimicrobienne du miel est connue et exploitée depuis très longtemps et dans toutes les cultures où le miel est connu. Néanmoins le ou les principes actifs, ses caractéristiques et les mécanismes d'action restent à élucider. De nombreuses études ont été menées afin de mieux cerner le mode d'action antimicrobien, antibactérien surtout, du miel ainsi que son spectre d'activité. De nombreux mécanismes, potentiellement synergiques, impliquant des agents physico-chimiques, semblent intervenir dans cet effet (Schivre, 2006).

II-2-5-1 Agents physiques

Les caractéristiques physico-chimiques pouvant expliquer l'effet antibactérien du miel sont les suivantes :

➤ *Pression osmotique*

Le miel est une solution très concentrée en glucides, 80% en moyenne.. Sa teneur en eau est comprise entre 15 et 21% (Molan, 1992).

Une telle concentration en solutés fait du miel un milieu à basse activité de l'eau (a_w variant de 0,56 à 0,65) et donc un milieu défavorable à la croissance microbienne. En effet la plupart des espèces bactériennes nécessitent pour leur croissance une activité de l'eau variant de 0,94 à 0,99 et leur présence dans le miel ne s'accompagne d'une croissance que sur le long terme et avec l'élévation de l'humidité si le miel est mal-conservé (Molan, 1996).

➤ L'acidité

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Cette acidité, principalement due à l'acide gluconique, crée un milieu défavorable à la croissance de nombreuses bactéries, notamment des pathogènes, telles que : *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pyogenes* (Assie, 2004).

➤ La viscosité

Mis à part l'osmolarité et l'acidité du miel, sa viscosité crée un rempart contre la contamination bactérienne et limite l'oxygénation du milieu en limitant les mouvements de convection (Schivre, 2006).

II-2-5-2 Agents chimiques

Il existe dans le miel deux grands types d'inhibines : celles à activité peroxydique et inhibine non peroxydique

➤ Inhibine à activité peroxydique

Le miel contient une glucose-oxydase qui provient des glandes hypopharyngiennes des abeilles ouvrières (Weston *et al.*, 1999). Cette enzyme thermolabile, catalyse l'oxydation du glucose en peroxyde d'hydrogène et en acide gluconique selon l'équation suivante :



Le peroxyde d'hydrogène ainsi formé est essentiellement actif sur les bactéries à gram négatif en provoquant l'oxydation de leurs protéines, conduisant à leur destruction. Il est connu

également par ses capacités antiseptiques et traditionnellement utilisé dans la désinfection des plaies superficielles (Schivre, 2006).

La catalase représente l'antagoniste de la gluco-oxydase, et elle réduit l'eau oxygénée. Cette enzyme provient généralement du pollen (Weston *et al.*, 1999).

➤ *Inhibine à activité non peroxydique*

Lorsque le glucose-oxydase est bloquée ou inactivée, ou en parallèle à celle-ci, certains miels présentent encore une activité antibactérienne. Ceci serait dû à des substances exogènes particulières, provenant des plantes, principalement les lysozymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les huiles essentiels (De Bodt, 2004). L'activité de ces différentes substances est regroupée en 4 groupes : substances volatiles, substances neutres, des alcaloïdes et des acides. Les substances acides présentent l'activité la plus importante suivies d'autres substances comme le montre la figure (Bogdanov et Bulmer, 2001).

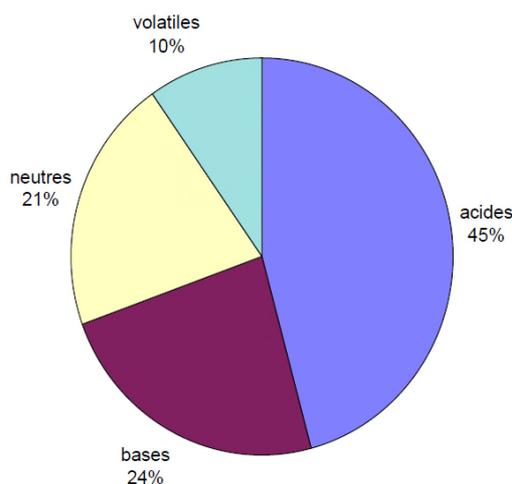


Figure 2: Différents groupes de substances d'inhibines non peroxydes (Bogdanov et Bulmer, 2001).

Matériel et méthodes

I-1-Matériel utilisé

I-1-1- Echantillons de miels.

Quatre échantillons de miel, récolté dans différentes régions de la wilaya de Bejaïa qui sont mentionnés dans le (tableau 1) et la figure 3. Montre la photographie des échantillons de miel analysés.

Tableau 2 :Echantillons de miels analysés

Echantillon	Région	Etat
M1	Oued ghir (tayma)	crystallisé
M2	Aokas (Ait Aissa)	Cristallisé
M3	Ighil iyrans (Boukhelifa)	Cristallisé
M4	Les oliviers (béjaia)	Semi-cristallisé



Figure 03: Photographie des échantillons de miel analysés.

I-1-1-2 Souche bactérienne : La souche utilisée est une bactérie pathogène

Staphylococcus aureus, il s'agit d'une souche de référence *staphylococcus aureus* ATCC 25923 délivré par l'institut Pasteur d'Algérie conservée en gélose inclinée.

I-1-1-3- Milieux et bouillons de culture :

-bouillon nutritive fabricant.

-Mueller- Hinton gélose.

-Eau physiologique préparée au laboratoire.

I-1-1-4- Les antibiotiques :

Les antibiotiques utilisés sont sous forme des disques, synthétiques à des dosages différents.

Amikacine (AK₃₀), Gentamicine (CN₁₀), Pipéracilline (PI₁₀₀), Pipéracilline+Tazobactère (TPZ₈₅), Tétracycline (TE₃₀).

I-1-2- Analyse physico-chimique

I-1-2-1-Humidité

Selon la méthode Bogdanov *et al.* (1997), la teneur en eau est déterminée par mesure optique de l'indice de réfraction.

2g de miel sont introduits dans un tube à essai puis mis au bain marie à 50 °C pour assurer la disparition des cristaux de sucre. Quelques gouttes de miel liquide sont déposées directement sur le prisme du réfractomètre Abbe préalablement étalonné avec de l'eau distillée. Après avoir lu l'indice de réfraction, le pourcentage d'eau correspondant à cet indice est donné par la table de CHATAWAY (annexe 1) à 20 °C.

I-1-2-2- Détermination du pH :

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

I-1-2-3- Conductivité électrique

La conductivité électrique est déterminée sur une solution de miel à 20% de matière sèche (Bogdanov *et al.*, 1997).

Une masse de miel est pesée telle que $M = (5 \cdot 100 / MS)$ (ou MS est la teneur en matière sèche de miel). La prise d'essai est dissoute dans 25 ml d'eau distillé de très faible conductivité électrique.

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).

I-1-2-4- Couleur

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

I-1-2-5- Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est déterminé par un polarimètre en utilisant une solution aqueuse du filtrat du miel pour cela une masse de 12 g de miel est dissoute dans de l'eau distillé, 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 distillé 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., 1999**).

I-1-2-6- Détermination de l'Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Pour la détermination de l'HMF, 5g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée, 500 µl de Carrez I (solution d'hexacyanoferrate de potassium à 15%) et 500 µl de solution de carrez II (solution d'acétate de zinc à 30%) y sont additionnés. Le mélange est ajusté à 50 ml avec l'eau distillée. Après filtration, les premiers 10 ml du filtrat sont écartés. Deux aliquote de 5 ml sont introduits dans deux tubes a essais, l'un avec 5ml d'eau distillée (aliquote d'analyse) et l'autre avec 5 ml de sodium bisulfite à 2% (aliquote de référence).

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

$$(HMF)(mg /kg)= [(A_{284}-A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times F] / W$$

A₂₈₄ : absorbance à 284 nm

A₃₃₆ : absorbance à 336

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

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

149,7 : constante

I-1-2-7- Proline

Le dosage de la proline est réalisé selon la méthode de Bogdanov (1999).

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. Un millilitre d'acide formique et 1 ml de la solution de ninhydrine (3%) sont ajoutés à chaque tube. Les tubes sont fermés, agités 15 min puis placés 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 additionnés à chaque tube.

Après 45 min, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 510 nm. La teneur en proline est calculée selon cette formule :

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

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 prise du miel en kg

80 : facteur de dilution.

I-1-2-8- Dosage des protéines

Les teneurs en protéines sont déterminées par la méthode de Bradford, cette méthode consiste à utiliser le bleu de Coomassie G 250.

0,1 ml d'une solution de miel à 50% est additionné à 5 ml du réactif de Bradford. Après 2 min, la lecture de l'absorbance est faite à 595 nm (Azeredo *et al.*, 2003). La teneur en protéines est déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage de sérum albumine bovin (SAB) (annexe II, figure 1).

I-3- Antioxydants et activités antioxydantes

I-3-1- Antioxydants

I-3-1-1- Dosage des Polyphénols

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-réduction. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, consiste de polyhétérocycles acide contenant du molybdène et du tungstène (Gervaise, 2004). La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits du miel (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

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

200 μ l de la solution de miel (10%) est additionné de 100 μ l de réactif folin ciocalteu (50%) et 2 ml (Na_2CO_3 , 2%). Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm

Les teneurs en polyphénols totaux sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annex II, figure 02). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG/100g de miel).

I-3-1-2-Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon la méthode décrite par Al et *al*(2009).

1ml de la solution de miel (0,5g/ml) est mélangé avec 0,3 ml de nitrite de sodium à 5%. Après 5min 0,3ml de chlorure d'aluminium à 10%. 5min après 2ml de soude (1M) sont ajoutés, la lecture des absorbances est faite à 510 nm.

La concentration en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100g de miel (mg EC/100g) (Annexe II, figure 03).

I-3-2- Activités antioxydantes

I-3-2-1- Pouvoir réducteur

Le pouvoir d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2). En présence d'un agent chromogène.

Le pouvoir réducteur est estimé selon la méthode décrite par Beretta et *al* (2005).

500 μ l de la solution de miel (5%) est homogénéisé avec 500 μ l de tampon phosphate (0,2 M ; pH6,6) et de 500 μ l de ferricyanure de potassium (1%). Après agitation l'ensemble est incubé à 50°C /20min, puis de trichloroacétate (TCA10%) sont ajoutés au mélange. Un mélange de 500 μ l prélevé de ce mélange est dilué dans 800 μ l d'eau distillée puis 100 μ l de chlorure ferrique (0,1%) y sont additionnés. Après 10min, l'absorbance est lue à 700nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG/100g) (Annexe II, figure 04).

I-3-2-2 Réduction du molybdate

Le test de réduction du molybdate se base sur la réduction du molybdène ($\text{MO}_{(VI)}$) en ($\text{MO}_{(V)}$) par un antioxydant, ce qui engendre la formation d'un complexe vert (phosphate / $\text{MO}_{(V)}$) (McAnalley et *al.*, 2003).

L'activité antioxydante du miel en utilisant le molybdate est réalisée selon la méthode de Nagarajin *et al* (2008).

100 µl de la solution du miel (5%) est mélangé avec 1 ml du réactif de phosphomolybdate (0,6 M d'acide sulfurique, 28 Mm de phosphate de sodium et 4 Mm de molybdate d'ammonium). Le mélange est incubé dans un bain marie à 90°C pendant 90 min et l'absorbance est lue à 659 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100g de miel) (Annexe II, figure05)

I-3-2-3 Activités antiradicalaires

➤ Par l'ABTS

La méthode utilisant le radical ABTS se base sur la capacité d'un radical cationique ABTS^{•+} (2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique) de coloration bleu-verte en se transformant en ABTS incolore, par piégeage d'un proton par l'oxydant (Figure 04). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (**Re *et al.*, 1999**).

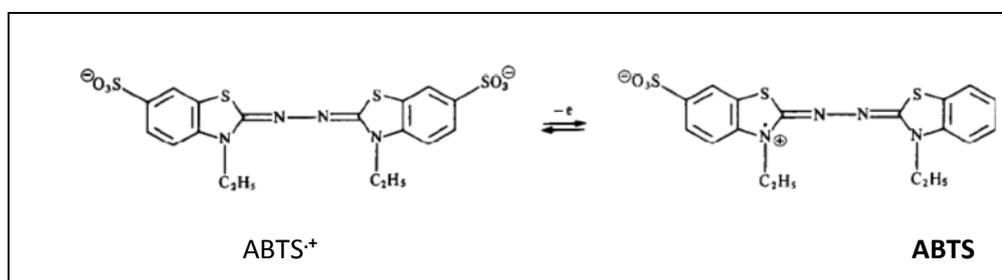


Figure 04 : Forme oxydée et réduite de l'ABTS (**Huang *et al.*, 2005**).

100 µl de la solution de miel est ajouté à 1ml de la solution éthanolique d'ABTS. L'absorbance du mélange est lue après 7 min à 734 nm. L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \frac{(\text{Absc} - \text{Abs}_E)}{\text{Absc}} \times 100$$

Absc : Absorbance de contrôle

Abs_E : Absorbance de l'échantillon

➤ **Par DPPH**

La détermination de l'activité anti radicalaire du miel est basée sur la réduction de DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) , qui est un radical stable grâce à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule empêchant ainsi sa polymérisation. (Figure 05). La délocalisation de l'électron est responsable d'un développement d'une couleur violette foncée. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH.

Suite à cette réaction, l'intensité de la couleur violette diminue et l'absorbance est lue à 517 nm (**Gülcin et al., 2003**).

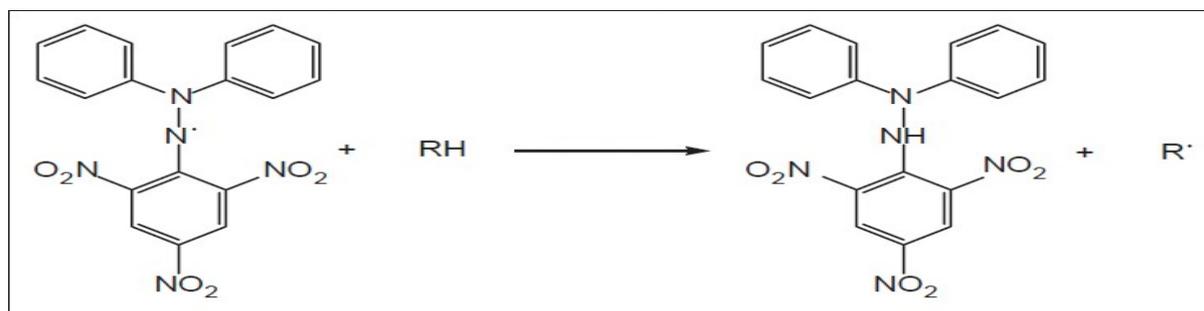


Figure 05 : Structure du DPPH (**Molyneux, 2004**)

0,5 ml de la solution de miel (25mg/ml) est mélangé avec 1 ml de solution de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15 min avant de lire l'absorbance à 517 nm. La différence d'absorbance entre la solution de DPPH en présence et en absence de l'échantillon reflète le potentiel des composés responsables de cette activité à réduire ce radical. Le pourcentage de réduction est donnée selon formule suivante (**Meda et al., 2005**)

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \frac{(\text{Abs}_t - \text{Abs}_e)}{\text{Abs}_t} \times 100$$

Abs_t : Absorbance de témoin.

Abs_e : Absorbance de l'échantillon (absorbance de la solution de DPPH en présence de l'échantillon).

I-4-Etude du pouvoir antibactérien de miel

➤ **Technique de disque :**

Le potentiel antibactérien de miel est déterminé selon la méthode standard des disques, cette méthode est couramment utilisée au laboratoire, elle permet de tester la sensibilité d'une souche bactérienne aux différents agents potentiellement antiseptique : antibiotique, huiles essentielles, miel...etc (**Manisha, shyamapad. 2011**).

➤ Préparation de l'inoculum

- ✓ Un repiquage de la souche a été réalisé par une pipette pasteur.
- ✓ A partir d'une culture de souche ATCC de 18 à 24 h sur un milieu d'isolement approprié (bouillon nutritif), 1ml de la souche a été dilué dans 9ml d'eau physiologique stérile.
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

Ensemencement

Un ensemencement à été réalisé sur surface, 1ml de l'inoculum prélevé à l'aide d'une micropipette stérile est versé sur un milieu Mueller-Hinton, après 2 à 3 min l'excès a été éliminer. Laisser sécher a température ambiante pendant 15 min.

Application des disques

Cette technique consiste à déposer deux disques de papier filtre superposer qui sont imprégnée de 20µl de chaque miels. La boite est hermétiquement fermer et placer dans l'étuve à 37°C /24h. Chaque test est répéter en trois essais.

CHAPITRE II :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

Résultats et discussion**II-1-Analyses physico chimiques****II-1-1- 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 (**Juszczak *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**).

Les résultats obtenus pour les échantillons de miels analysés (figure 06) varient de 15% (M1) pour le miel d'Oued Ghir et 22,2 % (M2) pour le miel d'Aokas, correspondant à un indice de réfraction entre 1,4810 et 1,4990 (Tableau III). L'échantillon (M2) dépasse la limite autorisée par le codex alimentaire (20%).

Les résultats obtenus sont similaires de celles de Amrouche et kessi (2003) sur les miels algériens révéler de valeurs comprises entre (15% à 22,6%), mais différentes de celles rapportées par Hafsa et Mustapha (2014) (13% et 15%) pour certains miels algériens.

Les miels dont le taux d'humidité est supérieur à 18 % présentent des risques de fermentation car les levures sont toujours présentes dans les miels, dont on trouve les miels M1 et M4 se conservent mieux car ils sont moins riches en eau.

La variation d'humidité des miels analysés peut être due à la teneur en eau des plantes butinées par les abeilles ouvrières, à l'origine florale, aux climats et aux compétences de l'apiculteur (**Ouchemoukh, 2012**).

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

	IR	Pourcentage d'humidité(%)	Normes d'IR	Norme de %
M1	1,4990	15 %	1,5041 - 1,4915	20%
M2	1,4810	22,2 %		
M3	1,4890	19 %		
M4	1,4960	16,2 %		

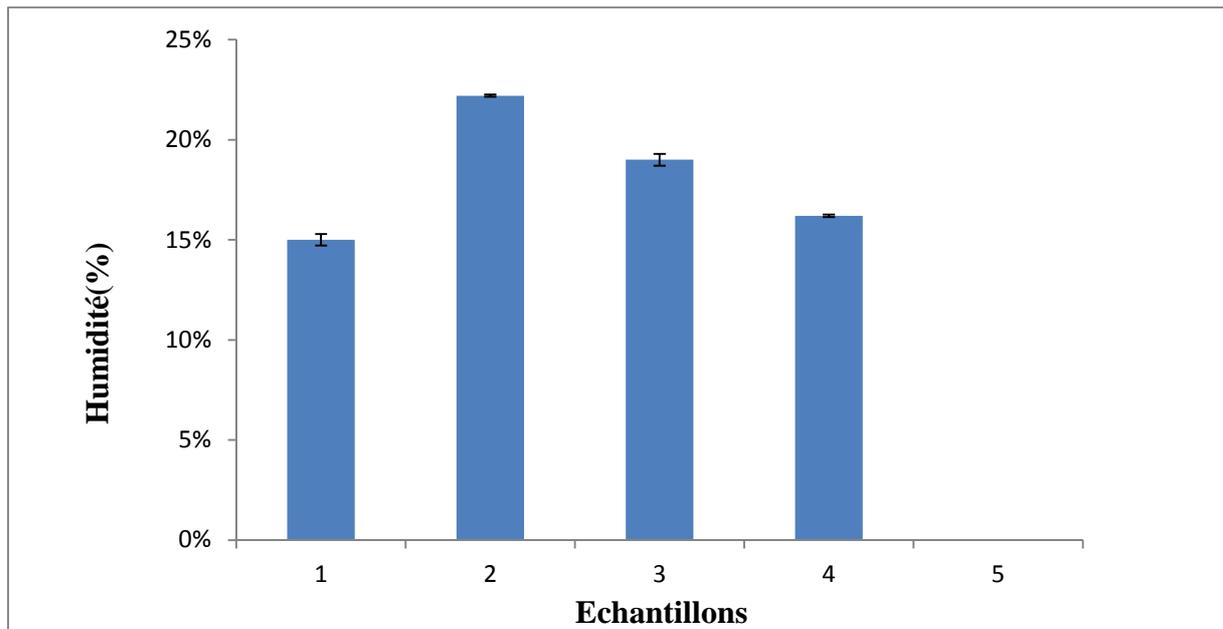


Figure 06 : Teneurs en eau des échantillons de miels analysés.

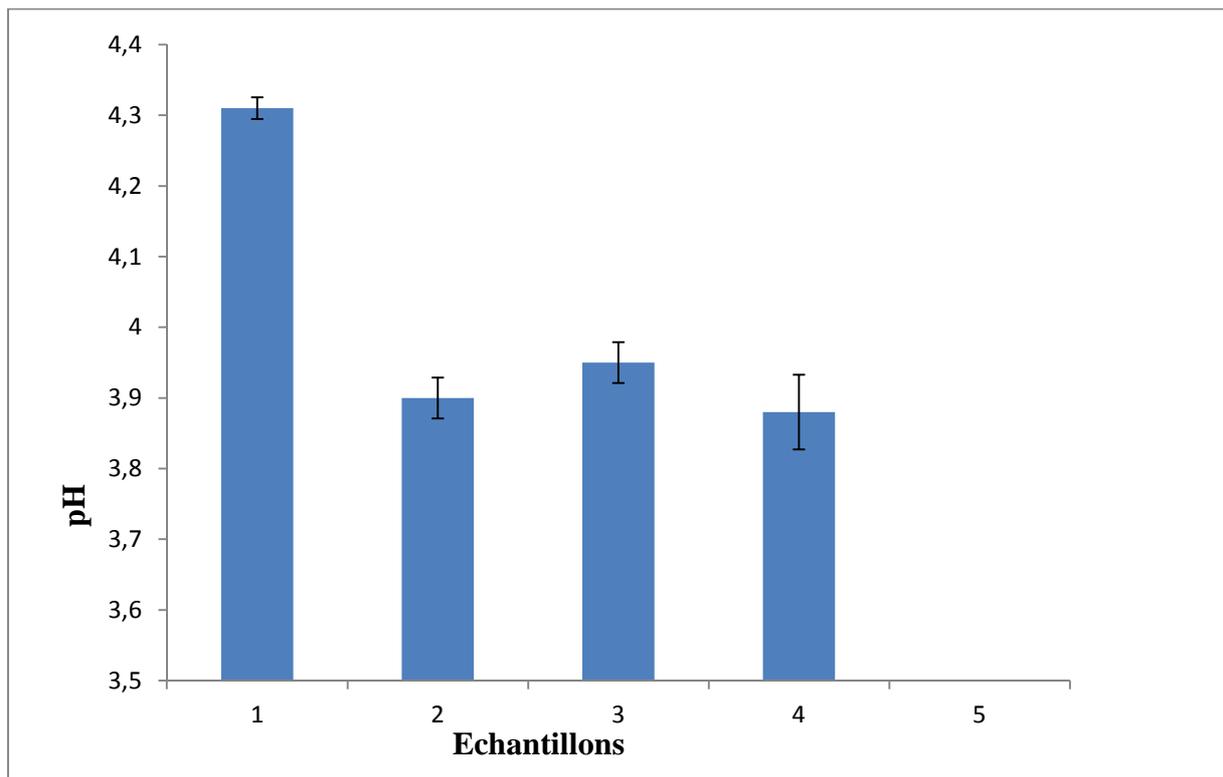


Figure 07 : pH des échantillons de miels analysés

II-1-2- pH

Tous les miels sont acides avec une valeur du pH qui se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar, par contre ceux provenant des miels de miellats sont compris entre 5 et 5,5 (**Bogdanov et al., 1999**)

Cette acidité est due à la présence des acides organiques qui contribuent à la stabilité du miel contre la détérioration microbienne. Dans le miel, l'acide organique principal est l'acide gluconique (**Bogdanov et al., 2004**).

L'examen de la figure 07, nous révèle le pH des miels pris en échantillons pour notre étude. Le pH des miels étudiés est compris entre 3,88 et 4,31. Aucun de nos échantillons étudiés ne dépassait la limite permise, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur. On conclut que nos échantillons sont tous des miels de nectar.

II-1-3- Couleur

La couleur est un critère très important pour la classification des miels dont elle reflète leurs origines (**Juszczak et al., 2009**). La couleur des échantillons analysés varie de jaune clair pour (M4) au marron clair pour (M3). Les résultats obtenus pour ce paramètre varient de 0,061 (M1) à 0,095 (M3) (figure 08).

Cette variation de la couleur est attribuée à l'origine florale, la température et durée de conservation du miel ainsi qu'à la concentration en sels minéraux. (**Gonzalez-Miret et al., 2005**).

La couleur du miel est influencée par les composés phénoliques et en particulier les flavonoïdes impliqués dans le phénomène de brunissement (**Amiot et al., 1989**).

II-1-4- Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique est un bon critère pour déterminer l'origine botanique d'un miel (**Bogdanov et al., 1999**). Elle est étroitement liée à la concentration des sels minéraux et les acides organiques (**Chakir et al., 2011**).

D'après la figure 09, les valeurs de la conductivité électrique sont comprises entre 0,560 et 0,784 mS/cm.

Les miels de nectar doivent avoir des valeurs de conductivité inférieures à 0,8mS /cm, tandis que les miels de miellats possèdent une conductivité électrique supérieure à 0,8mS/cm (**Codex Alimentarius, 2001**).

Tous les échantillons mesurés ont une conductivité au-dessous de la limite préconisée, ce qui suggère que les miels recueillis pour cette étude étaient de l'origine florale. L'échantillon (M3) est le meilleur conducteur du courant électrique (0,784mS/cm) par rapport

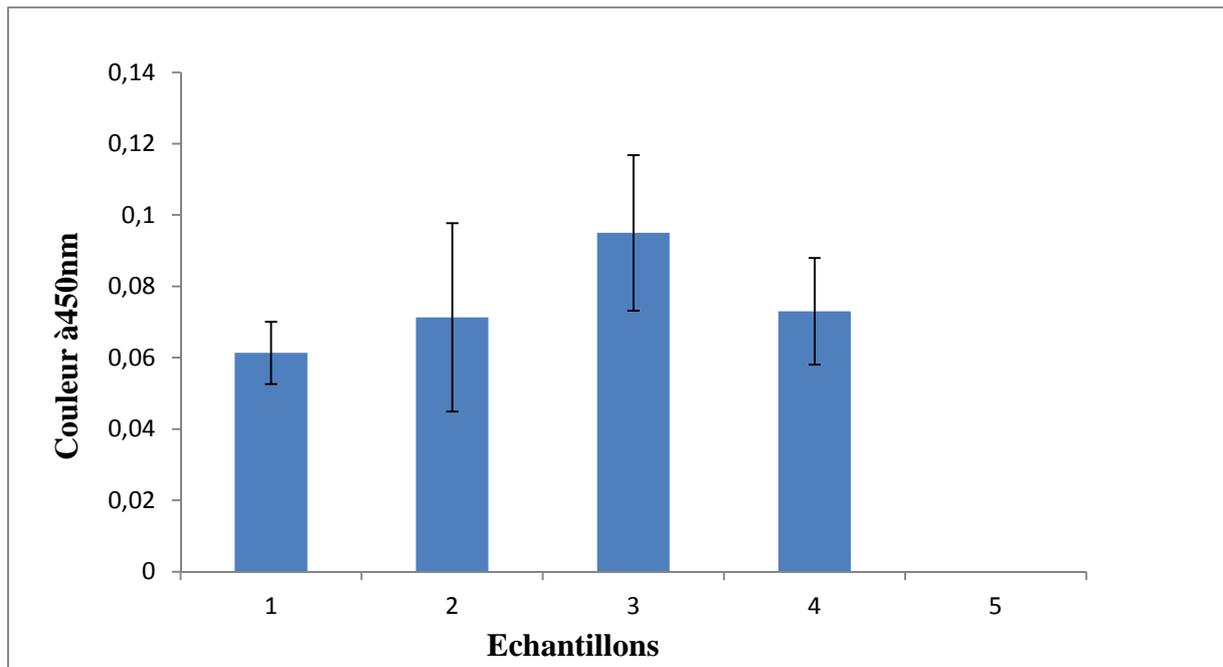


Figure 08: Couleur des échantillons de miels analysés.

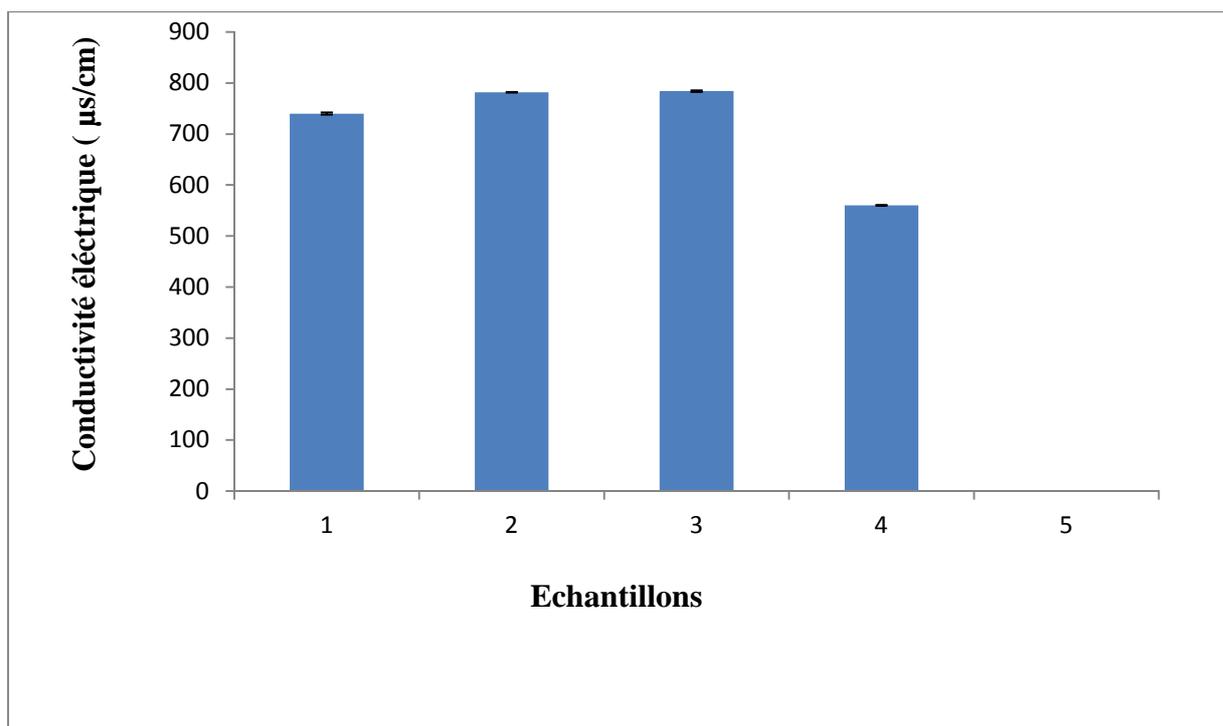


Figure 09: Conductivité électronique des échantillons de miels analysés.

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

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles. La teneur de ces derniers dans les solutions diluées est proportionnelle à la conductivité (**Amellal, 2008**).

II-1-5- Protéines

La teneur en protéines des échantillons de miel analysés varient de 12,74 mg EBSA/100g pour le miel des Oliviers (M4) à 53,88 mg EBSA/100g (miel d'IGHil iyan) (figure 10). Cet intervalle de valeurs est similaire de ceux rapportés par kishor *et al.* (2011) sur les échantillons de miel du Cuba (12-92,3 mg/100 g), et différent de ceux rapportés par Chefrour *et al.* (2007) (220-960 mg/100 g) sur les miels d'Algérie.

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

II-1-6- Proline

La proline est l'acide aminé libre majoritaire du miel et du pollen. Il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière, durant la conversion du nectar et/ou du miellat en miel, et tire son origine du pollen que l'abeille consomme. Cet acide aminé est un indicateur de maturité et de falsification du miel. En général, son taux ne doit pas être inférieur à 180 mg/kg (**González-Paramás *et al.*, 2006**).

La teneur en proline des échantillons de miel étudié varie de 193,90 à 327,39 mg/Kg de miel, (figure 11). Ces résultats sont proche de ceux rapportés par Ouchemoukh *et al.*,(2007) (202 et 680 mg/Kg) sur les miels Algériens.

Les résultats obtenus indiquent que le miel analysés sont authentique (non falsifiés) et murs.

II-1-7- HMF

La teneur en HMF est un critère de qualité utilisé pour estimer le degré du vieillissement du miel ou de traitement thermique, car les hexoses contenus dans les miels se déshydratent et se transforment en 5- hydroxymethyl -2- furfuraldehyde sous l'effet du stockage et ou de la chaleur. Son taux ne doit pas dépasser, en général, 40mg/Kg (**Ouchemoukh, 2012**).

Les teneurs en HMF des différents miels analysés varient de 2,54 à 23,25 mg/Kg. (figure 12), Ces résultats rentrent dans l'intervalle de valeurs rapportés par Amri (2006) sur les miels de l'Est d'Algérie (1,12 à 38,59 mg/Kg). Néanmoins, ils sont distincts de ceux rapportés par Ajlouni et al, (2010) sur deux miels Australiens (1,35 et 1,12 mg/Kg).

Les résultats obtenus montrent que les miels n'ont pas été stocké pendant longtemps et n'ont pas subi de chauffage se qui affirme que les miels analysés sont de bonne qualité et conformes aux normes fixées par le Codex Alimentarius, (2001).

II-1-8- Pouvoir rotatoire

L'angle de rotation étant lie aux deux sucres principaux que sont le fructose et le glucose. La somme des deux angles nous donnera un angle de rotation α dans le même sens que le sucre dominant, cette angle α est influencé par deux facteurs : la concentration et l'angle spécifique. L'angle de rotation spécifique du fructose $\alpha_{0\text{fruc}}$ est de $(-92,2^\circ)$ (lévogyre) et $\alpha_{0\text{glu}}$ est de $(+52,7)$ (Dextrogyre).

Ainsi l'angle de rotation nous renseignera sur le rapport fructose /glucose qui sera d'autant plus important que la concentration de fructose est plus grande que celle du glucose et inversement plus l'angle est petit, plus les concentrations entre fructose et glucose se rapprochent.

En général, les miels de miellat sont dextrogyres, est ceux de nectar sont lévogyres (Ouchemoukh, 2012). Tous les miels analysés sont lévogyres comme le tableau IV lui montre

Tableau IV : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons	M1	M2	M3	M5
Pouvoir rotatoire	- 0,6°	- 5°	- 2°	- 1,6°

Le miel M2 est plus lévogyre par rapport a d'autre miels analysés le pouvoir rotatoire de M2 est similaire a celui rapporter par Ouchemoukh. (2012) pour le miel de Tazmalt et M1 est moins lévogyre on le compare a les échantillons de miels analysés, il est similaire a celui trouvé par Ouchemoukh. (2012) pour le miel de Tizi-Ouzou

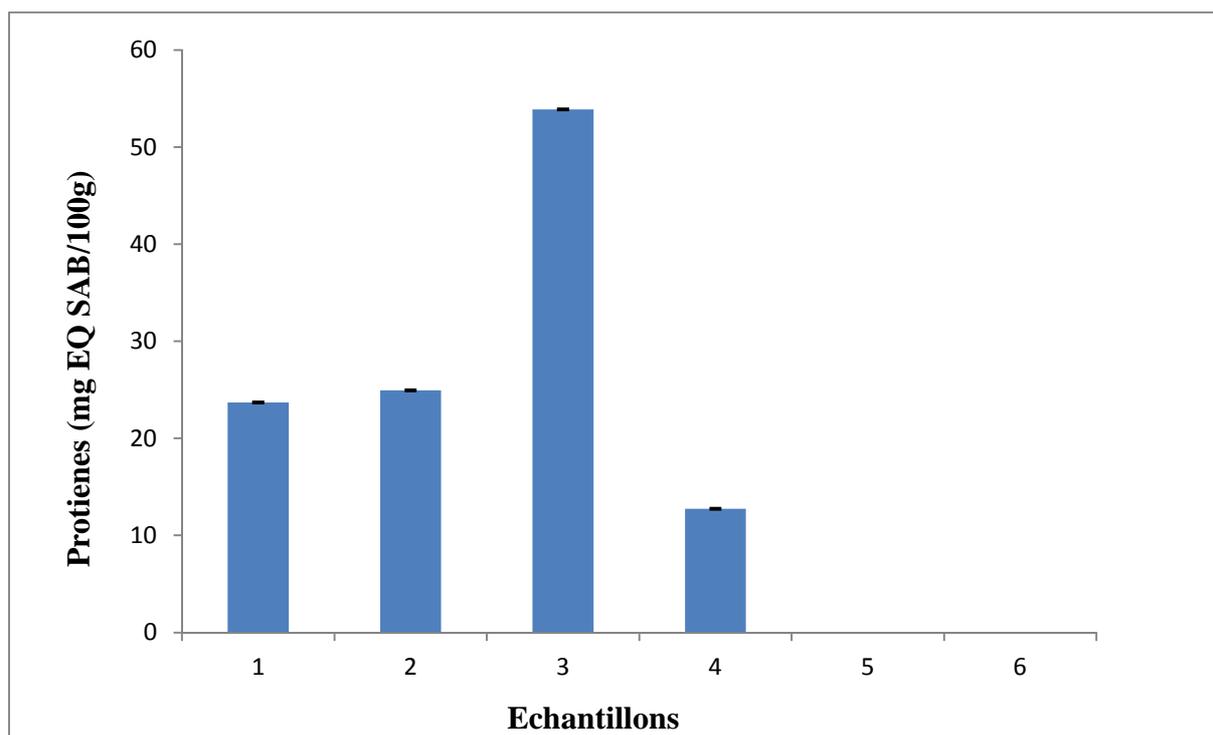


Figure 10: Teneurs en protéine des miels analysés.

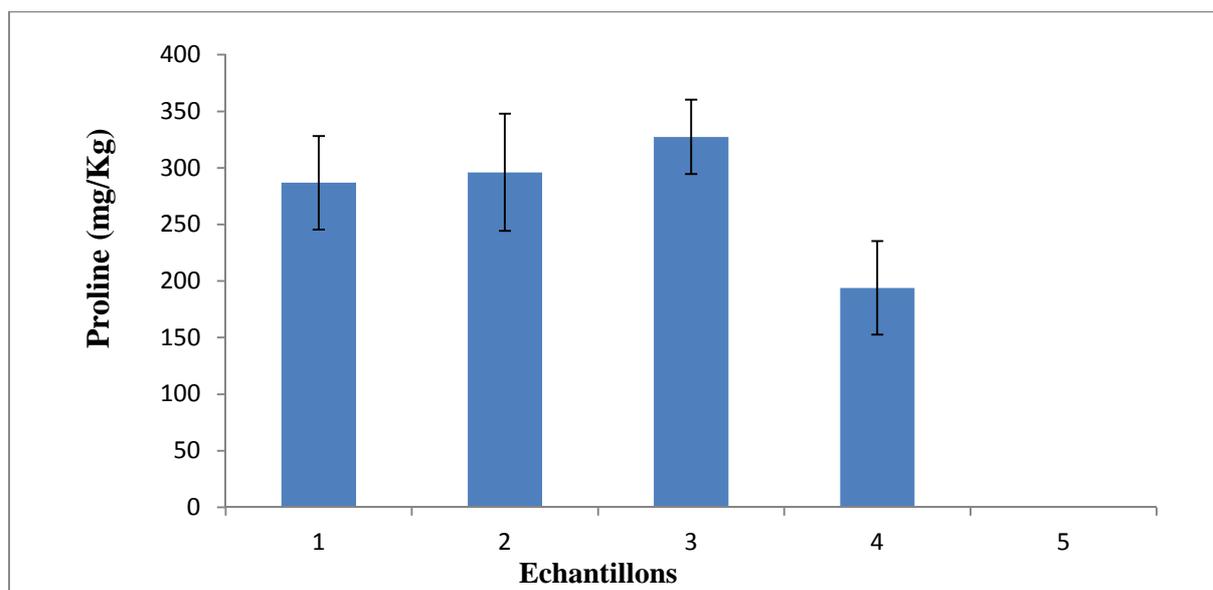


Figure 11 : Teneurs en proline des échantillons de miels analysés.

II-2- Dosage des Antioxydants

II-2-1 Polyphénols

La teneur en polyphénols est estimée par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Ce dosage colorimétrique reste une méthode de routine pour la détermination de la concentration des polyphénols (**Ouchemoukh, 2012; Silva et al., 2013**). Les teneurs en polyphénols enregistrées varient de 321,7 (M4) à 564,8 mg EAG/100g (M3) (figure13). Les résultats obtenus rentrent dans l'intervalle de valeurs rapportés par Ouchemoukh et al. (2007)(64-1304 mg EAG/100g) pour des miels Algériens. Ils sont supérieurs à ceux obtenus par Silici et al.(2010) sur les miels de Turquie (0,24 à 141,83 mg EAG/100g).

Généralement, le contenu des miels clair en composés phénoliques est inférieur à celui des miels foncés (**Jasicka-Misiak et al.,2012**), ce qui est confirmé par la présente étude car l'échantillon du miel M4 a une faible teneur en polyphénols totaux et une couleur jaune clair, néanmoins, la couleur de miel M3 est marron est riche en composés phénoliques.

Ces variations en composés phénoliques s'expliquent par l'origine botanique et ou géographiques d'un miel (**Ouchemoukh, 2012**).

II-2-2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont reconnus par leurs hautes activités pharmacologiques comme piègeurs de radicaux. L'intérêt récent pour ces substances a été stimulé par les avantages potentiels pour la santé découlant de leurs activités antioxydants et antiradicalaires contre les maladies (**Saba et al., 2011**).

Le taux de flavonoïdes des différents miels analysés est compris entre 0,73(M4) à 8,93 (M3) mg EC100 g figure 14. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Habib et al. (2014) sur des miels orientaux (12,76 à 109,49 mg EC/100g).Ils sont proche à ceux rapportés par Ouchemoukh (2012) sur des miels Algériens 0,30 à 35,61 mg EC/100 g).

Le miel d'IGHil iyrān à une activité antioxydant importante cela est due à sa teneur élevé en composés phénoliques.

Les origines botaniques et géographiques et les conditions climatiques influencent sur la teneur en flavonoïdes. Le taux en flavonoïdes est beaucoup plus élevé dans les miels de climats secs (**Lachman et al., 2010**).

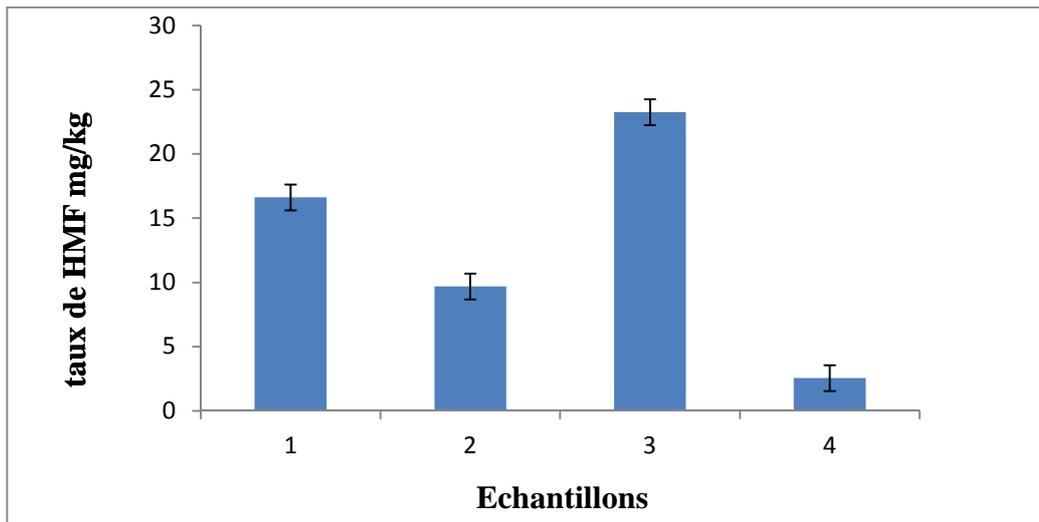


Figure 12: Teneurs en HMF des échantillons de miels

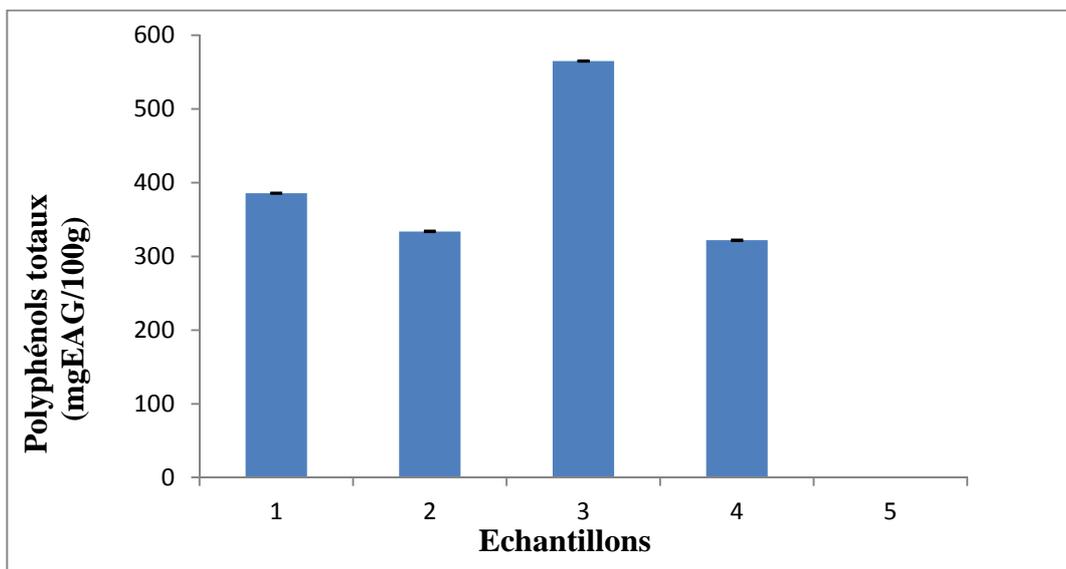


Figure13: Teneurs en polyphénols des échantillons de miels analysés

II-3-Activités antioxydantes

II-3-1- Pouvoir antiradicalaire par DPPH

Le radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydant des molécules biologiques. L'activité anti radicalaire des échantillons de miels analysés varie de 1,40 % pour le miel (M2) à 27,54 % pour le miel (M3) figure 15. Cet intervalle de valeurs est différent de celui obtenu par Al *et al.* (2009) sur les miels de Roumanie (35,80 – 64,83 %).

Les miels analysés possèdent le pouvoir de céder des protons et/ou des électrons.

L'activité antiradicalaire diffère selon l'origine botanique du miel et dépend de sa composition chimique.

II-3-2- Activité antiradicalaire par l'ABTS

Le test ABTS évalue la capacité des substances antioxydants existents naturellement dans le miel de piéger le proton de L'ABTS^{•+}. L'activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miel analysés varie entre 66,23 (M2) à 74,14 % (M3) (figure 16). Ces résultats rentrent dans l'intervalle obtenus par Habib *et al.* (2014) sur les miels orientaux (65,25 à 80,62%). Ils sont différents à celle obtenus par Wilczynska (2014) 79%. L'échantillon du miel (M2) a une faible activité antiradicalaire comparé à ceux de IGhil iyan, ceci est probablement dû à leur composition chimiques, ou à sa teneur à d'autres composés phénoliques.

II-3-3- Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur du miel repose sur sa capacité de céder un électron en réduisant ainsi le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺). Tous les miels analysés manifestent un pouvoir réducteur, qui oscille de 11,94(M4) à 15,84 (M1) mg EAG/100 g (figure 17). Le pouvoir réducteur élevé pour le miel (M4) n'est pas dû à sa teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Cette activité élevée revient probablement à d'autres molécules non analysés tels que les acides organiques, les enzymes, et l'acide ascorbique, ce dernier présente un pouvoir réducteur élevé selon Ferreira *et al.*(2009).

II-3-4- Réduction du molybdate

La réduction du molybdate est un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité antioxydante de miel, il se base sur la réduction de molybdène (MO_(VI)) en (MO_(V)) par les antioxydant présents naturellement dans le miel, ce qui engendre la formation d'un complexe vert (phosphate /MO_(V)) (Mcanalley *et al.*, 2003). Le résultat obtenus montrent que les miels analysés ont la capacité de réduire le molybdène, cette activité antioxydante varie de 316,11 (M4) à 2542,67 (M2) mg EAG/100g. (figure,18). Cette activité élevée est

probablement due aux types d'antioxydants qui se trouvent dans le miel. Le pouvoir antioxydant est influencé par plusieurs facteurs dans la molécule antioxydant. La structure, le nombre de groupement hydroxyles attaché au noyau phénolique et le nombre de noyaux aromatiques jouent un rôle dans l'activité (**Balasundram *et al.*, 2006**).

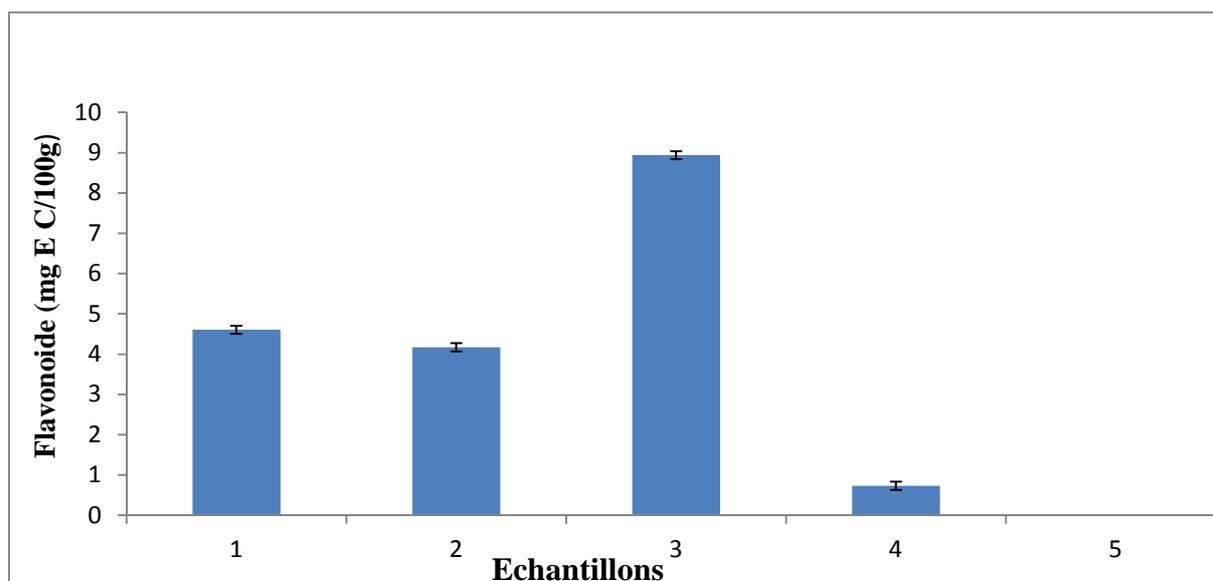


Figure 14: Teneurs en Flavonoïdes des échantillons de miels analysés.

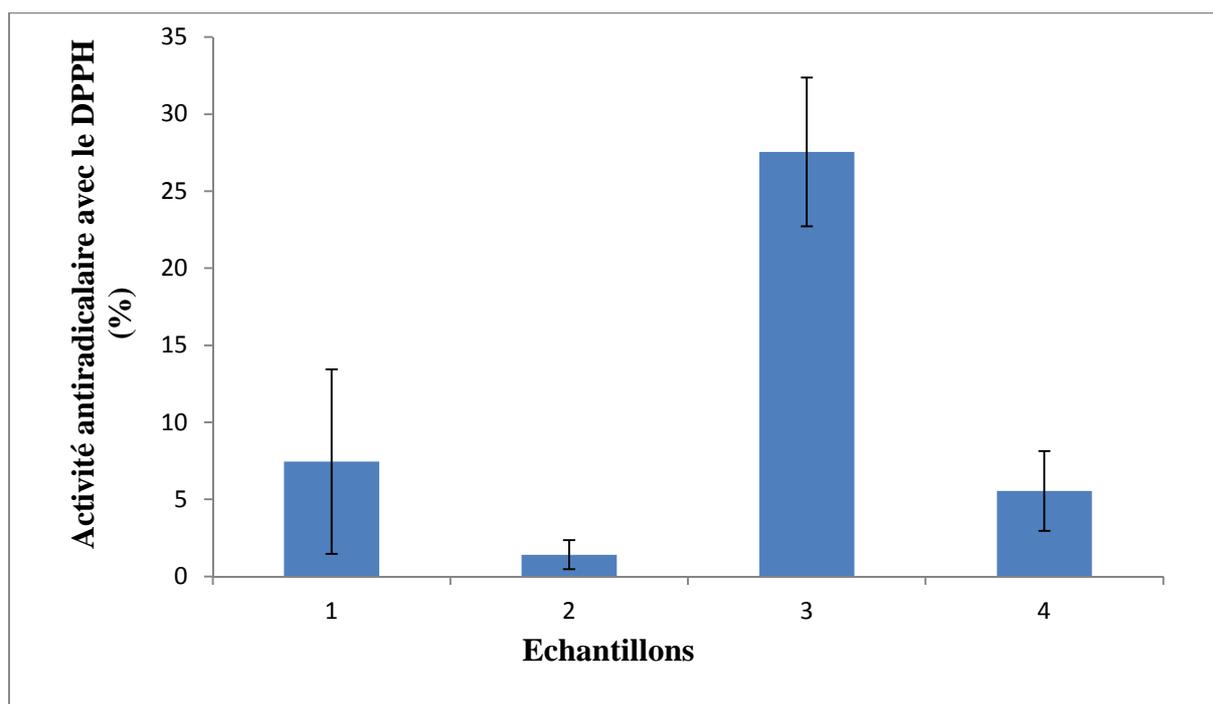


Figure 15 : Activité antiradicalaire par le DPPH des échantillons de miels analysés.

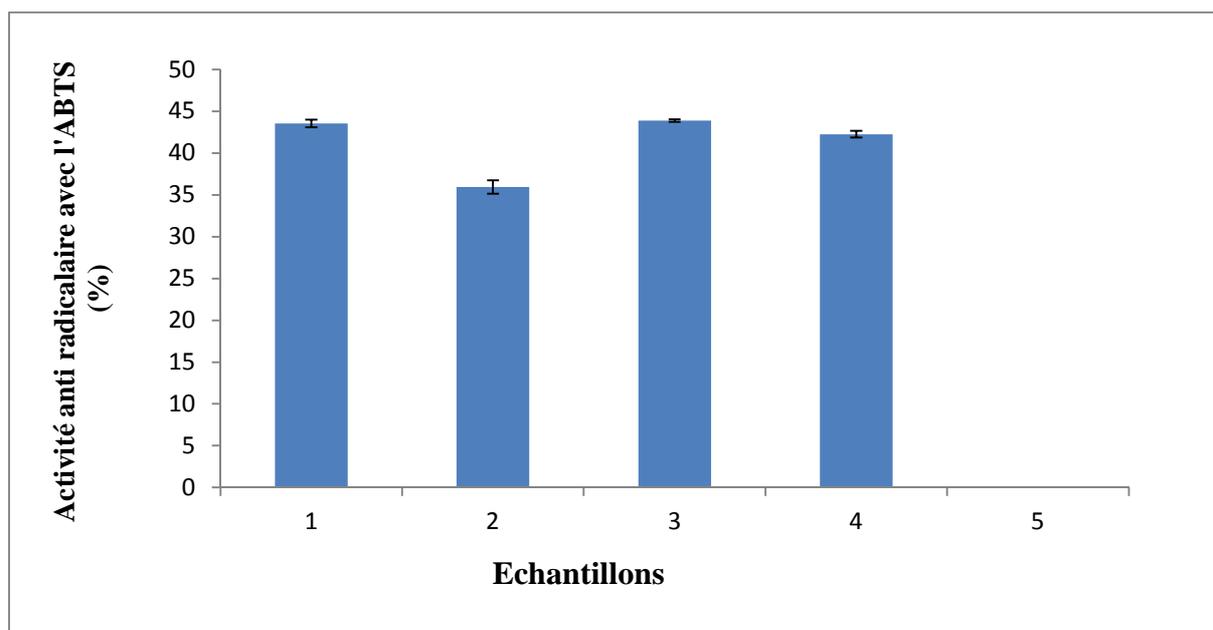


Figure 16 : Activité antiradicalaire par l'ABTS des échantillons de miels analysés.

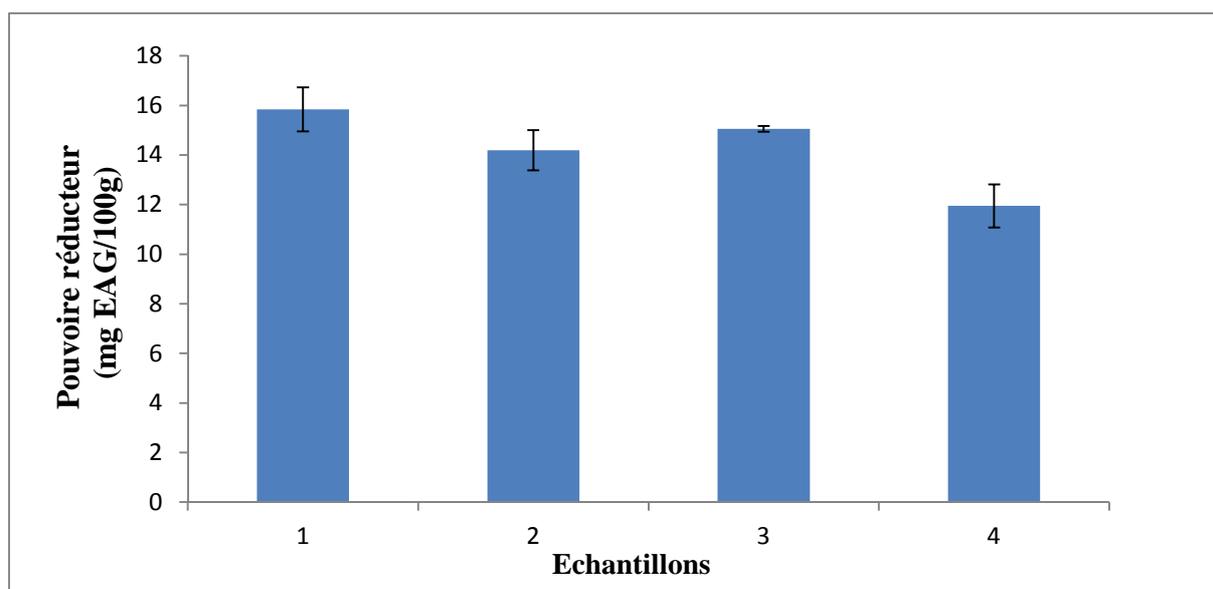


Figure 17 : Pouvoir réducteur des échantillons de miels analysés.

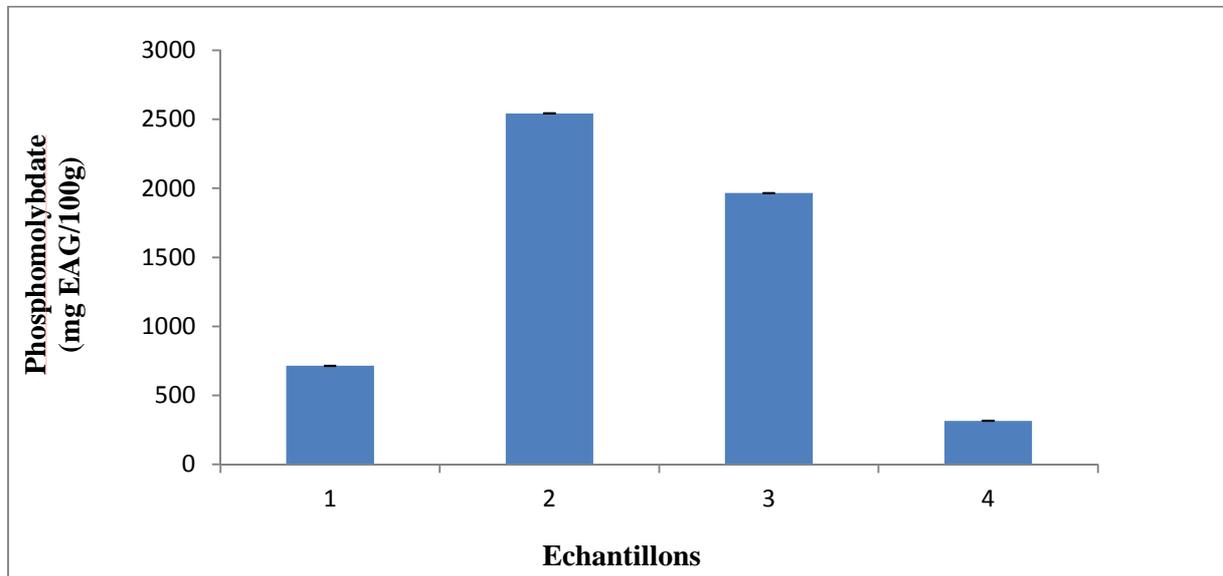


Figure 18 : Activité antiradicalaire par phosphomolybdate pour les échantillons de miels analysés.

III- Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des miels analysés est basée sur la mesure des diamètres en (mm) des halos d'inhibition de différents miels purs.

Ces mesures permettent de déterminer l'activité antimicrobienne du miel *in vitro*. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau V et VI.

Tableau V : Effet des antibiotiques sur *Staphylococcus aureus*

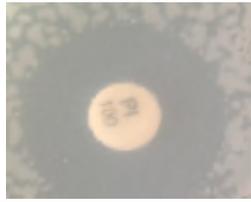
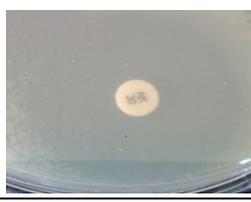
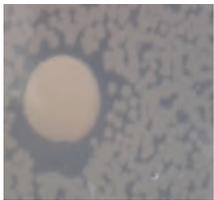
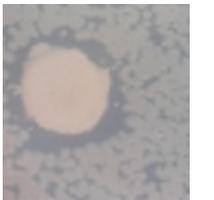
Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	
PI	19mm 	Intermédiaire
TPZ	21mm 	Sensible
AK	30mm 	Très Sensible
TE	11mm 	Peu sensible
CN	30mm 	Très sensible

Tableau VI : Effet de miel pur sur *Staphylococcus aureus*

	M1	M2	M3	M4
Souche ATCC « 25923 »	9mm 	10mm 	10mm 	8mm 

Une souche est considérée sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm. Cette sensibilité augmente en fonction de diamètre de cette zone. (Ahmed *et al.*, 2011).

D'après les tableaux V et VI on remarque que :

Le diamètre des zones d'inhibitions varie de 8-10mm, cette activité inhibitrice est négligeable pour les quatre variétés de miel.

Concernant les antibiotiques, nous avons trouvés que l'effet diffère d'un ATB à un autre. Ainsi on a observé que *S. aureus* a été inhibé par l'ATB Gentamicine et Amikacine avec un diamètre de 30 mm. Par contre elle s'est montrée une faible sensibilité à Tétracycline

L'activité antibactérienne du miel pour *S. aureus* est nulle comparée à celle des ATB.

Les résultats obtenus sont différents à celle rapportée par Ahmed moussa *et al* (2011), ces valeurs varient de (38 mm à 46 mm) mais la méthode appliquée avec cylindre d'agar dans cette étude est différente.

La souche *Staphylococcus aureus* est peu sensible à l'effet de miels analysés et cela est dû probablement à des facteurs qui influencent sur la composition et la nature du miel tels que :

- La nature des sols
- La race des abeilles
- Etat physiologique de l'abeille (Voidarou *et al.*, 2010).
- L'origine florale de l'alimentation (Biri, 1999).
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et la production de miel (Fidaleo *et al.*, 2010).
- Le mode d'extraction de miel (Lee *et al.*, 2008).

- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leurs efficacités. (**Chauhan et al., 2010**).

CONCLUSION
GÉNÉRALE
ET
PERSPECTIVES

Conclusion

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, ayant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

La présente étude a permis d'évaluer les critères de qualité de quatre échantillons de miel récolté dans différentes régions de la wilaya de Bejaïa. En se basant sur l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques, ainsi que certaines activités antioxydants et activité antimicrobienne.

Les résultats physico-chimiques obtenus des miels analysés sont variables :

L'humidité des échantillons du miel varient de 15 % à 22,20 %, les miels M1, M3, M4 présentent des teneurs en eau conforme à la limite maximale préconisée par la commission Européenne (20%) à l'exception de miel M2. Le pH est acide, il oscille entre 3,88 et 4,31. La conductivité électrique est comprise entre 0,560 et 0,784 mS/cm. Les teneurs en protéines et en proline oscillent de 12,74 mg EBSA/100g à 53,88 mg EBSA/100g et 193,90 à 327,39 mg/Kg respectivement. La couleur des miels analysés enregistrent des valeurs allant 0,061 à 0,095. Le pouvoir rotatoire a permis de déduire que les miels analysés sont lévogyres, le miel M2 est plus lévogyre donc le rapport fructose /glucose est plus important que celui de M1. Les paramètres physico-chimiques sont influencés par nombreux facteurs : nature des végétaux butinés par les abeilles, la force des colonies d'abeilles, la zone géographique, le climat et les compétences de l'apiculture.

Les résultats concernant les antioxydants présentent une grande variation entre les échantillons des miels analysés. La teneur en polyphénols totaux est comprise entre 321,7 à 564,8 mg EAG/100g. Le miel M3, le plus riche en ces substances, présentes également une couleur foncée. Le taux en flavonoïdes oscille de 0,73 à 8,93mg EQ/100 g.

Le miel M1 présente le taux le plus faible en antioxydant (polyphénols, flavonoïdes) et la couleur la plus clair.

Tous les miels analysés exercent des activités antioxydants. L'activité anti radicalaire par le DPPH, la réduction de phosphomolybdate et de l'ABTS varient de 1,40 % à 27,54 %, 316,11 à 2542,67 mg EAG/100g, 66,23 à 74,14 % avec le pouvoir réducteur de 11,94 à 15,84 mg EAG/100 g, respectivement.

Les échantillons de miels analysés présentent une certaine activité antimicrobienne bien que relative, on observe en effet 10 mm pour M2 et M3 et 8 mm à 9 mm pour le M4 et M1. D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, on peut constater que la

souche bactérienne testée est peu sensible à l'action inhibitrice des échantillons des miels analysés, ce qui se traduit par un spectre d'action antibactérienne relativement petit.

Donc on peut déduire que l'activité antibactérienne des miels analysés est de qualité thérapeutique peu importante.

Il est évident que les résultats de cette étude ne sont qu'une ébauche et méritent d'être complétés et approfondis :

- D'étudier d'autres paramètres physico-chimiques et d'identifier les différents antioxydants par des techniques plus performantes (HPLC, RMN, et CG-MS)
- Rechercher de contaminants chimiques (antibiotiques, métaux lourds, ...).
- De faire des tests *in vivo* afin d'étudier les différentes propriétés thérapeutiques (antibactérienne, cicatrisante, anti inflammatoire,.....) des miels Algériens.

***RÉFÉRANCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

A

- Ahmed, J., Prabhu, S., TRaghavan, G. S. V., Ngadim, M. (2007). Physicochemical, rheological, calorimetric and dielectric behavior of selected Indian honey. *Journal of food engineering*, 79 (2): 1207-1213.
- Ahmed, M., Djebli, D., Hammoudi, SM., Meslem, A., Aissat, S. (2012). Antibacterial activity of various honey types of Algeria against *staphylococcus aureus* and *streptococcus pyogenes*. *Asian Pacific journal of tropical Medicine*, 773-776.
- Ajlouni, S., Puripast, S. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Astralien honey. *Food chemistry*, 119 (3,1) : 1000-1005.
- Al, L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. and Bogdanov S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food chemistry*, 112, 863-867.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., Al-Habori, M. (2002). Antioxydant activities and total phénolics of different types of honeys. *Nutrition Research* 22, 1041-1047.
- Alvarez, L.M. (2010). Honey and their interaction with polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science, uni .Brock, 93p.
- Amellal, H. (2008). Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. *Thèse de doctorat en Technologie Alimentaire*. Université M'hamed Bouguera. Boumerdes. 127p.
- Amiot, N., Aubert, S., Gonnet, M. and Taacchini M. (1989). les composés des miels: etudes préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20 (2) : 115-125.
- Arthasarathy, S., Steinberg, D., Witztum, JL. (1992). The role of oxidized low-density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Annu Rev Med* 43: pp219–225.
- Assie, B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. *Thèse de pharmacie*, faculté de pharmacie de Toulouse III, P. 100.
- Azeredo, L. D. C., Azeredo, M. A. A., De Souza, S. R. and Dutra V. M. L. (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food chemistry*, 80, 249-254.

B

- Baltrusaitytė, V., Venskutonis, P.R., Ceksterytė, V.(2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts original research Article. *Food chemistry*, volume 101, Issue 2, pages 502-514.
- Bari and M.R. Khanan. (2002). Identification of Bee plants and analysis of honey collected from different plant sources. *Pakistan journal of biological science* 5 (11): 1199-1201, 2002.
- Bath, P. K. and Singh, N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food chemistry*, 67: 389-397.
- Bernadette, Roger D. (1985). *La vie des abeilles*. Paris F Nathan, p70.
- Berreta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. and Facino R.M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica chimica Acta*, 553, 185-191.
- Bhuiyan, M. M., Hossain, M. N., Bariand, M. R., Khanam. (2002). Identification of bee plant and analysis of honey collected from different plants sources. *Pakistan journal of biological science*, 5(11) :1199-1201.
- Biri, M. (2003). *Le grand livre des abeilles*. cours d'apiculture moderne .Ed vecchi S .10éd.
- Blanc, M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. *thèse de doctorat en pharmacie* de l'universite de limoges p:142.
- Bogdanov, S.(2006). Contaminants of bee products, *Apidologie* 38, 1-18.
- Bogdanov, S., Bieri, K., Gramaud, G., Iff, D., Knzing, A., Seiller, K., Stockli, H., Zurcher, K. (2003). *Produits Apicoles*. 23 A Miel : 1-37.
- Bogdanov, S., Bulmer, P. (2001). Propriété antibiotique naturelles du miel. *RSA* .98(3): 107-114.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallamnn, P. (2006). Honey for nutrition and health : A review .*Am. J.coll. Nutr.*, 27:677-689.
- Bogdanov, S., Lüllman, C., Martin, P., VonDerOhe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Persano-Oddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L. *et al.* (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 80(2): 61–69.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Bogdanov, S., Martine, P., Lullman, C., Borneck, R., Morlot, M., Heritier, J., Vorwol, G., Russmann, H., Persano-Oddo., *et al.* (1997). Harmonised Methodes of the european Honey commission. *Apidologie* (extra issu), 1-59.
- Bogdanov, S., Matzke, A. (2003). La propolis un antibiotique naturel. Edition VDRB 6235 Winikon ; 72 pp.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., and Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the,characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4–17.
- Bogdanov, S., Und, P., Gallmann, A., Stefan, S., Theodore, C. S. F. ME, U. (2006) APITHERAPY CONSULTING, BUCAREST, ROUMANIE. produits apicoles et santé, ALP forum , N° 41f ISSN 1661-0814 p 5.
- Brudzenski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, 52. (12) : 1228-1237(10).
- Bruneau, E. (2002). *Le miel*. In «Le Traité Rustica de l'Apiculture». Edition Rustica, 354-364.

C

- Canini, A., Desantis, L., Leonardi, D., Digiostino, P., Abbale, F., Damesse, E., Cozzani R. (2005). Qualificazione dei mielie e piante nettarifere del Camerun Occidentale. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, anno 34 n, 4.
- Castro-vazquez, L., Diaz-Maroto, M.C., pérez-coello, M.S. (2007). Aroma composition and new chemical markers of spanish citrus honeys.*Food chemistry*, volume 103, Issue 2, 2007, page 601-606.
- Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G.L., Ferrazi, P. (2011). Physicochemical properties of some honey produced from different plants in Morocco. *Arabian journal of chemistry*.
- Chauvin, R. (1968). Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In *Traité de biologie de l'abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, p 116-154.
- Chauvin, R. (1987). *Le miel*. In, la ruche et l'homme. Edition calmann levy : 45-47.
- Chauhan, A., pandey, V., chacko, K.M. Khandal, R.k . (2010). Antibacterial Activity of Raw and processed Honey. *Electronique journal of Biologie*, volum 5(3): 58-66.
- Chefrour, A., Battesti, M.J., Ait, K., Tahar, A. (2007). Melissopalynologic and physicochemical analysis of some north-east Algerian honeys. *European Journal of Scientific Research*, 18 : 389-401.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Clement, H. (2002). *Guide des miels*. Paris, Rustica, p 64
- CDEX ALIMKNATRIUS .commission du codex alimentarius. Edition fao.o.M.S.
- Cooper, R. (2007). Honey in wound care: antibacterial properties. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip.* 2(2): 51
- Cooper, R. A. (2005). The antimicrobial activity of honey, In White R, Cooper R. Molan P. Honey: a modern wound management product. *Advancis Medical* (Ed.): 24-32.
- Cushine, T.P., Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob*

D

- Darrigol, J. L. (1979).l'abeille. In «le miel pour votre santé ».Edition Dangles, 11-34.
- Descottes, B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. *Thèse de doctorat en médecine*, université Toulouse III-Paul SABATIER, Limoges. P 6 - 52.
- Donadiou, Y. (2003). Qu'est que le miel. chapitre E. Faculté de médecine de paris. p07.

E

- Emmanuelle, H., Julie, C., Laurent, G. (1996). Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole

F

- Fang, Y. Z., Yang, S. and Wu G. (2002). Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, 18,872-879.
- Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., and Estevinho, L.M. (2009). Antioxydants activity of portugues honey samples: different contribution of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114 : 1438-1443.
- Fidaleo, M., Zuorro, A., Lavecchia, R. (2010). Honey: a naturel antimicrobial agent against food borne pathogens ? Special astract. *Journal of biotechnology* 150S: S1-S 576.
- Frédéric, B., Alxis, D., (2013). Le miel,origine et composition. *actualité pharmaceutique* 531 : 18-20.

G

- Gheldof, N., Wang, XH., Engeseth, NJ. (2003). Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *Journal of Agriculture and Food chemistry*. 51: p 1500–1505.
- Gonnet et Vache. (1985). Le gout du miel. Edit,U.N.A.F , Paris, p146.
- Gonnet, M. (1974). Composition, propriétés, conservation du miel, édition, INRA, (1)3,
- Gonnet, M. (1979). Conservation du miel et principales modifications physiques, chimiques et biologiques subies par le produit pendant son stockage. *bulletin technique apicole*, 6(4) :13-20.
- Gonnet, M. (1982). Le miel, composition, propriétés, conservation, *INRA station experimental d'apiculture*, 1-18.
- Gonnet, M. (1999). Préserver la qualité des miels. Abeilles et fleurs, 598.
- Gonzalez-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernandez-Recamales, MA. *et al.* (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honey and by their botanical origin. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 53: 2574 – 2580.
- Gout, J. (2009). *Le miel*. Editions Jean-Paul Gisserot, Paris, p 64.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kirreççi, E., and Küfrevioğlu, Ö. I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83 : 371-382.

H

- Hafsa, YA., Mustapha, K. (2014). Composition des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Science* 10 (2) 127-136.
- Hermosin, I., Chicon, R. M., and Dolores Cabezudo, M. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83 : 263–268.
- Hoyet, C. (2005). Le miel : de la source à la thérapeutique. *thèse de doctorat en pharmacie*. Université de Henri Poincaré-Nancy1, p106.
- Huchet, E., Julie, C., Laurent, G. (1996). Les constituants chimiques du miel, *Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires*.

J

- Jasicka-Misiak, I. A., Poliwoda, M., Deren., P. and Kafarski. (2011). Phenolic compound and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two polish unifloral honey. *Food Chemistry*, 131 : 1149-1156.
- Jean-Prost, P. (2005). L'apiculture, connaître l'abeille. Conduire le rucher. 7ème édition Lavoisier. p682.
- Juszczak, L., Soca, R., Roznowski J., Fortuna, T., Nalepka, K. (2009). Physicochemical properties and quality parameters of herbhoney. *Food chemistry*, 113: 538-542.

k

- Kähköen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and HeinonenM. (1999). Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Khan, M.K. (2010). Polyphénols d'Agumes (flavanones): extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec le sérum albumine. *Thèse de doctorat*, Univ. Marrakech, 169 p.
- Kishore, R.K., Sukari Halim, A., Nurul Syazan, M.S., Sirajudeen, K.N.S. (2011). Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition Research*, 31 : 322-325.
- Kuçuk, M., Kolaylis, S., Karaolu, S., Ulusoy E., Baltaci C. Chemical composition of three honeys of different types of Anatolia. *Food chemistry*, 100: 526-534.

L

- Lachman, J., Orsak, M., Hejtmankova, A., Kovarova, E. (2010). Evolution of antioxidant activity and total phenolic of selected Czech Honeys. *Food Science and Technology*, 1 (43): 52-58.
- 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.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Lee, H., Churey, J.J., Worobo, R.W. (2008). Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral source of honey. *International Journal of food Microbiology*. 126: 240-244.
- Lobreau-callen, D., Marmion, V., Clement, M-C. (1999). *Les miels*. In techniques de l'ingénieur. p1-20 .
- Louveaux, J. (1968). *Composition propriété et technologie du miel*. Les produits de la ruche, in *Traité de biologie de l'abeille*. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.
- Louveaux, J. (1985). Les produits du rucher. In *les abeilles et leur élevages*. p165-199.

M

- Marchenay, P., Berard, L. (2007). *L'homme, L'abeille et le miel*. édition de Borré, Romagnant, p224.
- Marquele, F.D., Di Mambro, V.M., Georgetti, S.R., Casagrand, R., Valin, Y.M.L. and Fonseca, M.J.V. (2005). Assesment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and topical pharmaceutical formulations. *Journal of pharmaceutical and bio medical analysis*, 39: 445- 462.
- Mcanalley, S., Koepke, C.M., LE, L., Vennum, E., Mcanalley, R., Mcanalley, B. (2003). In vitro methods for testing antioxidant potential. *GlycoScience & Nutrition*, 4(42):1-9.
- Meda, A. (2005). Utilisation thérapeutique des produits de la ruche, étude phytochimique et activités biologiques des miels de Burkina Faso. *Thèse de doctorat*. Université de Ouagadougou : 186p.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. Nacoulma, O. G. (2005). Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571–577.
- Molan, P.C. (1992). The antibacterial activity of honey. variation in the potency of the antibacterial activity. *bee world*, 73(2): 59-76.
- Molan, P.C. (1996). Honey as an antimicrobial agent. *Bee products*. Ed. per Mizrah and lensky : 27-36.
- Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P. and Surbled M. (1996). Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle. In « Polyphenols 96, 18th International Conference on Polyphenols ». Edition INRA, 31-43.

N

- Nanda, V., Sarkar, B .C., Sharma, H.K . and Bawa A.S. (2003). Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honeys produced from different plants in Northern India. *Journal of Food composition and analysis* 16: 613-619.
- Nair, S. (2006). Biodiversité végétale et qualité du miel dans la région nord ouest Algérienne. Mémoire de magister d'écologie.
- Nhkili, EZ. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Thèse de doctorat*, Univ. Marrakech, 320 p.

O

- Ouchemoukh, S. (2012). Caractérisation physicochimique, profil polliniques, glucidiques et phénolique et activités antioxydantes de miels Algériens. *Thèse de doctorat*. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, p162
- Ouchemoukh, S., Louailech, H., Schwitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerien honeys. *Food Control*, 18: 52-58.
- Ozcan, M., Alan D. and Ceylan D.A. (2006). Effects of inverted saccharose on some properties of honey. *Food chemistry*, 99: 24-29.

R

- Ravazzi, G. (2007). *Abeilles et apiculture*. Paris : 18-29.
- Re, R., Pellegrini, N., Protgente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26:1231-1237.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. Ribéreau-Gayon, P. (1982). Composés phénoliques. In «Traité d'oenologie, sciences et techniques du vin ». Edition Dunod, 477- 499.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20 (7),933-956.

S

- Saba, Z. H., Yusoff, K.M., Makpol, S., Yusoff, 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.
- Sable. (1997). 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, n°57950, p. 25-32.
- Sanchez, S. J. (2006). HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistry*, 95 : 148-156.
- Sanz, M.L., Gonzalez, M., de lorenzo, C., sanz, J., Martinez-castro, I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honey dew honey. *Food chemistry* 91: 313-317.
- Schivre, E. (2006). L'abeille, ses produits de sécrétion et leur utilisation thérapeutique. *Thèse de doctorat*. université de Nancy. P73.
- Schweitzer, P. (2005). Encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France*, N°917 laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. p 03.
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, 121 : 238-243.

T

- Tomczak, C. (2010). *Utilisation du miel dans le traitement des plaies*. Revue bibliographique Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon.
- Tosi, E.A., Ré, E., lucero, H. and Bulacio L. (2004). Effect of honey high temperature short-time heating on parameters related to quality, cristallisation phenomena and fungal inhibition. *Lebensm-wiss.u. Technology.*, 37:669-678.

V

- Voidarou, C., Alexopoulos, A., Plessa, S., Karapanou, A., Mantzourani, I., Stavropoulo, E., Fotou, K., Tzora, A., Skoufas, I., Bezirtzoglou, E.(2011).Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Anaerobe* 17: 375-379.

W

- Weston, R. J., Mitchell, K. R., Allen K.L. (1999). Antibacterial phenolic components of new Zealand manuka honey. *Food chemistry*, 64: 295-301.
- Wilczynska, A., (2014). Effect of filtration on color, antioxidant activity and total phenolics of honey. *Food Science and Technology*, 57: 767-774.
- **Référence Webiographique:**
- Anonyme I: AGRICULTURE AND CONSUMER PROTECTION – Value-added products from beekeeping – *FAO Agricultural Services Bulletin*, 1996, n°124, Chap. 2, [en ligne le 02.09.10], <http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e04.htm>

ANNEXES

Annexe 1 Table de CHATAWAY (Bogdanov,1999).

Teneur en eau (g/100 g)	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (g/100 g)	Indice de réfraction à 20 °C
13.0	1.5044	19.0	1.4890
13.2	1.5038	19.2	1.4885
13.4	1.5033	19.4	1.4880
13.6	1.5028	19.6	1.4875
13.8	1.5023	19.8	1.4870
14.0	1.5018	20.0	1.4865
14.2	1.5012	20.2	1.4860
14.4	1.5007	20.4	1.4855
14.6	1.5002	20.6	1.4850
14.8	1.4997	20.8	1.4845
15.0	1.4992	21.0	1.4840
15.2	1.4987	21.2	1.4835
15.4	1.4982	21.4	1.4830
15.6	1.4976	21.6	1.4825
15.8	1.4971	21.8	1.4820
16.0	1.4966	22.0	1.4815
16.2	1.4961	22.2	1.4810
16.4	1.4956	22.4	1.4805
16.6	1.4951	22.6	1.4800
16.8	1.4946	22.8	1.4795
17.0	1.4940	23.0	1.4790
17.2	1.4935	23.2	1.4785
17.4	1.4930	23.4	1.4780
17.6	1.4925	23.6	1.4775
17.8	1.4920	23.8	1.4770
18.0	1.4915	24.0	1.4765
18.2	1.4910	24.2	1.4760
18.4	1.4905	24.4	1.4755
18.6	1.4900	24.6	1.4750
18.8	1.4895	24.8	1.4745
25.0	1.4740		

Annexe II : Courbes d'étalonnages

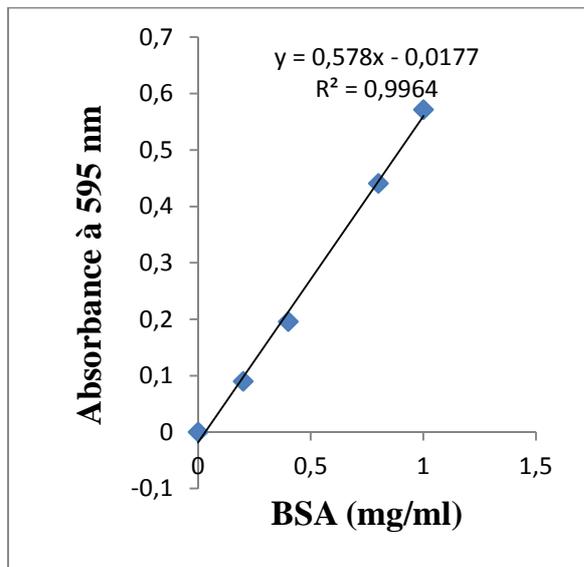


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines

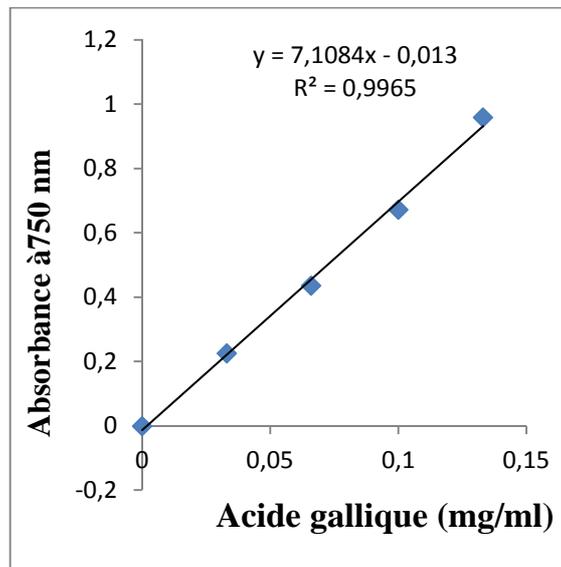


Figure2: Courbe d'étalonnage des polyphénols

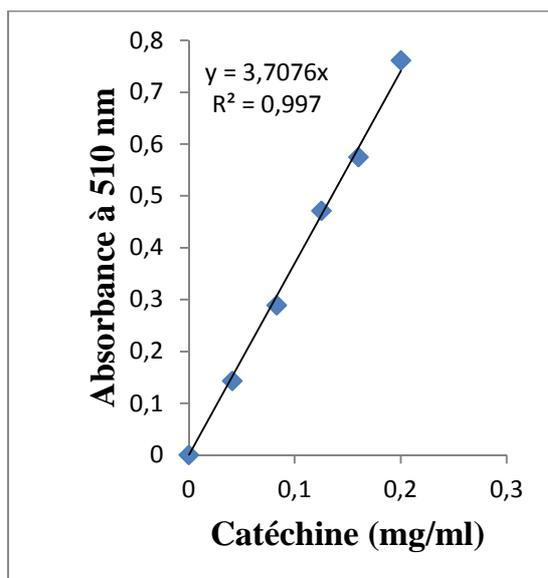


Figure3: Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes

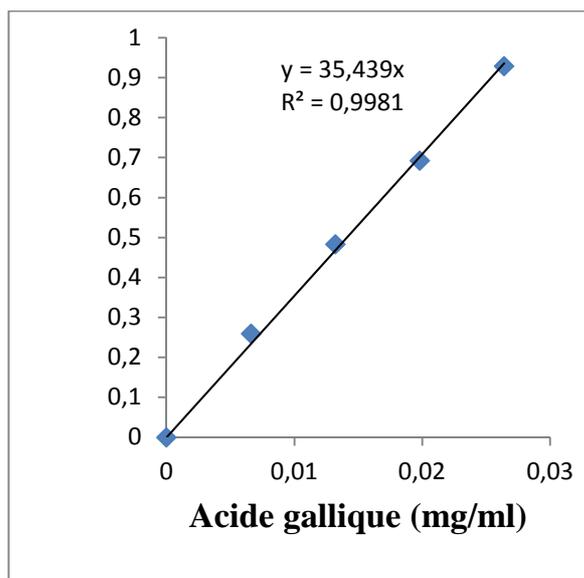


Figure 4 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

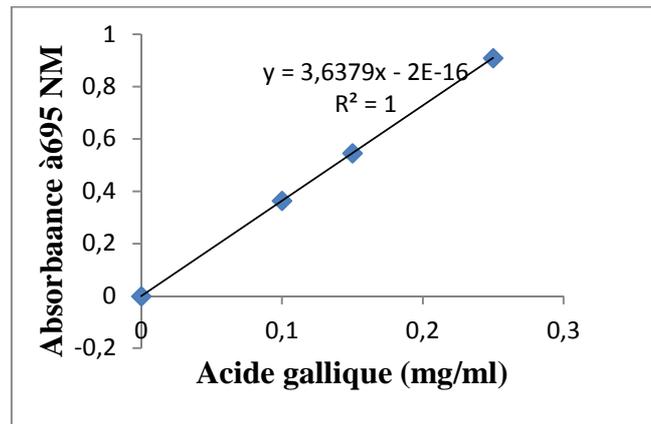


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de phosphomolybdate

Résumé

Le but de cette étude consiste à la détermination de quelques propriétés physico-chimiques (humidité, pH, conductivité électrique, teneur en proline, HMF, couleur et pouvoir rotatoire), des taux en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et des activités antioxydantes (Pouvoir réducteur, Réduction du molybdate, Activités antiradicalaires, par l'ABTS, par DPPH), et l'activité antibactérienne sur la souche *staphylococcus aureus* de 4 échantillons de miels de la région de Bejaïa. L'humidité et le pH oscillent, respectivement, de 15% à 19% et 3,88 et 4,31, exception pour le miel M2 qui a une teneur en eau de 22,2%. La teneur en proline (193,90 à 327,39 mg/Kg) indique que les miels analysés sont probablement authentiques. Le taux de polyphénols totaux et en flavonoïdes varient respectivement, de 193,90 à 327,39 mg/Kg EAG/100g et de 0,73 à 8,93 mg EQ/100 g. Les miels analysés possèdent des activités antioxydantes variables. Elles sont comprises entre 1,40% et 27,54% pour l'activité antiradicalaire avec le DPPH et de 66,23% à 74,14% pour l'ABTS. Ces variations sont dues à l'origine botanique des échantillons de miels analysés. Concernant l'activité microbienne des miels analysés présente une activité peut sensible au *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 10 mm pour le m2 et M3 et de 8 mm et 9mm pour le M4 et M1.

Mots clés : Miel, propriété physico-chimique, Activités antioxydantes, Activité microbienne.

Summary

The aim of this study was to determine some of physicochemical property (moisture, pH, electrical conductivity, proline content, HMF, color and optical rotation), rates of antioxidants (total polyphenols, flavonoids) and antioxidant activities (reducing power, reduction molybdate radical scavenging activities by ABTS, for DPPH) and the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* of 4 samples honeys from the Bejaia region. Moisture and pH swing, respectively, from 15% to 19% and 3.88 and 4.31, except for the M2 honey has a water content of 22.2%. Proline content (193.90 to 327.39 mg / kg) indicates that the analyzed honeys are probably genuine. The rate of total polyphenols and flavonoids vary respectively, of 193.90 to 327.39 mg / Kg EAG / 100g and from 0.73 to 8.93 mg EQ / 100g. The analyzed honeys have varying antioxidant activities. They are between 1.40% and 27.54% for the DPPH scavenging activity and 66.23% to 74.14% for the ABTS. These variations are due to the botanical origin of honey samples analyzed. Relate the microbial activity of the analyzed honeys shows activity can sensitive *Staphylococcus aureus* with a diameter of 10 mm for the M2 and M3 and 8 mm and 9 mm for the M1 and M4.

Keywords: Honey, physicochemical property, antioxidant activities, microbial activity.