

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



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Laboratoire de Biochimie Appliquée

THÈSE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée et Biotechnologies

Présentée par
Mr OTMANI Amar

Thème

**Paramètres physicochimiques, profils polliniques et phénoliques
et propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires
et inhibitrices d'enzymes de miels d'Algérie**

Soutenue le : 11 novembre 2021

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme KHETTAL Bachra	Professeur	Univ. de Bejaia	Présidente
Mr OUCHEMOUKH Salim	Professeur	Univ. de Bejaia	Rapporteur
Mr BACHIR BEY Mostapha	M.C.A	Univ. de Bejaia	Examineur
Mr BENCHIKH Yassine	M.C.A	Univ. de Constantine 1	Examineur
Mme Maria Eduarda ARAUJO	Professeur	Univ. de Lisbonne	Invitée

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant et le miséricordieux, qui m'a donné santé, patience et courage afin d'achever ce travail.

J'adresse ma plus grande reconnaissance à mon directeur de thèse, le Pr. OUCHEMOUKH Salim, pour m'avoir accordé sa confiance tout au long des années de préparation de cette thèse. Son aide et ses conseils avisés m'ont été précieux pour mener à bien, et dans les meilleures conditions cette étude. Je le remercie d'avoir proposé ce sujet intéressant sur le miel et d'avoir suivi ce travail dans les moindres détails, en commençant par l'élaboration d'un plan de travail à la correction de l'article et de la thèse. Je le remercie non seulement pour ses qualités scientifiques et professionnelles mais aussi pour ses grandes qualités humaines.

Je tiens également à remercier tous les membres du jury : Pr. KHETTAL Bachra de l'université de Bejaia, Dr. BACHIR BEY Mostapha de l'université de Bejaia et Dr. BENCHIKH Yassine de l'université de Constantine-1 pour avoir accepté de juger ce travail et de participer à ce jury. Vos compétences scientifiques seront d'une valeur inestimable pour enrichir ma thèse.

Je remercie vivement le Pr. Maria Eduarda ARAUJO de m'avoir donné l'opportunité de réaliser une partie de ma thèse au sein de son équipe au Centre de Chimie et Biochimie, Département de Chimie et Biochimie, Faculté des Sciences de l'Université de Lisbonne (Portugal). Le travail dans son laboratoire m'a permis d'acquérir des nouvelles connaissances en chimie analytique, d'utiliser des équipements sophistiqués, à savoir les spectromètres FTIR et RMN et de réaliser des activités anti-enzymatiques. Je la remercie de m'avoir encadré pendant la période de ma bourse au Portugal et de sa présence constante, notamment pour ses précieux conseils.

Un grand merci au Pr. Sevgi KOLAYLI pour m'avoir permis d'effectuer l'analyse HPLC des composés phénoliques dans son laboratoire. Quelle trouve ici l'expression de mes plus vifs remerciements pour ses encouragements et ses précieux conseils. Je remercie également M. Yakup KARA, Mme. Ceren BIRINCI et toute l'équipe de laboratoire de recherche en Biochimie de l'Université Technique de Karadeniz en Turquie, de m'avoir accompagné durant toute la durée de mon stage en Turquie.



Je tiens également à remercier le Dr. AMESSIS-OUCHEMOUKH Nadia pour son aide, ses conseils et ses encouragements très constructifs qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail de recherché.

Ma reconnaissance va également à tous les enseignants de l'Université A. Mira de Bejaia et plus particulièrement : Pr. TAMENDJARI Abderezak, Pr. OUCHEMOUKH Salim, Pr. KATI Djamel Edine, Pr. ATMANI Dina, Dr. KADJI Hafsa, Dr. BACHIR BEY Mostapha, Dr. GHIDOUCHE Abderrezak, Dr. DEBBACHE Nadjet, Dr. AIT-ALI Djida et Dr. AYOUNI Karima, qui m'ont enseigné au cours de ma première année de formation doctorale.

J'adresse mes remerciements aussi à toute l'équipe de Biochimie des Produits de la Ruche à leur tête le chef d'équipe le Pr. OUCHEMOUKH Salim, mon collègue Dr. ZAIDI Hicham et les doctorants : Menia Mohamed, DIB Salima, BEDJIH Farida et GUENAOUI Nawel. Je tiens également à remercier, de manière générale toute l'équipe de laboratoire de Biochimie Appliquées à l'Université A. Mira de Bejaia. Mes remerciements vont aussi au Pr. ZEBBOUDJ-DEHBI Aicha, pour tous ses efforts pour la gestion de ce laboratoire.

J'aimerais également remercier sincèrement toutes les personnes qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de cette thèse plus particulièrement mes collègues SAHLI Djallal et Dr. Sameer AHMAD ALI QASEM et ainsi que les techniciens et les ingénieurs des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment Mme BELHADI-BENYAHIA Saida et Melle TABTI Naima.

J'exprime aussi ma profonde gratitude aux apiculteurs qui m'ont fourni les échantillons de miel. Je remercie aussi Dr Belkacem Nassim, Mr TALAOUIT Fawzi, Mr HADDADEN Ahcen, Mr OTMANI Ali et Mr BEKOUCHE Hamid qui m'ont fournis quelques échantillons de miels.

Finalement, Je dédie ce travail à la mémoire de ma mère Ouerdia BOUHEDDA et de mon père Ahmed « Puisse Dieu tout puissant, vous accorder sa clémence, sa miséricorde, et assurer le repos de vos âmes au sein de son paradis».



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de ma mère et de mon père.

A mes chères sœurs : Hakima, Kahina et Dihia.

A mes chers frères : Mohammed, Ali, Mouloud et Belkacem.

A mes petites adorables nièces : Camélia et Elina.

A mon petit neveu : Rayan.

A toute la famille OTMANI.

A tous mes amis : Djallal, Mohammed, Azdine, Elias, Mounir, Sammer et Boubaker.

A toute la promotion Doctorat 2016 : Elias, Ghilas, Djouhra, Nawel, Sabrina, Sarah, Walid et Kahina.

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

Table des matières

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Revue bibliographiques

Chapitre I. Le miel : composition, caractéristiques et fraudes

I. Définition4

II. Origine et variétés4

II.1. Miel de nectar4

II.1.1. Miels monofloraux5

II.1.2. Miels polyfloraux5

II.2. Miel de miellat5

III. Elaboration et récolte6

IV. Composition chimique6

IV.1. Composants majeurs7

IV.1.1. Glucides7

IV.1.2. Eau8

IV.2. Composants mineurs8

IV.2.1. Acides organiques8

IV.2.2. Acides aminés et protéines9

IV.2.3. Lipides9

IV.2.4. Enzymes9

IV.2.5. Vitamines.....10

IV.2.6. Sels minéraux10

IV.2.7. Substances aromatiques.....10

IV.2.8. HMF (Hydroxyméthylfurfural)11

IV.2.9. Composés phénoliques.....12

IV.3. Eléments figurés12

IV.3.1. Pollen.....12

IV.3.1.1. Définition et composition chimique.....	12
IV.3.1.2. Méliissopalynologie	12
IV.3.2. Microorganismes	14
V. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques	14
V.1. Propriétés organoleptiques.....	14
V.1.1. Couleur	14
V.1.2. Texture.....	14
V.1.3. Goût et arôme.....	15
V.2. Propriétés physico-chimiques	17
V.2.1. Densité	17
V.2.2. Viscosité	17
V.2.3. Hygroscopie.....	17
V.2.4. Conductivité électrique.....	17
V.2.5. pH et acidité.....	17
V.2.6. Pouvoir rotatoire.....	18
VI. Fraudes.....	18
VI.1. Aspect juridique.....	18
VI.2. Type de fraudes.....	19
VI.2.1. Fraudes concernant la qualité	19
VI.2.1.1. Adultération.....	19
VI.2.1.2. Pratiques non conformes de récolte et de traitement.....	19
VI.2.2. Fraudes concernant la description.....	20
VI.3. Méthodes d'analyse de l'adultération du miel.....	20
VI.3.1. Détection microscopique.....	20
VI.3.2. Analyse du rapport isotopique du carbone stable (ARICS)	20
VI.3.3. Caractérisation des protéines.....	20
VI.3.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (FTIR-ATR)	21
VI.3.5. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	21
VI.3.6. Spectroscopie de proche infrarouge (NIR).....	21
VI.3.7. Chromatographie d'échange d'anions haute performance avec détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD).....	21

VI.3.8. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à rapport isotopique (HPLC-IRMS).....	22
VI.3.9. Méthodes d'analyses calorimétriques différentielles (DSC).....	22
VI.3.10. Spectroscopie Raman à transformée de Fourier (FT-Raman)	22

Chapitre II. Composés bioactifs et propriétés biologiques

I. Composés bioactifs.....	23
I.1. Composés phénoliques.....	23
I.1.1. Acides phénoliques.....	23
I.1.1.1. Phénols simples.....	23
I.1.1.2. Acides hydroxybenzoïques.....	24
I.1.1.3. Acides hydroxycinnamiques.....	24
I.1.2. Flavonoïdes.....	24
I.1.2.1. Flavanones.....	25
I.1.2.2. Flavones.....	25
I.1.2.3. Isoflavone.....	27
I.1.2.4. Flavonols.....	27
I.1.2.5. Flavanols.....	27
I.1.2.6. Anthocyanidines.....	27
I.1.3. Coumarines.....	28
I.1.4. Tanins.....	28
I.1.4.1. Tanins hydrolysables.....	28
I.1.4.2. Tanins condensés.....	29
I.1.5. Composés phénoliques.....	29
I.2. Caroténoïdes.....	31
II. Propriétés biologiques.....	32
II.1. Effet antioxydant.....	32
II.2. Effet antibactérien.....	33
II.2.1. Faible activité de l'eau.....	33
II.2.2. Osmolarité.....	34
II.2.3. Effet d'acidité.....	34
II.2.4. Inhibines à activité peroxydique.....	34

II.2.5. Inhibine à activité non peroxydique.....	35
II.2.6.1. Composés phénoliques.....	35
II.2.6.2. Défensine-1.....	35
II.2.6.3. Méthylglyoxal (MGO).....	35
II.3. Effet antiinflammatoire.....	36
II.4. Effet cicatrisant.....	36
II.4.1. Phase inflammatoire.....	36
II.4.2. Phase proliférative.....	37
II.4.3. Phase de remodelage.....	37
II.5. Effet anticancéreux.....	37
II.6. Effet neurologique.....	38
II.7. Effet antidiabétique.....	38
II.8. Activité anti-obésité.....	40
II.9. Activité dermato-protectrice.....	40

Partie expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

I. Echantillons.....	41
II. Analyses polliniques.....	42
III. Paramètres physicochimiques.....	42
III.1. Brix et humidité.....	42
III.2. Conductivité électrique.....	43
III.3. Cendres.....	43
III.4. Potentiel d'hydrogène (pH).....	44
III.5. Acidités libre, liée et totale.....	44
III.6. Couleur.....	44
III.6.1. Intensité de couleur ABS ₄₅₀	44
III.6.2. Couleur (échelle Pfund).....	45
III.7. Dosage de l'HMF.....	45
III.8. Dosage des protéines.....	45
III.9. Dosage de la proline.....	46

IV. Détection par FTIR-ATR de l'adultération du miel avec des solutions de saccharose...	46
IV.1. Préparation des miels falsifiés.....	46
IV.2. Analyse FTIR-ATR.....	47
V. Dosage des antioxydants.....	47
V .1. Composés phénoliques totaux.....	47
V .2. Flavonoïdes.....	48
V .3. Flavonols.....	48
V .4. Caroténoïdes totaux.....	49
V .5. Vitamine C.....	49
VI. Extraction et détermination des composés phénoliques par HPLC-UV.....	50
VI.1. Extraction de composés phénoliques pour l'analyse HPLC-UV	50
VI.2. Analyse HPLC-UV.....	50
VII. Activités biologiques	51
VII.1. Activités antioxydantes	51
VII.1.1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH.....	51
VII.1.2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS.....	52
VII.1.3. Test de FRAP.....	52
VII.1.4. Pouvoir réducteur.....	53
VII.1.5. Test à la ferrozine.....	53
VII.1.6. Test de radical scavenging d'oxyde nitrique (NORS)....	54
VII.1.7. Blanchiment de β -carotène.....	55
VII.2. Activité antibactérienne.....	55
VII.2.1. Test de sensibilité.....	56
VII.2.2. Concentration minimale inhibitrice.....	56
VII.3. Activité anti-inflammatoire.....	57
VII.4. Inhibitions enzymatiques.....	57
VII.4.1. Préparation des extraits phénoliques.....	57
VII.4.2. Activité anti-acétylcholinestérase.....	58
VII.4.3. Activité anti- α -glucosidase.....	58
VII.4.4. Activité anti-lipase.....	59
VII.4.5. Activité anti-tyrosinase.....	60
VIII. Analyses statistiques.....	61

Chapitre II. Résultats et discussion

I. Analyses polliniques.....	62
II. Analyses physico-chimiques.....	68
II.1. Brix.....	68
II.2. Humidité.....	69
II.3. Conductivité électrique.....	71
II.4. Cendres.....	72
II.5. pH.....	73
II.6. Acidité.....	75
II.6.1. Acidité libre.....	75
II.6.2. Acidité liée.....	76
II.6.3. Acidité totale.....	77
II.7. Couleur.....	78
II.7.1. Intensité de couleur ABS ₄₅₀	78
II.7.2. Couleur (échelle Pfund)	79
II.8. Teneurs en HMF.....	81
II.9. Teneurs en protéines.....	83
II.10. Teneurs en proline.....	84
III. Détection par FTIR-ATR de l'adultération du miel avec des solutions de saccharose....	86
III.1. Analyse des spectres FTIR-ATR des miels purs.....	86
III.2. Analyse des spectres FTIR-ATR des miels falsifiés.....	89
V. Teneurs en antioxydants.....	91
V.1. Composés phénoliques totaux.....	91
V.2. Flavonoïdes.....	92
V.3. Flavonols.....	94
V.4. Caroténoïdes.....	95
V.5. Vitamine C.....	96
VI. Analyse HPLC-UV des composés phénoliques.....	98
VI.1. Acides phénoliques.....	98
VI.2. Flavonoïdes.....	100
VII. Activités biologiques.....	102
VII.1. Activités antioxydantes.....	102

VII.1.1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH.....	102
VII.1.2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS.....	104
VII.1.3. Test de FRAP.....	106
VII.1.4. Pouvoir réducteur.....	108
VII.1.5. Test à la ferrozine.....	109
VII.1.6. Test de radical scavenging d'oxyde nitrique (NORS).....	111
VII.1.7. Blanchiment de β -carotène.....	112
VII.2. Activité antibactérienne.....	115
VII.2.1. Test de sensibilité.....	115
VII.2.2. CMI.....	119
VII.2.3. Courbes dose-réponse des miels contre les souches bactériennes.....	119
VII.3. Activité anti-inflammatoire.....	125
VII.4. Inhibitions enzymatiques.....	127
VII.4.1. Activité anti-acétylcholinestérase.....	127
VII.4.2. Activité anti- α -glucosidase	129
VII.4.3. Activité anti-lipase.....	131
VII.4.4. Activité anti-tyrosinase.....	132
VIII. Test-<i>t</i> de comparaison et corrélations.....	134
IX. Analyses multi-variées.....	139
IX.1. ACP des paramètres physicochimiques, composés bioactifs et activités biologiques.....	139
IX.2. ACP des intensités des pics caractéristiques des miels purs et adultérés détectés par FTIR-ATR.....	141
X. Classement des échantillons de miels par la méthode des scores.....	143
Conclusion.....	147
Références bibliographiques.....	150

Annexes

Liste des figures

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Composition chimique moyenne du miel	7
2	Processus de la formation de l'HMF	11
3	Photos de grains de pollen présents dans le miel fournies par CETAM (Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle, France).	13
4	Roue de goût et des arômes de miels	15
5	Structure chimique de quelques phénols simples	23
6	Structure chimique de quelques acides hydroxybenzoïques	24
7	Structure chimiques de quelques acides hydroxycinnamiques	24
8	Structure de base des flavonoïdes	25
9	Structure chimiques de quelques classes de flavonoïdes	26
10	Structure chimique de la coumarine	28
11	Structures chimiques de quelques caroténoïdes	31
12	Événements séquentiels du diabète et rôles potentiels des polyphénols du miel	39
13	Photographie des échantillons de miel	42
14	Photographies des grains de pollen de quelques miels analysés.	67
15	Brix des miels analysés	68
16	Taux d'humidité des miels analysés	70
17	Conductivité électriques des miels analysés	71
18	Teneurs en cendre des miels analysés	73
19	pH des miels analysés	74
20	Acidité libre des miels analysés	75
21	Acidité combinée des miels analysés	77
22	Acidité totale des miels analysés	78
23	Intensité de couleur ABS ₄₅₀ des miels analysés	79
24	Intensité de couleur (échelle Pfund) des miels analysés	80
25	Teneurs en HMF des miels analysés	82
26	Teneurs en protéines des miels analysés	83
27	Teneurs en proline des miels analysés	85

28	Spectres FTIR-ATR des miels purs et des miels adultérés avec de l'eau distillée	88
29	Spectres FTIR-ATR des miels adultérés avec les solutions de saccharose (S1, S2, S3 et S4)	90
30	Teneurs en composés phénoliques totaux des miels analysés	91
31	Teneurs en flavonoïdes des miels analysés	93
32	Teneurs en flavonols des miels analysés	94
33	Teneurs en caroténoïdes des miels analysés	95
34	Teneurs en vitamine C des miels analysés	97
35	Activité antiradicalaire DPPH des miels analysés	102
36	Activité antiradicalaire ABTS des miels analysés	105
37	Pouvoir du FRAP des miels analysés	107
38	Pouvoir réducteur des miels analysés	108
39	Test à la ferrozine des miels analysés	109
40	Pouvoir de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique des miels analysés	111
41	Pouvoir de blanchiment de la β -carotène des miels analysés	113
42	Photographies des effets antibactériens des miels sur les 4 souches bactériennes testées.	117
43	Résultats de l'antibiogramme	117
44	Courbe dose-réponse des miels <i>Apiaceae</i> et <i>Fabaceae</i> contre les 4 souches bactériennes	121
45	Courbe dose-réponse des miels <i>Ericaceae</i> et <i>Myrtaceae</i> contre les 4 souches bactériennes	122
46	Courbe dose-réponse des miels <i>Brassicaceae</i> et polyfloraux contre les 4 souches bactériennes	123
47	Valeurs d'IC ₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la BSA	125
48	Valeurs d'IC ₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber l'acétylcholinestérase	127
49	Valeurs d'IC ₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber l' α -glucosidase	129
50	Valeurs d'IC ₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la lipase	131
51	Valeurs d'IC ₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la tyrosinase	133

52	ACP des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des miels analysés	140
53	ACP de des intensités des pics relatifs des miels purs et falsifiés	142
54	Graphiques en radars des scores des paramètres physicochimiques obtenus par les miels analysés.	144
55	Graphiques en radars des scores des teneurs en antioxydants obtenus par les miels analysés.	144
56	Graphiques en radars des scores des activités biologiques obtenus par les miels analysés.	145
57	Graphiques en radars des scores des paramètres étudiés obtenus par les miels analysés.	145

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Durée nécessaire pour la formation de 40 mg d'HMF dans 1 kg de miel en fonction de la température de stockage	11
II	Goût et arômes de quelques miels monofloraux	16
III	Composition de quelques types de miel en acides phénoliques et en flavonoïdes	30
IV	Régions et années de récolte et les caractéristiques sensorielles des échantillons de miel	41
V	Composition des solutions d'adultération et des miels falsifiés	47
VI	Programme de gradient RP-HPLC-UV.	51
VII	Spectre pollinique et pourcentages de pollens de miels analysés	63
VIII	Noms des couleurs correspondants à l'échelle Pfund	81
IX	Types de vibration associés au maximum d'absorption des bandes FTIR-ATR.	87
X	Résultats de l'analyse HPLC-UV des composés phénoliques	99
XI	Résultats de l'activité antibactérienne des échantillons de miel	116
XII	Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne	135
XIII	Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes	137
XIV	Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne	137
XV	Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique.	138
XVI	Corrélations activités antioxydantes et antibactériennes et inhibition enzymatique.	138

Liste des abréviations

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius

AAR: Activité antioxydante relative

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

AChE: Acétylcholinestérase

ACP: Analyse en composantes principales

ADL: Analyse discriminante linéaire

A-glu: α -glucosidase.

ANOVA: Analysis of one variance

ARICS: Analyse du rapport isotopique du carbone stable

ATCC: American type culture collection

AVC: Analyse des variables canoniques

BSA: Serum Albumin Bovin

CE: Conductivité électrique

CETAM: Centre d'études techniques apicoles de Moselle

CFU: Unité formant colonie

CMI: Concentration minimale inhibitrice

DPPH: 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl

DSC: Differential scanning calorimetry

DTNB: 5,5'Dithiobis [2-nitrobenzoic acid]

EAA: Equivalent acide ascorbique

EAAG: Equivalent antioxydant acide gallique

EAG: Equivalent acide gallique

E β Carot: Equivalent β -carotène

***E. coli* :** *Escherichia coli*

EQ: Equivalent quercétine

FAO: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

FTIR-ATR: Fourier Transform Infrared spectroscopy with Attenuated Total Reflectance

GMF: Groupe des miels monofloraux

GPF: Groupe des miels polyfloraux

H: Honey

HMF: Hydroxyméthyl furfural

HPLC: High performance liquid chromatography

HPLC-IRMS: High performance liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry

HPAEC-PAD: High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection

IC₅₀ : Inhibition Concentration 50

Kg: Kilogramme

L-DOPA: (Lévogyre) 3,4-dihydroxyphénylalanine

LP: Lipase Pancréatique

M: Molaire

mAU: Milli-absorbance-unité

MCP: Moindres carrés partiels

Meq: milli-équivalent

Mg: Milligramme

mM: Milli-molaire

mS: Milli-siemens

N: Normal

NIR: Near infrared transfectance spectroscopy

nm: Nanomètre

NORS: Nitric oxide radical scavenging

OMS: Organisation mondiale de la santé

p/v: poids/volume

pH: Potentiel hydrogène

pNPB: p-nitrophényl butyrate

pNPG: p-nitrophényl- α -Dglucopyranoside

r: Coefficient de corrélation

rpm: rotation par minute

Rf: Retention factor

S. typhi: *Salmonella typhi*

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

TPTZ: 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-s-triazine

U: Unité

Introduction

Introduction

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Il était le seul édulcorant avant l'apparition de la canne à sucre et de la betterave. C'est un produit de la ruche le mieux connu du grand public et il est utilisé comme ingrédient dans plusieurs produits alimentaires. Le miel est une solution hautement concentrée en glucides dont les principaux sont le fructose et le glucose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs (les minéraux, les protéines, les acides aminés, les vitamines, les acides organiques, les composés phénoliques et volatils et les caroténoïdes) et d'éléments figurés (pollens, levures, ...) (**Da silva et al., 2016 ; Ouchemoukh, 2012 ; Seraglio et al., 2019**). L'union européenne et la commission internationale du miel ont établi des normes concernant les paramètres physicochimiques (humidité, pH, conductivité électrique, acidité,...) des miels dans le but d'éviter la falsification et de conserver la qualité de ce produit de la ruche (**Bogdanov, 2002**).

Le miel n'est pas seulement un aliment sucré mais aussi un produit qui possède maintes propriétés biologiques (anticancéreuses, antidiabétique, antioxydantes, antimicrobiennes, antiinflammatoires, ...) (**Biluca et al., 2020**). Ses vertus curatives sont connues depuis la nuit des temps et son utilisation comme agent antimicrobien est redécouverte ces dernières années par la profession médicale. La couleur est un paramètre important pour un miel. Plus un miel est de couleur foncée, plus sa composition chimique est riche et meilleur sont ses propriétés biologiques (**Ouchemoukh, 2012**).

Le miel est une source de plusieurs composants bioactifs, notamment des composés phénoliques. Il en existe par exemple des acides phénoliques (acides caféique, férulique, coumarique et benzoïque) et des flavonoides (apigénine, pinocembrine et quercétine) (**Čanadanovic-Brunet et al., 2014 ; Liu et al., 2013 ; Zaidi et al., 2019**). Ce produit apicole est une source naturelle en antioxydants et il fournit au corps humain des molécules exogènes capables de prévenir les réactions d'auto-oxydation et de neutraliser les radicaux libres par différents mécanismes. Les antioxydants enzymatiques (catalase, glucose oxydase et peroxydase) et non enzymatiques (acide ascorbique, flavonoïdes, caroténoïdes et acides phénoliques) du miel ont la capacité d'inhiber les réactions d'oxydation en chaîne qui sont responsables de plusieurs pathologies telles que l'athérosclérose, le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Al et al., 2009 ; Aljadi & Kamaruddin, 2004**).

Le miel possède également un large spectre d'activité antibactérienne et il inhibe environ 60 espèces bactériennes Gram positive et Gram négative (**Ghramh et al., 2019**). Plusieurs études ont rapporté les propriétés antibactériennes du miel contre *Aspergillus nidulans*, *Salmonella typhimurum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Al-waili et al., 2013 ; Hegazi et al., 2017**).

Les maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer, constituent un énorme problème de santé puisqu'elles touchent des personnes âgées et elles sont incurables. L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) est l'une des cibles du traitement de la maladie d'Alzheimer. L'effet inhibiteur du miel sur l'AChE est attribué essentiellement aux composés phénoliques qui permettent la restauration de la neurotransmission cholinergique déficiente (**Ahrari-Roodi et al., 2018 ; Muhammad et al., 2015**).

Le diabète est une maladie qui est très préoccupante. L' α -amylase et l' α -glucosidase sont les principales enzymes responsables de l'hydrolyse des glucides et de l'augmentation de la glycémie. Les composés phénoliques du miel tels que l'acide férulique, la quercétine, l'apigénine et la lutéoline exercent une inhibition sur ces enzymes digestives et contrôlent par conséquent l'hyperglycémie (**Lakshmana-Senthil et al., 2019 ; Zaidi et al., 2019**). La lipase pancréatique joue un rôle important dans l'hydrolyse des triglycérides en glycérol et en acides gras. La suppression de l'apport énergétique en inhibant l'action de cette enzyme avec des médicaments tels que l'orlistat a été utilisée pour traiter l'obésité. Plusieurs études ont rapporté que les polyphénols naturels peuvent inhiber la lipase pancréatique et influencer ensuite la digestion des graisses et diminuer l'apport énergétique (**McDougall et al., 2009**).

L'Algérie possède une diversité végétale très importante et des conditions climatiques favorables à la production du miel. Elle compte actuellement 51 539 apiculteurs agréés et 1,6 million d'exploitations apicoles réparties sur tout son territoire. La production nationale de miel est en moyenne de 74 420 quintaux/an avec une croissance de production de 85 % enregistrée ces dix dernières années. En 2019, l'Algérie a contribué de 0,34 % à la production mondiale et de 3,34 % à la production Africaine de miel, et ces pourcentages restent faibles par rapport aux capacités naturelles qu'elle possède. La wilaya de Skikda est le leader national avec une production annuelle de 12 000 quintaux. La consommation individuelle de miel en Algérie reste faible et elle ne dépasse pas 176 grammes/an (**ITEV, 2020 ; FAOSTAT, 2019**).

L'analyse de la littérature nationale et internationale montre peu de publications scientifiques sur les paramètres de qualité et d'authenticité, les composés bioactifs et les activités biologiques des miels Algériens. Dans ce travail de recherche, les paramètres physicochimiques, les teneurs en antioxydants et les profils phénoliques de 26 miels *d'Apis mellifera* provenant des différentes régions d'Algérie sont étudiés. Les activités antioxydantes et antibactériennes sont également évaluées. En outre, la méthode FTIR-ATR (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier avec Réflectance Totale Atténuée) est appliquée afin de différencier le miel naturel du miel adultéré.

Dans la littérature récente, peu d'études ont traité l'utilisation du miel dans le traitement de l'arthrite, de la maladie d'Alzheimer, de l'obésité et de l'hyperpigmentation. A la recherche de traitements naturels et durables des maladies mentionnées, les activités inhibitrices de la BSA (Albumine de Sérum Bovin), l'acétylcholinestérase, l' α -glucosidase, la lipase pancréatique et la tyrosinase des extraits phénoliques du miel sont étudiées.

Cette étude est divisée en deux parties :

- Dans la première partie, les différentes connaissances bibliographiques sur la composition chimique, les caractéristiques physicochimiques, la falsification, les composés bioactifs et les activités biologiques de miel seront présentées.
- Dans la deuxième partie, le matériel d'étude, les méthodes analytiques et la présentation des résultats obtenus et leurs discussions seront abordées.

Revue bibliographique

Chapitre I

Le miel : composition, caractéristiques et fraudes

Chapitre I. Le miel : composition, caractéristiques et fraudes

I. Définition

Le Codex Alimentarius (2001), adopté par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Journal Officiel des Communautés Européennes (2002) ont défini légalement le miel comme suit : « Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes 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 affiner et mûrir dans les rayons de la ruche». Contrairement aux pays européens, l'Algérie elle n'a pas encore des lois claires sur le miel et son étiquetage pour protéger les consommateurs des éventuelles fraudes.

II. Origine et variétés

Le miel est élaboré par les abeilles *Apis mellifera* à partir des substances d'origine végétale provenant de nectar des fleurs, des exsudats des insectes suceurs (pucerons) et/ou de jus de fruits déjà attaqués par d'autres insectes (Hoyet, 2005). Les miels sont subdivisés selon les sources butinées en deux types :

II.1. Miel de nectar

Le nectar est un liquide sucré produit par des structures glandulaires des organes végétaux supérieurs (nectaires) qui acheminent la sève des plantes. Elle sont situées généralement au fond de la corolle des fleurs (nectaires floraux) ou sur les autres parties de la plante telles que la tige et les feuilles (nectaires extra-floraux) (Bogdanov *et al.*, 2004; Marchenay et Berard, 2007).

Chaque fleur butinée laisse dans le miel son empreinte (pigments, arômes, grains de pollens...). Au travers de sa composition chimique, le nectar confère au miel sa couleur et ses arômes. Il est composé principalement des glucides dont le fructose, le glucose et le saccharose. Il renferme également de l'eau, des acides organiques, des enzymes, des protéines, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques (Diez *et al.*, 2004; Lobreau-Callen *et al.*, 2000). Les miels de nectar de fleurs peuvent être subdivisés en 2 types :

II.1.1. Miels monofloraux

Les miels monofloraux sont en principe issus d'une seule espèce florale mais en pratique c'est impossible d'affirmer à 100 % que les abeilles ont bien butiné cette unique variété. Même si une espèce florale est très abondante, il suffit juste de quelques changements des facteurs environnementaux (vent, température et hygrométrie) pour que les abeilles changent de champs de fleurs. Toutefois, un miel est considéré monofloral si la proportion des grains de pollens d'une seule et unique variété florale représente plus de 45 % de l'ensemble du pollen (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

Le miel est appelé en fonction de la source florale de pollen dominant ($\geq 45\%$). Pour récolter un miel monofloral, il faut disposer les ruches près d'une espèce végétale suffisamment étendue et très dense. Les miels monofloraux les plus abondants sont : colza, tournesol, acacia, lavande, romarin, tilleul et châtaignier (**Bonté et Desmoulière, 2013 ; Nazarian *et al.*, 2010**).

II.1.2. Miels polyfloraux (toutes fleurs)

Les miels polyfloraux sont élaborés par les abeilles à partir de nectar et/ou du miellat de plusieurs variétés florales sans prédominance d'une variété précise (**Barbara, 2009; Bonté et Desmoulière, 2013**). Ces miels sont indiqués en faisant référence soit à la saison de récolte (printemps et été), soit au paysage où la flore est identifiée (forêt, montagnes,...).

Le miel de forêt provient essentiellement de l'épilobe, de la ronce, des bruyères, du lierre, de chêne, de hêtre, de tilleul et des miellats de conifères divers. Le miel de haute montagne provient de trèfle blanc, d'épilobe, de ronce et de framboisier. En revanche, le miel de printemps provient de colza, de pommier, de cerisier, de trèfle, de pissenlit et de cassis (**Clément, 2002**).

II.2. Miel de miellat

Le miellat est un produit sucré produit par des divers homoptères (psylles, cigales, cochenilles et pucerons). Après avoir perforé les tissus végétaux, ces insectes sucent la sève qui circule dans les faisceaux pour la transformer en miellat dans leur tube digestif, qui est ensuite excrété par l'anus. Généralement, les plantes hôtes des insectes producteurs de miellat sont des arbres forestiers (sapin, pin sylvestre, épicéa, mélèze, châtaignier et chêne). Le miellat est aussi émis par les plantes à travers les orifices stomatiques des feuilles dans les périodes de sécheresse (**Hoyet, 2005**).

Le nom miellat revient à la présence d'un trisaccharide (mélézitose) formé dans le tube digestif des homoptères et qui est utilisé pour identifier les miels de miellat. Une teneur de mélézitose supérieure à $0,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ indique la présence de miellat dans le miel. Les abeilles butineuses recueillent le miellat entre la fin de printemps et l'été par léchage en remplissant leur jabot (Hoyet, 2005 ; Rossant, 2011).

III. Elaboration et récolte

La transformation de nectar ou de miellat en miel commence dans le jabot des abeilles butineuses. Afin de faciliter l'aspiration de ces solutions sucrées, les butineuses diluent le nectar avec un mélange de sécrétions salivaires riches en enzymes, provenant exclusivement des glandes pharyngiennes. A ce niveau, le saccharose est hydrolysé par l'invertase en glucose et fructose (Marchenay et Bernard, 2007 ; Ochemoukh, 2012).

La charge des butineuses est transférée ensuite aux plus jeunes abeilles qui elles-mêmes la passe à d'autres ouvrières (phénomène de trophallaxie). Durant cette étape de maturation, le liquide s'enrichit en matières spécifiques et en enzymes (Cotte *et al.*, 2004; Jéanne, 2004).

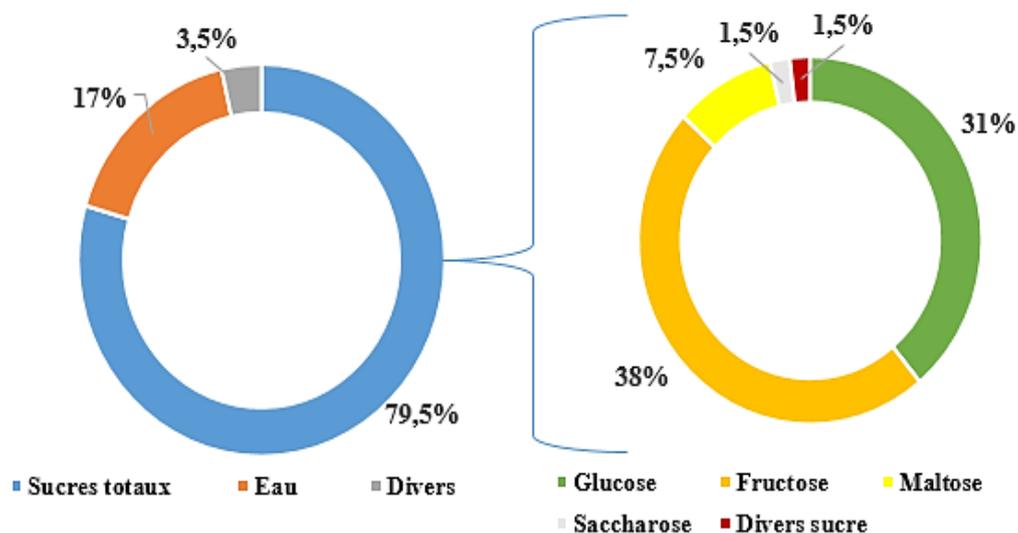
Le miel non mûr est régurgité plusieurs fois par les ouvrières jusqu'à atteindre un taux d'humidité de 40 à 50 %. Ensuite les gouttes épaissies sont entreposées dans les alvéoles des cadres de cire ou la déshydratation se poursuit par les mouvements très rapides des ailes des ventileuses. Lorsque le miel atteint la maturation avec un faible taux d'humidité ($< 20 \%$), la glucose-oxydase devient inactive et le produit se stabilise. Les abeilles cirières recouvrent les alvéoles à l'aide d'une fine couche de cire, imperméable à l'air, ce qui permet une longue conservation de miel (Huchet *et al.*, 1996; Loubreau-Callen *et al.*, 2000).

La récolte du miel est effectuée par l'apiculteur à la fin de la miellée et que au moins $\frac{3}{4}$ des alvéoles sont operculés. Les cadres sont retirés de la ruche mais généralement une quantité du miel est laissée comme nourriture pour les jeunes larves et comme provisionnement pour l'hiver. Les hausses des ruches sont transportées dans la miellerie ou les alvéoles sont désoperculées à l'aide d'un couteau. Selon la Commission Européenne (2002), trois techniques sont utilisées pour l'extraction du miel (pression, centrifugation et écoulement).

IV. Composition chimique

Le miel est un aliment sucré dont la fabrication demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur sa composition chimique finale. La figure 1 montre la composition chimique moyenne du miel.

La composition du miel varie en fonction d'espèce d'abeilles, du type de plante butiné par les abeilles, de la source récoltée (nectar ou miellat) et des régions géographiques. Il n'existe donc pas un miel mais plusieurs miels possédant des propriétés relatives des plantes butinées (Da Silva *et al.*, 2016).



Divers sucre (1,5%)	Divers (3,5%)		
Dextrantriase, erlose, isomaltose, kestose, kojibiose, leucrose, maltotose, mélézitose, nigériorose, raffinose, turanose.	Acides divers : gluconique, malique, oxalique, citrique,...	Protéines et acides aminés : leucine, histidine, alanine, glycine, lysine, proline, sérine,...	Sels minéraux : K, Ca, Na, Mg, Fe, Cu, P,...
	Vitamine : C, B	Enzymes : invertase, gluco-oxydase,...	Constituants figurés : pollen, levures... Facteurs antibactériens, arômes, pigments...

Figure 1 : Composition chimique moyenne du miel (Teyssier, 2005).

IV.1. Composants majeurs

IV.1.1. Glucides

Le miel est une solution sursaturée en hydrates de carbone et représente 95 à 99 % de la matière sèche. Le fructose (38 %) et le glucose (31 %) qui résultent de l'action de l'invertase sur le saccharose y sont les monosaccharides prédominants. Les disaccharides dont principalement le maltose (7,5 %) et le saccharose (1,5 %) y sont moins abondants. Cependant, les tri et polysaccharides sont présents à l'état de trace dans ce produit de la ruche (l'erlose, le raffinose, le mélézitose, le mélibiose,...) (Lazaridou *et al.*, 2004; Pita-Calvo et Vázquez, 2017).

Certains sucres de miel (glucose, fructose, saccharose, kestose, mélézitose et raffinose) proviennent de nectar ou de miellat. En revanche, d'autres sucres (maltose, isomaltose, dextrantriose et erlose) résultent de la transglucosidation réalisée par les enzymes du suc des glandes hypopharyngiennes des abeilles. Ces réactions enzymatiques sont responsables de la disparition d'une partie de glucose en modifiant ainsi le rapport glucose/fructose de nombreux miels (**Ruiz-Matute et al., 2010**).

Les sucres sont responsables de certaines caractéristiques physicochimiques du miel (viscosité, hygroscopicité, cristallisation et granulation) (**Kayacier et Karaman, 2008; Lazaridou et al., 2004**).

IV.1.2. Eau

La teneur en eau du miel est un paramètre de qualité et elle varie entre 15 et 20 % avec un optimum de 17 %. Un miel très épais est difficile à extraire, tandis qu'un miel trop liquide risque de fermenter sous l'action des micro-organismes. La limite maximale de l'humidité du miel est fixée à 20 % à l'exception des miels de trèfle (21 %) et de bruyère (23 %) (**Bogdanov et al., 2004 ; Codex alimentarius, 2001 ; Terrab et al., 2002**). L'humidité du miel dépendant essentiellement de son degré de maturité, de ces origines botanique et géographique, du sol et des conditions climatiques (**Galhardo et al., 2020**).

IV.2. Composants mineurs

IV.2.1. Acides organiques

Les acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations réalisées par les abeilles avec une teneur qui varie de 0,57 à 1,5 %. Il existe une vingtaine d'acides organiques dans le miel tels que les acides acétique, benzoïque, citrique, D-glucuronique, lactique, L-tartrique, malique, oxalique, butyrique, propionique, pyroglutamique et succinique. Des traces des acides formique, chlorhydrique et phosphorique sont aussi présentes. Cependant, l'acide gluconique est l'acide le prédominant, résultant de l'oxydation du glucose par la glucose oxydase pendant la maturation du miel ou produit par les gluconobacters (**Nafea et al., 2013**).

L'acide citrique peut être utilisé pour différencier les miels de nectar des miels du miellat. La teneur en acide citrique des miels de miellat est remarquablement supérieure à celle des miels de nectar (**Keke et al., 2019**).

Certains acides organiques peuvent être utilisés pour détecter l'authenticité du miel tels que les acides 2-méthoxybutanedionique et 4-hydroxy-3-méthyl-trans-2-pentènedioïque. Ces derniers sont prédominant dans les miels de Nouvelle-Zélande (**Keke et al., 2019 ; Shamsudin et al., 2019**).

IV.2.2. Acides aminés et protéines

Les acides aminés libres et les protéines sont présents en quantité infime dans le miel (0.26 %). Ils sont issus principalement des sécrétions des abeilles, du nectar, du miellat et du pollen. Il s'agit essentiellement des peptones, des albumines, des globulines et des nucléoprotéines (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

Un total de 16 acides aminés sont identifiés dans le miel (proline, l'histidine, l'alanine, trypsine la glycine et la méthionine...). La proline est l'acide aminé le plus abondant et il est rapporté comme un indicateur de l'authenticité. Un miel est considéré mûr et pure lorsque sa teneur en proline est supérieure à 180 mg kg⁻¹ (**Bogdanov et al., 1999 ; Meda et al., 2005**).

IV.2.3. Lipides

Les lipides sont présents dans le miel en très faible quantité ou parfois inexistant. Il s'agit des glycérides et d'acides gras (acides palmitique, oléique et linoléique), issus du nectar et de la cire (**Bonté et Desmoulière, 2013 ; Lobreau-Callen et al., 2000**).

IV.2.4. Enzymes

Les enzymes du miel sont issues de deux origines : animale (sécrétions salivaires des abeilles) et végétale (nectar et/ou miellat). En particulier, le miel de miellat contient des enzymes des homoptères responsables de la transformation et d'excrétion de miellat d'où vient le miel. Les enzymes les plus connues sont la catalase et la phosphatase acide (issue du nectar), l'invertase, α et β amylases et glucose-oxydase (issus des sécrétions salivaires de l'abeille). La gluco-invertase est responsable de l'hydrolyse des disaccharides et les α et β amylases permettent la dégradation de l'amidon (**Ouchemoukh, 2012 ; Volvolà et Elechovská, 2002**).

La glucose-oxydase est considérée en grande partie responsable des propriétés antiseptiques du miel. Cette enzyme transforme le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène qui inhibent la croissance de plusieurs microorganismes (bactérie, levures, champignons...) (**Serrano et al., 2007**).

IV.2.5. Vitamines

Les vitamines du miel sont loin de couvrir les besoins nutritionnels de l'homme et ils sont présentes en faible quantité, voir à l'état de trace. Il s'agit de la vitamine C présente dans certains miels (miel de menthe) et des vitamines de groupe B, tels que les vitamines B1 (la thiamine), B2 (la riboflavine), B3 (l'acide nicotinique), B5 (l'acide pantothénique), B6 (la pyridoxine), B8 (la biotine) et B9 (l'acide folique). Il contient également de la vitamine K (la phyllochinone) et la vitamine E (l'a-tocophérol). Ces vitamines sont issues essentiellement de pollen. Cependant, le miel ne contient pas des vitamines liposolubles (vitamine A et D) (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010; Hochet, 2002).

IV.2.6. Sels minéraux

La matière minérale varie de 0,05 % dans les miels clairs à 1,5 % dans les miels foncés. Le potassium représente près de la moitié des minéraux et le magnésium et le zinc sont systématiquement présents dans tous les miels. D'autres sels minéraux (l'argent, le baryum, le béryllium, le brome, le calcium, le chrome, le cobalt, le cuivre, le fer, le lithium, le manganèse, le molybdène, l'or, le palladium, le phosphore, le potassium, le rubidium, le scandium, le silicium, le sodium, le soufre, le strontium, le titane, le vanadium et le zirconium) ne sont pas présents ensemble dans tous les miels (Bogdanov *et al.*, 2004; Lachman *et al.*, 2007).

Le miel peut contenir également des polluants en très faible quantité (plomb et cadmium) et leur dosage constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement où le miel est collecté. La teneur du miel en minéraux dépend de la nature du sol et de la composition du nectar, miellat et pollen (Akbari *et al.*, 2012 ; Bogdanov *et al.*, 2004).

IV.2.7. Substances aromatiques

Le miel contient un mélange de plusieurs substances responsables de son arôme et jouent un rôle dans ses propriétés organoleptiques. Parmi ces composés aromatiques identifiés dans le miel : les alcools (éthanol, butanol, propanol, méthyl-butanol), les esters (méthylantranlylates, acétates, méthyléthylcétones), les cétones (acétaldéhyde), les acides et les aldéhydes (formaldéhyde). Après la couleur, les arômes jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel par les consommateurs. Cependant, ils ne sont pas stables dans le temps et ils sont sensibles à la chaleur (Ouchemoukh, 2012 ; Bogdanov *et al.*, 2004 ; Sesta *et al.*, 2008).

IV.2.8. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'hydroxyméthylfurfural est un produit de déshydratation du fructose et du glucose en milieu acide (figure 2). Le miel frais présente uniquement des traces en ce composé ($<3 \text{ mg kg}^{-1}$) et sa concentration augmente avec le stockage et le chauffage prolongé (tableau I). Avec un traitement thermique à court terme, même à des températures plus élevées, l'augmentation de la teneur en HMF est minimale. Dans le stockage optimal, son taux augmente de 5 à 10 mg kg^{-1} . Le processus de formation de l'HMF dépend essentiellement du pH et de l'origine floral, il se forme à un rythme plus élevé dans le miellat et les miels plus foncés en raison du pH plus élevé. La concentration en HMF est utilisée comme indicateur de la fraîcheur et de surchauffage du miel (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Cozzolino *et al.*, 2011).

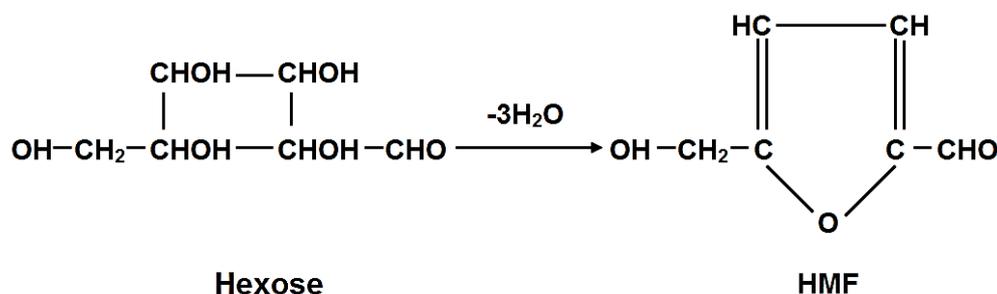


Figure 2 : Processus de la formation de l'HMF (Shapla *et al.*, 2018).

Tableau I : Durée nécessaire pour la formation de 40 mg d'HMF dans 1 kg de miel en fonction de la température de stockage (Bogdanov *et al.*, 2004).

Température (° C)	Durée de formation de 40 mg d'HMF par 1 kg de miel
4	20 - 80 ans
20	2 - 4 ans
30	0,5 - 1 an
40	1 - 2 mois
50	5 - 10 jours
60	1 - 2 jours
70	6 - 20 heures

IV.2.9. Composés phénoliques

Les composés phénoliques forment l'un des groupes les plus importants des métabolites secondaires des plantes. Ils sont présents dans le miel sous forme d'acides phénoliques et de flavonoïdes et ils proviennent essentiellement du nectar des fleurs, du pollen, de la propolis et de la cire. Les composés phénoliques du miel contribuent aux propriétés organoleptiques (couleur, goût et arôme) et aux activités biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, antiinflammatoire...) du miel. Plusieurs études ont montré que les miels foncés contiennent des concentrations plus élevées en composés phénoliques par rapport aux miels clairs (**Ouchemoukh et al., 2017**).

IV.3. Eléments figurés

IV.3.1. Pollen

IV.3.1.1. Définition et composition chimique

Le pollen est un élément mâle des plantes à fleurs et il se présente sous forme de grains microscopiques contenus dans les anthères des étamines. Il constitue la principale source de protéines pour l'abeille. Un grain de pollen contient en moyenne 36 % de glucides, 20 % de protéides (50 % sont des acides aminés), 11 % d'eau, 5 % de lipides et 3 % de sels minéraux (K, Mg, Ca, Fe...). Il contient aussi des pigments (caroténoïdes) et quelques vitamines (B, C, D, E, et A). Les abeilles ouvrières butinent les fleurs pour en soutirer le nectar et accumulent également le pollen de diverses espèces végétales qu'elles rapportent ensuite à la ruche afin de l'utiliser comme nourriture (**Le Conte, 2002**).

IV.3.1.2. Méliissopalynologie

La méliissopalynologie ou l'analyse pollinique est une science qui permet l'étude des grains de pollen dans le miel pour identifier la source florale, les pourcentages des pollens des différentes espèces, l'origine géographique et des éventuelles fraudes (**Ouchemoukh, 2012**). La figure 3 représente quelques familles de pollen obtenues de la banque de données numériques de centre d'études techniques apicoles de Moselle.

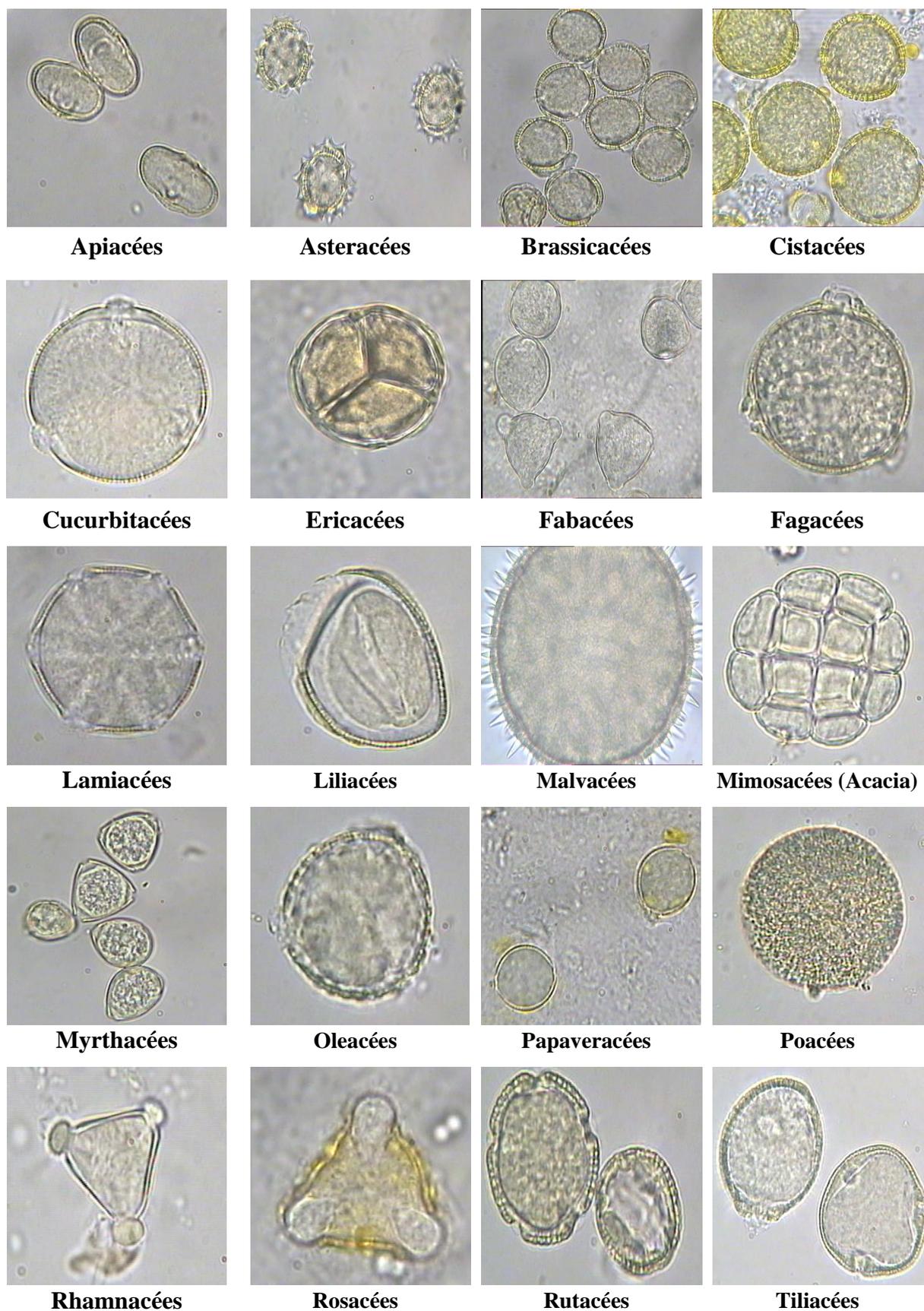


Figure 3 : Photos de grains de pollen présents dans le miel fournies par CETAM (Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle, France).

IV.3.2. Microorganismes

Le miel contient des microorganismes qui lui sont propre. Cette flore microbienne est représentée par les bactéries mésophiles de genre *Bacillus* qui se trouve généralement sous forme de spores et qui se développent à température entre 25 et 40° C. Ces bactéries ne présentent pas de pouvoir pathogène pour l'homme mais elles peuvent être néfastes pour les abeilles (Assie, 2004).

Le miel renferme également des levures banales sous forme de champignons filamenteux (*Aspergillus*) et des levures osmophiles qui peuvent croître dans des milieux sursaturés en sucres. La flore osmophile est représentée essentiellement par les *Saccharomyces* responsables de la fermentation alcoolique du miel. Ces levures proviennent des pattes, langues et jabots des abeilles, des pollens et des nectaires floraux. Le miel peut aussi être contaminé lors de la manipulation par l'homme ou par l'air et la poussière. Les germes introduits sont généralement des Entérocoques, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* et *Clostridium botulinum* (Assie, 2004 ; Snowdon *et al.*, 1996).

V. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques

V.1. Propriétés organoleptiques

V.1.1. Couleur

La coloration du miel est une caractéristique sensorielle importante qui représente la propriété physique immédiatement perçue par le consommateur et qui détermine en partie son choix. Il peut aller d'une teinte presque incolore (miels d'acacia, de lavande et de romarin) au brun foncé (miels de chêne, de sarrasin et de bourdaine). La coloration de miel dépend de sa teneur en composés phénoliques, caroténoïdes, acides aminés (tyrosine et tryptophane) et minéraux. Le miel prend une coloration foncée lors de stockage à la lumière et/ou à la chaleur (Bogdanov *et al.*, 1999 ; Petretto *et al.*, 2017).

V.1.2. Texture

Le miel peut se présenter sous plusieurs textures (liquide, solide, pâteux...). Au moment de l'extraction, il est parfaitement liquide. Cependant, avec le temps certains miel se cristallisent rapidement (miels de luzerne, de trèfle, de colza et de bruyère) et d'autres restent plus longtemps liquides (miels de châtaignier, d'oranger, de sapin et de tilleul) (Hoyet, 2005).

Les spectres organoleptiques des miels monofloraux restent les plus étudiés par rapport aux miels polyfloraux et aux miels exotiques (tableau II). Il existe certaines différences olfactives et gustatives aussi pour les miels de même type floral, ces variabilités sont liées à l'année de production, à l'origine géographique et au niveau de pureté (Bruneau *et al.*, 2000).

Tableau II : Goût et arômes de quelques miels monofloraux (Bruneau *et al.*, 2000).

Miel	Goût	Arôme
Lavande	Forte sucrosité, légèrement acide et le goût est très persistant dans la bouche.	Arômes des notes fruitées d'amandes et de fruit de la passion, des arômes végétaux : foin, paille de lavande et lavande.
Bruyère blanche	Très amer, légèrement sucré et peu acide est très persistant dans la bouche.	Arômes de caramel lacté, de vin cuit, de cuir, de bergamote et de réglisse.
Châtaignier	Amer, peu acide, sucré, intense et persistant dans la bouche.	Arômes de pomme blette, de foin, de bois mouillé, de tabac et de cuir.
Sapin	Légèrement sucré, sans amertume et sans acidité, collant en bouche et peut persistant.	Arômes de l'encens, de malt, cèdre, de sirop d'érable, des fruits mûrs, de lait concentré et du vinaigre balsamique.
Acacia	Sucré, peu amer, peut acide et persistant dans la bouche.	Arômes de fleurs (robinier) associés à des arômes de vanille, de champignon, de cire d'abeille et de cacao.
Arbousier	Très amer, sucré, peu acide et très persistant dans la bouche.	Arômes phénolique (pétrole), empyreumatique (grillé, fumé), de café brûlé et de végétaux torréfiés.
Tournesol	Acidulé, sucré, frais en bouche et très persistant.	Arômes de paille, de pollen, de végétaux et de l'orange confite.
Tilleul	Sans acidité, légèrement amer, moyennement sucré et persistant dans la bouche.	Arômes très pharmaceutique, mentholés et des notes d'infusion au tilleul.

V.2. Propriétés physico-chimiques

V.2.1. Densité

La densité est définie comme le rapport de la masse du miel avec le même volume d'eau et elle est déterminée avec un densimètre. Il varie entre 1,40 et 1,45 g cm⁻³ à 20 °C (**Ouchemoukh, 2012**).

V.2.2. Viscosité

La viscosité se définit comme la résistance à l'écoulement d'une substance. Le miel est un liquide visqueux et sa viscosité varie en fonction de la température. À basse température, sa viscosité augmente, tandis qu'à température élevée celle-ci décroît. Il dépend essentiellement de la teneur en eau, de la composition chimique et de la température du miel. La viscosité du miel est inférieure à 100 poise à une température entre 30 et 35° C (**Bogdanov et al., 2004 ; Ouchemoukh et al., 2007**).

V.2.3. Hygroscopie

Le miel est très hygroscopique ce qui signifie que lorsqu'il est exposé à l'air, il absorbe naturellement l'humidité quand celle-ci est supérieure à 60 %. En effet, c'est le glucose qui possède la plus grande capacité hygroscopique. Un miel avec une teneur d'eau de 18 % peut atteindre une hygrométrie de 55 % juste en trois mois d'exposition à l'humidité (**Bogdanov et al., 1999; Huchet et al., 1996**).

V.2.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique du miel correspond à sa capacité à conduire le courant électrique. Il permet de différencier entre les miels de nectar (<0,80 mS cm⁻¹) et les miels de miellat (>0,80 mS cm⁻¹). Elle dépend de l'acidité du miel et de sa teneur en minéraux, acides organiques et glucides. Les miels foncés présentent généralement la conductivité électrique et la teneur en minéraux la plus importante par rapport aux miels clairs (**Alqarni et al., 2012 ; Bogdanov et al., 1995 ; Bogdanov et al., 2004**).

V.2.5. pH et acidité

La plupart des miels sont acides et leur pH est compris entre 3,5 et 5. Les miels de nectar sont légèrement plus acides et ont un pH qui varie de 3,5 à 4,5. Les miels de miellat sont moins acides et leur pH est supérieur à 4,5. L'acidité du miel est un critère de qualité et elle donne des informations importantes sur son état.

Elle est due à la présence des acides organiques (acides gluconique), acides aromatiques et ions inorganiques (phosphate, chlorure). Son acidité dépend de la flore butinée, des sécrétions salivaires des abeilles et des processus enzymatiques pendant la maturation du miel (**Belhadj et al., 2015 ; Bogdanov et al., 2004 ; Mbogning et al., 2011**).

V.2.6. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est un paramètre important pour différencier les miels de nectar de ceux de miellat. Il permet aussi de révéler les échantillons falsifiés. Les miels de miellat et les miels adultérés avec du saccharose et de maltose sont dextrogyres (dévient la lumière à droite). En revanche, les miels de nectar sont lévogyres (dévient la lumière à gauche). Cette capacité à dévier la lumière polarisée est due essentiellement aux carbone asymétrique des glucides, le glucose et le fructose ont des valeurs de pouvoir rotatoire négative (lévogyre) tandis que le saccharose a une valeur positive (dextrogyre) (**Lakshminarayana et al., 2017 ; Ouchemoukh, 2012**).

VI. Fraudes

Le miel fait partie des neuf aliments avec le plus de cas déclarés de falsification pour motifs économiques. Cette falsification a augmenté au cours des dernières années en raison des prix élevés du produit, de la disponibilité d'adultérants bon marché et de l'obsolescence des méthodes officielles de détection des fraudes (**Garcia, 2016**).

VI.1. Aspect juridique

Selon le Codex Alimentarius et la directive de l'Union Européenne (2001/110/CE du Conseil du 20 décembre 2001 relative au miel), le miel destiné au marché en tant que tels :

- ne doit pas contenir d'ingrédient alimentaire, y compris des additifs alimentaires, et seul du miel pourra y être ajouté,
- ne doit pas avoir de matière, de goût, d'arôme ou de contamination inacceptable provenant de matières étrangères absorbées durant sa transformation et son entreposage,
- ne doit pas avoir commencé à fermenter ou être effervescent,
- ni le pollen ni les constituants propres au miel ne pourront être éliminés sauf si cette procédure est inévitable lors de l'élimination des matières inorganiques ou organiques étrangères,

- ne doit pas être chauffé ou transformé à un point tel que sa composition essentielle soit changée et/ou que sa qualité s'en trouve altérée,
- aucun traitement chimique ou biochimique ne doit être utilisé pour influencer la cristallisation du miel,
- ne doit pas être séché à l'extérieur des ruches d'abeilles,
- le miel est désigné en fonction de la source florale ou végétale, ou par le nom d'une région géographique ou topologique, le nom du pays où le miel a été produit doit être indiqué.

VI.2. Type de fraudes

VI.2.1. Fraudes concernant la qualité

La production frauduleuse du miel par altération de sa qualité se produit par l'ajout des substances externes, le plus souvent du sucre ou par la modification des conditions de récolte et de traitement (**Páczay, 2018**).

VI.2.1.1. Adultération

L'adultération est une pratique qui consiste à altérer la qualité du miel par l'ajout de substances étrangères (sucres, eau, sel, matières colorantes, pollens...), aboutissant à un produit qui ne correspond plus à la définition légale de ce produit de la ruche. L'adultération du miel peut être effectuée après récolte par l'ajout de sirop de sucre directement dans le miel récolté ou avant la récolte et par nourrissage des abeilles en période de miellée. Ces pratiques modifient le profil des sucres du miel récolté (**Páczay, 2018**).

VI.2.1.2. Pratiques non conformes de récolte et de traitement

Certaines pratiques frauduleuses visant à augmenter le volume du miel ou à masquer sa non-conformité sont parfois utilisées par les apiculteurs. Par exemple, le miel immature est souvent récolté et séché artificiellement. Des sirops de sucres sont ajoutés et les résines sont éliminées par ultrafiltration. L'étape finale consiste à ajouter des pollens d'origine botanique ou géographique différents pour la tromperie dans l'origine réelle. Cette méthode permet de produire plus du miel en un temps court par rapport à la procédure conventionnelle. Cependant, le produit final ne correspond plus à la définition légale du miel (**Páczay, 2018**).

VI.2.2. Fraudes concernant la description

Ce type de falsification consiste à mentionner sur l'étiquette des fausses indications sur les origines botanique et géographique, les critères de qualité et l'indication inappropriée des ingrédients du miel (Páczay, 2018).

VI.3. Méthodes d'analyse de l'adultération du miel

VI.3.1. Détection microscopique

La détection microscopique est une méthode simple et moins coûteuse et elle consiste à préparer une lame de l'échantillon du miel et à utiliser le sédiment dans de la gelée de glycérine. La lecture de la lame se fait au microscope photonique de la même manière que dans l'analyse pollinique. C'est une bonne méthode pour la détection de l'adultération du miel avec de sucre de canne et elle permet de détecter dans ce miel des cellules parenchymateuses et épidermiques. L'examen microscopique permet de mettre en évidence des adultérations du miel avec du sucre de canne brute et raffiné jusqu'à un seuil de 1 à 2 % (Kerkvliet *et al.*, 1995 ; Sivakesava et Irudayaraj, 2001).

VI.3.2. Analyse du rapport isotopique du carbone stable (ARICS)

L'analyse du rapport isotopique du carbone stable est une technique qui permet de déterminer le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ à l'aide de la spectrométrie de masse. Ce rapport est différent dans les plantes qui ont un cycle de photosynthèse du groupe métabolique dit C4 (le maïs et la canne à sucre), par rapport aux nectars récolté par les abeilles qui provient des plantes qui ont un cycle de photosynthèse C3. Les plantes en C3 fixent le CO_2 atmosphérique en utilisant le cycle de Calvin et elles ont un rapport $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ inférieur aux plantes en C4 qui fixent le CO_2 à l'aide du cycle Hatch-Slack. L'ajout de sirop de maïs ou canne à sucre conduit donc à une augmentation du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du mélange par rapport à ces valeurs initiales (Martin *et al.*, 1998 ; Velázquez *et al.*, 2009).

VI.3.3. Caractérisation des protéines

La caractérisation des protéines est une méthode qui permet de distinguer les principales protéines du miel qui ont des poids moléculaires différents selon l'espèce d'abeille (Mehryar et Esmaili, 2011).

VI.3.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (FTIR-ATR)

Le FTIR-ATR est un outil puissant de contrôle et une alternative rapide, non destructive et moins coûteuse pour la caractérisation qualitative. La plupart des analyses FTIR sont associées à des analyses statistiques avancées (analyses multivariées) pour détecter des différences entre les miels authentiques et falsifiés et l'analyse des données spectrales fait souvent recours à la chimiométrie. Parmi ces analyses statistiques, l'analyse en composantes principales (ACP), l'analyse discriminante linéaire (ADL), l'analyse des variables canoniques (AVC), les moindres carrés partiels (MCP) et la régression en composantes principales (RCP) sont les plus utilisées (Anjos *et al.*, 2015 ; Velázquez *et al.*, 2009).

VI.3.5. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'analyse par HPLC est considérée comme méthode remplacement de l'analyse isotopique qui présente certaines limites. Elle permet de détecter les valeurs aberrantes par rapport aux valeurs standards des différents composés du miel. La chromatographie des glucides est l'une des méthodes les plus utilisées pour évaluer l'authenticité du miel (Sivakesava et Irudayaraj, 2001).

VI.3.6. Spectroscopie de proche infrarouge (NIR)

L'analyse par spectroscopie de proche infrarouge peut fournir une quantification simultanée, rapide et non destructive des principaux composants de nombreuses substances organiques et elle peut être utilisée comme technique de criblage dans le contrôle de qualité du miel. D'une manière générale, la spectroscopie NIR permet l'évaluation de la structure chimique des miels dans le proche infrarouge (1100 et 2500 nm) (Cozzolino, 2009 ; Kelly *et al.*, 2006).

VI.3.7. Chromatographie d'échange d'anions haute performance avec détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD)

Le principe de cette méthode est basé sur un échange d'ions sur résine et elle permet la séparation, l'identification ionique dans des mélanges et la quantification des sucres simples (glucose, galactose, fructose,...). Cette méthode peut être également utilisée pour détecter de faibles niveaux (0 à 5 %) de sirop de maïs à haute teneur en fructose, d'hydrolysats de sucre de canne et/ou de betterave (Morales *et al.*, 2008 ; Sivakesava et Irudayaraj, 2001).

VI.3.8. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à rapport isotopique (HPLC-IRMS)

L'HPLC-IRMS est une nouvelle technique qui présente des avantages par rapport aux méthodes existantes en terme de temps d'analyse, de sensibilité, de préparation des échantillons, de consommation réduite de réactifs et de simplicité de la procédure opératoire. De plus, c'est la première méthode isotopique développée qui permet la détection de l'addition de sucre de betterave (Cabañero *et al.*, 2006).

VI.3.9. Méthodes d'analyses calorimétriques différentielles (DSC)

La DSC est une technique puissante pour caractériser le comportement thermique des miels et pour détecter l'effet de l'adultération sur les propriétés physico-chimiques et structurales des miels (Mehryar et Esmaili, 2011).

VI.3.10. Spectroscopie Raman à transformée de Fourier (FT-Raman)

La spectroscopie FT-Raman est applicable avec succès pour détecter les sirops inversés de betterave et de canne à sucre. Cette méthode peut également être utilisée pour discriminer les types d'adultérant indépendamment de leur origine florale (Paradkar et Irudayaraj, 2001).

Chapitre II
Composés bioactifs et propriétés
biologiques

Chapitre II. Composés bioactifs et propriétés biologiques

I. Composés bioactifs

I.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires issus des végétaux et ils représentent la classe la plus importante des molécules bioactives produites par les plantes vasculaires. Ils constituent plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante et sont issus de deux principales voies de synthèse : les voies shikimate et acétate (Da saliva *et al.*, 2016 ; Lugasi *et al.*, 2003). Ils sont caractérisés par une structure qui porte un noyau benzénique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles qui peuvent être glycosylés, acylés ou méthylés (Macheix *et al.*, 2005).

I.1.1. Acides phénoliques

La nomination acide phénolique désigne les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique et ils ne comportent pas de squelette flavane. Généralement, ce nom est réservé aux dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (Pandey et Rizvi, 2009).

I.1.1.1. Phénols simples

Les phénols simples sont des composés rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui est présent dans plusieurs familles de plantes (*Ericaceae* et *Rosaceae*). Le composé de base du groupe est le phénol qui possède un noyau phényle et une fonction hydroxyle (Michalowicz et Duda, 2007). Les principaux phénols simples sont présentés dans la figure 5.

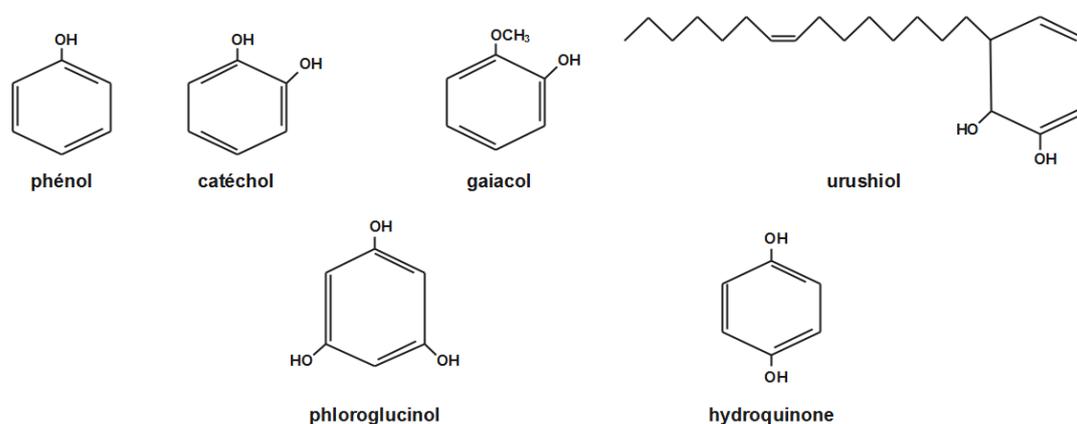
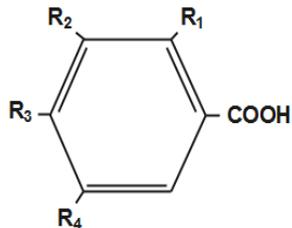


Figure 5 : Structure chimique de quelques phénols simples (Michalowicz et Duda, 2007).

I.1.1.2. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et ils sont constitués d'un squelette C6-C1. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou combinée à l'état d'ester ou d'hétérosides. Les principaux représentants des hydroxybenzoïates sont les acides gallique, salicylique et vanillique (figure 6) (Borchers *et al.*, 2000 ; Bruneton, 2008).

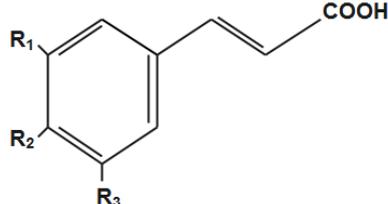


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Nome de composé
H	H	H	H	acide benzoïque (non phénolique)
H	H	H	OH	acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
H	H	OH	OH	protocatéchique
H	OCH ₃₊	OH	H	acide vanillique
H	OH	OH	OH	acide gallique
H	OCH ₃₊	OH	OCH ₃₊	acide syringique
OH	H	H	H	acide salicylique
OH	H	H	OH	acide gentisique

Figure 6 : Structure chimique de quelques acides hydroxybenzoïques (Macheix *et al.*, 2005).

I.1.1.3. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques sont des dérivés hydroxylés de l'acide cinnamique et ils sont composés d'un squelette C6-C3. Ces phénols sont les plus abondants dans le règne végétal et le plus souvent sont sous forme estérifié. Les plus répandus sont essentiellement les acides caféique, *p*-coumarique, férulique et sinapique (figure 7) (Pandey et Rizvi, 2009).



R ₁	R ₂	R ₃	Nome de composé
H	H	H	acide cinnamique (non phénolique)
H	OH	H	acide <i>p</i> -coumarique
OH	OH	H	acide caféique
OCH ₃₊	OH	H	acide férulique
OCH ₃₊	OH	OCH ₃₊	acide sinapique

Figure 7 : Structure chimiques de quelques acides hydroxycinnamiques (Rocha *et al.*, 2012).

I.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette en C6-C3-C6 qui correspond à la structure de diphenylpropane. C'est un très vaste groupe de composés dont l'élément structural commun possède deux cycles aromatiques (A et B) liés par un hétérocycle oxygéné (C) (figure 8) (Balasandram *et al.*, 2006).

Le cycle A est appelé le noyau phloroglucinol qui comporte des groupements hydroxyles en 5 et 7. Le cycle B est souvent substitué d'un groupement hydroxyle en 4' (noyau *p*-phénol) et d'un hydroxyle supplémentaire en 3' (noyau catéchol) ou deux hydroxyles en 3' et 5' (noyau pyrogallol). Le niveau d'oxydation et les positions des substituants de cycle central C (pyrane) permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (flavanones, flavones, isoflavones, flavonols et flavanols) et leur structures chimiques sont rapportés dans la figure 9 (Skerget *et al.*, 2005).

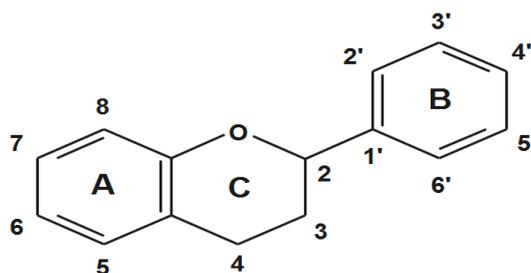


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (Cianciosi *et al.*, 2018).

I.1.2.1. Flavanones

Les flavanones sont caractérisés par l'absence d'insaturation au niveau de l'hétérocycle et la présence d'un centre chiral en C2. Dans la majorité de ses formes naturelles, le cycle C est attaché au cycle B en C2 dans la configuration α . Ils peuvent subir des réactions d'hydroxylation, de glycosylation et d'O-méthylation. Les flavanones est un groupe minoritaire des flavonoïdes et ils sont rarement présents dans les fruits mais ils sont abondants dans les agrumes. L'hésperidine se trouve dans les écorces d'agrumes, la néohesperidine dans l'orange amère (*Citrus aurantium*), la naringénine dans l'écorce de pamplemousse (*Citrus paradisia*) et l'ériodictyol dans le citron (Crozier *et al.*, 2006 ; Wollenweber *et al.*, 2000).

I.1.2.2. Flavones

Les flavones, telles que la lutéoline et l'apigénine, présentent une large gamme des substitutions de cycle A et C (l'hydroxylation, la méthylation, la O- et C -alkylation et la glycosylation) et elles manquent d'oxygénation en C3. La plupart des flavones se présentent sous forme de 7-O-glycosides et sont responsables de l'aspect blanc ou ivoire de certaines fleurs. Contrairement aux flavonols, ils ne sont pas largement distribués, des occurrences significatives étant signalées uniquement dans le céleri, le persil et certaines herbes. Des flavones polyméthoxylées (nobilétine et mandarine) sont trouvées dans les espèces d'agrumes (Crozier *et al.*, 2006).

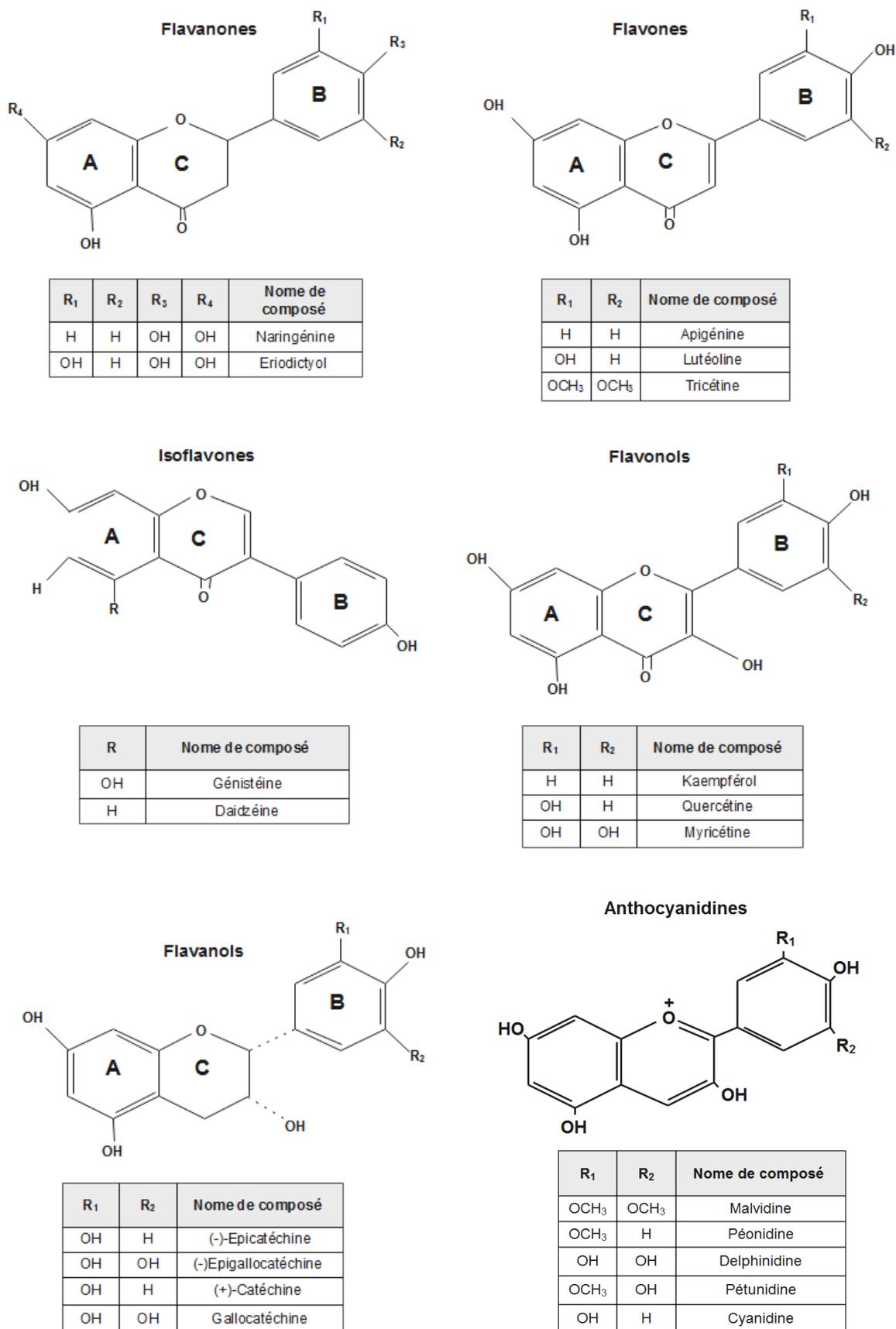


Figure 9 : Structure chimique de quelques classes de flavonoïdes (Aruoma *et al.*, 2003).

I.1.2.3. Isoflavones

Les isoflavones se caractérisent par le fait que le cycle B est fixé en C3 plutôt qu'en position C2. Ils sont présents presque exclusivement dans les légumineuses dont les concentrations les plus élevées se trouvent dans le soja. Les isoflavones les plus connus sont : la génistéine, la daidzéine, le coumestan, le coumestrol et la luzerne (**Crozier *et al.*, 2006**).

I.1.2.4. Flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus répandus car ils sont présents dans tout le règne végétal à l'exception des champignons et des algues. Ces phénols sont caractérisés par une chaîne insaturée de 3 carbones, comprenant une double liaison entre les C2 et C3. Les flavonols tels que la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol sont le plus souvent sous forme d'O-glycosides. La conjugaison se produit le plus fréquemment en position 3 du cycle C mais des substitutions peuvent également se produire aux positions 5, 7, 4',3' et 5' du cycle carboné. Le kaempférol seul présente plus de 200 conjugués de sucres différents. Ces flavonoïdes sont présent dans les fruits, légumes et boissons couramment consommés (**Crozier *et al.*, 2006**).

I.1.2.5. Flavanols

Les flavanols sont la sous-classe la plus complexe de flavonoïdes allant des monomères simples (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, aux proanthocyanidines oligomères et polymères. Les deux centres chiraux en C2 et C3 des flavanols produisent quatre isomères pour chaque niveau d'hydroxylation du cycle B, dont deux, (+)-catéchine et (-)-épicatéchine, sont répandus dans la nature alors que (-)-catéchine et (+)-épicatéchine sont relativement rares. (**Auger *et al.*, 2004 ; Crozier *et al.*, 2006 ; Del Rio *et al.*, 2004**).

I.1.2.6. Anthocyanidines

Les anthocyanidines, principalement sous forme de leurs dérivés conjugués, les anthocyanes, sont largement dispersées dans tout le règne végétal. Ils sont présents dans les tissus des fruits, des fleurs, des feuilles, des tiges, des graines et des racines où elles sont responsables des couleurs rouge, bleue et violette. Ces pigments naturels participent à la protection des plantes contre une lumière excessive. Les anthocyanidines les plus courantes sont la pélagonidine, la cyanidine, la delphinidine, la peonidine, la pétunidine et la malvidine. Dans les tissus végétaux, ces composés se trouvent invariablement sous forme de conjugués de sucre appelés anthocyanes (**Crozier *et al.*, 2006**).

I.1.3. Coumarines

Les coumarines appartiennent à une famille très répandue de métabolites végétaux appelés benzopyranones, avec plus de 1500 représentants dans plus de 800 espèces. Ces composés sont présents dans les graines, les fleurs, les fruits, les feuilles et les tiges, bien que, la grande partie s'accumule dans les fruits et les fleurs. La structure chimique de la coumarine se présente sous forme hétérocycle, produit par la combinaison d'un noyau benzène avec un pyrane, présentant une fonction cétone en position α par rapport à l'oxygène (figure 10) (Kostova, 2005 ; Kubrak *et al.*, 2017 ; Tiwari et Rana, 2015).

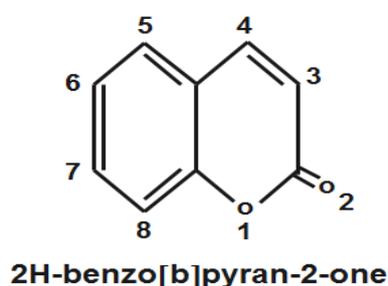


Figure 10 : Structure chimique de la coumarine (Kostova *et al.*, 2011).

Les coumarines est une grande famille de composés qui se forme par la substitution de cycle aromatique de l'unité de départ qui est la coumarine. Ils sont présents essentiellement dans le miel, le thé vert et la cannelle (Crozier *et al.*, 2006).

I.1.4. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau dont le poids moléculaire varie de 500 à 3000 Daltons. Ils ont la capacité de se lier aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Khanbabaee et Ree, 2001). Structuellement, ils sont subdivisés en deux groupes (les tanins hydrolysables et les tanins condensés).

I.1.4.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des hétéropolymères, composés d'esters d'acide gallique (cas des gallotannins) ou d'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitannins), liés à une fraction de sucre. Il s'agit le plus souvent de D-glucose (Kraus *et al.*, 2003).

I.1.4.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont appelés également proanthocyanidines car leur oxydation entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines et les delphinidines. Ils sont des polymères de flavanols à trois cycles liés par des liaisons C-C. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3ols (Catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (Leucoanthocyanidines) (**Khanbabaee et Ree, 2001**).

I.1.5. Composés phénoliques du miel

Les polyphénols du miel proviennent essentiellement des plantes butinées par les abeilles ou au contact avec la propolis dans la ruche (**Čanadanovic-Brunet et al., 2014; Liu et al., 2013**).

Les principaux composés phénoliques des miels sont les flavonoïdes (apigénine, chrysin, galangine, hespérétine, kaempférol, lutéoline, myricétine, pinobankine, pinocembrine, quercétine et tricétine) et les acides phénoliques (acides caféique, chlorogénique, coumarique, ellagique, phényllactique, férulique, gallique, protocatécique, syringique et vanillique). Si certains des composés phénoliques tels que la quercétine, la galangine, le kaempférol, l'isorhamnétine et la lutéoline se retrouvent dans la plupart des échantillons du miel, d'autres, comme l'hespérétine et la naringénine, sont présents dans quelques variétés du miel (**Campone et al., 2014 ; Olas, 2020**). Les composés phénoliques de certains miels sont rapportés dans le tableau III.

Des études récentes ont montré que le miel possède des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses et antidiabétiques et des activités protectrices des systèmes nerveux, cardiovasculaire, gastro-intestinal et respiratoire. La plupart des activités biologiques du miel sont attribuées aux composés phénoliques qui le composent. Ces substances telles que l'apigénine, la quercétine, la catéchine et la lutéoline inhibent l'agrégation des plaquettes sanguines en se liant au récepteur de la thromboxane A2. La chrysin, qui est un flavonoïde naturel présent en forte concentration dans différents types du miel, possède un effet cardioprotecteur par l'inhibition de l'apoptose des cardiomyocytes, la diminution de la synthèse des lipides et l'augmentation de métabolisme des lipides. La lutéoline, la quercétine, l'apigénine, le kaempférol, la chrysin et la galangine sont considérés comme des agents préventifs et thérapeutiques des maladies neurodégénératives impliquant une neuroinflammation (**Candiracci et al. 2012 ; Cianciosi et al., 2018 ; Olas, 2020**).

Tableau III : Composition de quelques types du miel en acides phénoliques et en flavonoïdes (Cianciosi *et al.*, 2018 ; Ouchemoukh *et al.*, 2017 ; Kivrak et Kivrak, 2017).

	Composés phénoliques	Formule brute	Type du miel
Flavonoïdes	Apigénine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	<i>Acacia</i> , Tualang, Fraise, <i>Eucalyptus</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i>
	Catéchine	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Tualang, Pin
	Chryisine	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Bruyère, Thym, Romarin,
	Galangine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Fraise, Bruyère
	Génistéine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	<i>Acacia</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i>
	Isorhamnétine	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	<i>Manuka</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i> , <i>Trifolium</i>
	Kaempférol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Fraise, Thym, Romarin, <i>Citrus</i>
	Lutéoline	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Fraise, Thym, Romarin, <i>Eucalyptus</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i>
	Myricétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	<i>Acacia</i> , Bruyère, Thym
	Pinobanksine	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Fraise, Romarin
	Pinocembrine	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Fraise, Romarin
	Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Trèfle, Thym
Rutine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Fraise, Lavande, Cèdre, <i>Eucalyptus</i> , Pin, Tournesol, <i>Citrus</i>	
Acides phénoliques	Acide 2-Hydroxycinnamique	C ₉ H ₈ O ₃	Tualang, <i>Eucalyptus</i> , Cèdre, Pin, Thym
	Acide cafféique	C ₉ H ₈ O ₄	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Thym
	Acide chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	<i>Acacia</i> , Bruyère, Thym
	Acide cinnamique	C ₉ H ₈ O ₂	Tualang, Fraise, Trèfle, Bruyère, Thym
	Acide ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈	Bruyère, <i>Acacia</i>
	Acide férulique	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Bruyère, Thym
	Acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Bruyère, Thym, Pin, <i>Eucalyptus</i> ,
	Acide <i>p</i> -coumarique	C ₉ H ₈ O ₃	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Bruyère, Thym, Romarin, Pin, <i>Eucalyptus</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i> , <i>Trifolium</i>
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	C ₇ H ₆ O ₃	Trèfle, Bruyère, Citron, Châtaignier, Lavande
	Acide protocatéchique	C ₇ H ₆ O ₄	Bruyère, Pin
	Acide syringique	C ₉ H ₁₀ O ₅	<i>Manuka</i> , <i>Acacia</i> , Tualang, Fraise, Bruyère, Thym
	Acide vanillique	C ₈ H ₈ O ₄	<i>Acacia</i> , Bruyère, <i>Eucalyptus</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Citrus</i> , <i>Trifolium</i>

I.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels et liposolubles avec plus de 750 structures différentes. Ils peuvent se présenter sous forme libre ou estérifiée avec des acides gras tels que les acides palmitique, stéarique et linoléique. La plupart des caroténoïdes partagent des pigments tétraterpénoïdes C₄₀ (C₄₀H₅₆) et ils se composent de huit unités iso-prénoïdes réunies de manière spécifique de sorte que l'organisation des unités isoprénoïdes est réservée au centre de la molécule (**Langi et al., 2018 ; Sathasivam et al., 2020**).

Les doubles liaisons conjuguées très étendues des caroténoïdes les rendent idéaux comme pigments accessoires dans les étapes de collecte de lumière de la photosynthèse. Les mêmes systèmes de doubles liaisons conjuguées sont responsables de la coloration intense des caroténoïdes, propriété que les plantes exploitent comme pigments pour attirer les insectes, les oiseaux et les animaux vers leurs fleurs et leurs fruits. Les carotènes (l' α -carotène, la β -carotène et la lycopène) et les xanthophylles (la lutéine, la zéaxanthine...) sont les principaux groupes de caroténoïdes (figure 11) (**Crozier et al., 2006 ; Langi et al., 2018**).

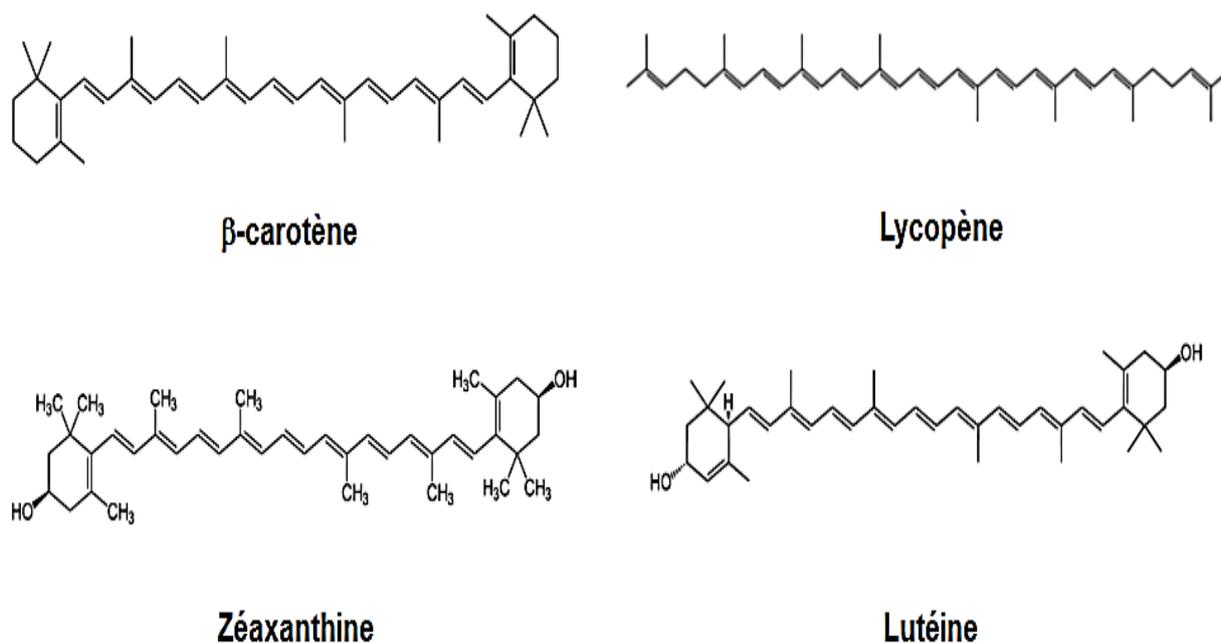


Figure 11 : Structures chimiques de quelques caroténoïdes (**Langi et al., 2018**).

II. Propriétés biologiques

II.1. Effet antioxydant

Le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif. Les radicaux libres provoquent des dommages au niveau des protéines et de l'ADN. Ils sont directement impliqués dans l'initiation aux phénomènes de réactions d'oxydations en chaîne dans l'organisme humain. Ces altérations peuvent conduire à des différentes pathologies comme l'athérosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, la dégénérescence musculaire, l'altération de la cicatrisation de la plaie et les maladies inflammatoires gastro-intestinales (Aljadi et Kamaruddin, 2004 ; Goodarzi et Khosravi, 2013).

Le miel est une source naturelle en antioxydants qui contient des antioxydants enzymatiques (catalase, glucose-oxydase et peroxydase) et non enzymatiques (acide ascorbique, flavonoïdes, caroténoïdes et acides phénoliques). Les antioxydants du miel possèdent les propriétés d'empêcher des réactions d'auto-oxydation et l'effet de neutraliser des radicaux libres par différents mécanismes dont la plupart fonctionne ensemble pour fournir un effet antioxydant synergique (Al *et al.*, 2009 ; Ferreira *et al.*, 2009).

Les enzymes antioxydantes qui catalysent les réactions de neutralisation des radicaux libres ont besoin de cofacteurs tels que le sélénium, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse pour une activité catalytique optimale. La superoxyde dismutase catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), la catalase accélère la réaction de transformation de l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2), tandis que la glutathion peroxydase joue un rôle de détoxification de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et d'hydroperoxydes lipidiques (ROOH) (Ouchemoukh, 2012 ; Percival, 1998).

Les antioxydants d'origine alimentaire empêchent la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou ils les éliminent avant qu'elles ne puissent endommager les composants vitaux de la cellule. Les composés phénoliques ont la capacité à inhiber la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique en cédant leurs atomes d'hydrogène (H^+) aux radicaux peroxydes (LOO^{\cdot}) pour former des radicaux plus stable ($LOOH$). Les caroténoïdes tels que le lycopène et la lutéine ont la capacité de piéger l'oxygène singulet (1O_2), de protéger contre les radiations UV et d'empêcher la peroxydation lipidique (Kähkönen *et al.*, 1999 ; Stahl et Sies, 2004).

La vitamine C est considérée comme un antioxydant hydrosoluble capable de neutraliser les ERO dans la phase aqueuse avant que la peroxydation lipidique ne soit initiée. La vitamine E (liposoluble) est plus efficace pour rompre l'oxydation en chaîne dans la membrane cellulaire où il protège les acides gras membranaires de la peroxydation lipidique. La vitamine C est également capable de régénérer la vitamine E (**Percival, 1998**).

De nombreuses études ont montré que l'activité antioxydante est fortement corrélée à la couleur du miel et à sa teneur en composés phénoliques. La variation de cette activité est due à la nature quantitative et qualitative des antioxydants qu'il contient (**Aljadi et Kamaruddin 2004 ; Berreta et al., 2005**).

II.2. Effet antibactérien

Les propriétés aseptiques du miel le protègent contre toutes contaminations microbiennes et elle lui donne des importantes propriétés antibactériennes. Le miel possède un large spectre d'activité et il inhibe environ 60 espèces bactériennes Gram positif et Gram négatif (**Ghramh et al., 2019 ; Hegazi et al., 2017**).

Les propriétés antibactériennes du miel sont attribuées aux paramètres physicochimiques (acidité, pression osmotique élevée et faible activité de l'eau). Le peroxyde d'hydrogène reste le facteur antibactérien du miel le plus important et il est produit par la glucose-oxydase. Le miel contient d'autres substances, d'origine végétale, ayant un rôle non négligeable dans l'activité antibactérienne. Ce sont les inhibines non peroxyde dont les acides phénoliques (acides cinnamique et ses esters) et les flavonoïdes (**Moreira et al., 2007**). Les mécanismes d'action antibactérienne du miel sont :

II.2.1. Faible activité de l'eau

L'activité de l'eau mesure les molécules d'eau non liées dans la matrice et elle est considérée comme l'un des principaux paramètres influençant la conservation des aliments et des médicaments. Les micro-organismes tels que les bactéries et les champignons ont besoin des molécules d'eau libre pour effectuer des réactions biochimiques indispensables à leurs croissances. Le miel est caractérisé par une faible activité de l'eau, ce qui signifie qu'il offre une très faible disponibilité en eau pour la croissance de ces micro-organismes. Les valeurs de l'activité de l'eau du miel (0,562 à 0,62) sont inférieures à la plage maximale où la croissance bactérienne est complètement inhibée (0,94 à 0,99) (**Albaridi, 2019**).

II.2.2. Osmolarité

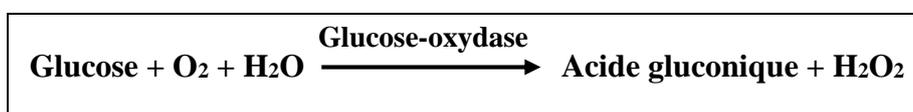
La sursaturation du miel en sucres exerce une pression osmotique sur les cellules bactériennes et provoque le déplacement de l'eau de milieu intracellulaire par le phénomène d'osmose. Les bactéries déshydratées perdent la capacité à croître et à proliférer dans une solution sucrée hypertonique. Le degré d'inhibition de la croissance bactérienne par l'osmose dépend de la concentration du miel en glucides ainsi que des espèces bactériennes testées. Plusieurs études ont montré que *S. aureus* présente une grande tolérance à des solutions hautement concentrées en sucres, ce qui suggère que l'activité antibactérienne du miel doit être également attribuée à d'autres facteurs. Cependant, des solutions de sucres (fructose, glucose, et combinaisons de glucose et de fructose) ont montré un effet inhibiteur sur certaines souches tels que les *Helicobacter pylori* comparable à celui du miel (Albaridi, 2019 ; Zam *et al.*, 2018).

II.2.3. Effet d'acidité

L'acidité du miel avec un pH qui oscille entre 3,5 et 4,5 peut être considérée comme un facteur antibactérien efficace, puisque la plupart des bactéries pathogènes se développent dans un milieu neutre ou légèrement alcalin avec des valeurs de pH qui varient de 6,5 à 7,5. La croissance d'*E coli* et de *Salmonella sp*, par exemple, n'est possible qu'à un pH supérieur à 4,3 et 4, respectivement. L'acidité du miel est principalement attribuée à la présence d'acides organiques tel que l'acide gluconique (Albaridi, 2019 ; Molan, 1999).

II.2.4. Inhibines à activité peroxydique

L'oxydation par voie enzymatique du glucose dans le miel engendre le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'acide gluconique. Cette réaction est catalysée par la glucose-oxydase et elle se déroule comme suivant :



La glucose oxydase est activée lorsque le miel est dilué et le niveau maximal de peroxyde d'hydrogène produit est obtenu à partir d'une dilution de 30 à 50 % du miel. Le peroxyde d'hydrogène contribue d'une façon importante à l'activité antibactérienne du miel, c'est un agent oxydant qui provoque l'oxydation de protéines bactériennes, de l'ADN bactérien et des plasmides (Albaridi, 2019 ; Molan, 1999 ; Tornuk *et al.*, 2013).

II.2.5. Inhibines à activité non peroxydique

Des études qui ont utilisé du miel traité à la catalase pour évaluer l'activité antibactérienne du miel ont mis en évidence le rôle d'autres facteurs importants tels que les inhibines à activité non peroxydique (composés phénoliques, Défensine-1 et MGO) (Albaridi, 2019).

II.2.6.1. Composés phénoliques

La composition du miel en substances phytochimiques issues des différentes sources mellifères sont à l'origine de ses propriétés antibactériennes. Le miel de bruyère, par exemple, contient de la myricétine et celui de tournesol renferme de la quercétine et la pinocembrine. Le miel de thym contient également de thymol, de carvacrol, de linalol, de thuyanol, de l' α -terpinéol et de géraniol. Toutes ces substances sont bactéricides, anti-inflammatoires et antioxydantes. Le miel de sarrasin, riche en composés phénoliques, possède une meilleure activité antibactérienne non peroxyde par rapport à celle des autres miels (Botelha *et al.*, 2007 ; Koechler, 2015).

II.2.6.2. Défensine-1

La défensine-1 est présente dans tous les miels à une concentration de 2 à 3 nanogrammes. C'est un peptide synthétisé par les glandes hypopharyngiennes des jeunes abeilles et il est composé de 51 acides aminés. La défensine-1 est responsable de la majorité des propriétés antibactériennes du miel et elle participe à la résistance des colonies d'abeilles aux agressions des microorganismes. Son mécanisme d'action est basé sur la perturbation des phospholipides membranaires des bactéries, l'agrégation et la destruction de la cellule hôte et l'hydrolyse des protéines microbiennes (Bensignor et Viaud, 2016 ; Danihlík *et al.*, 2016 ; Kwakman *et al.*, 2010).

II.2.6.3. Méthylglyoxal (MGO)

Le MGO est formé par la conversion du di-hydroxyacétone. Il est mis en évidence pour la première dans le miel du *Manuka* qui provient d'un petit arbuste de la famille des *myrtacées* (*Leptospermum scoparium*). La concentration de MGO dans le miel du *Manuka* peut atteindre 800 mg kg⁻¹ alors que dans les autres miels il ne dépasse pas 10 mg kg⁻¹. Ce composé est capable de diffuser à travers les biofilms et provoquer des dommages sur la membrane et l'ADN bactérien, détruisant ainsi les cellules bactériennes (Gardenal, 2013 ; Oliveira *et al.*, 2017).

II.3. Effet antiinflammatoire

L'activité anti-inflammatoire du miel a été mise en évidence dans des études cliniques où il a été appliqué sur des plaies. La réduction de gonflement localisé, de la rougeur, de la douleur et de la chaleur associées à l'inflammation ont été révélés. Les observations histologiques des tissus qui ont subi des brûlures et qui ont été traités avec des pansements de miel ont montré également la réduction de cellules inflammatoires telles que les leucocytes. Le miel inhibe la synthèse des prostaglandines qui est souvent responsable de la chaleur, des démangeaisons et de la douleur associée à l'inflammation et il a été démontré que le miel réduit les niveaux des ERO en favorisant la guérison des blessures. Les effets anti-inflammatoires du miel peuvent être partiellement dûs à sa teneur en antioxydants (**Bean, 2012**).

Les composés phénoliques du miel inhibent la cyclooxygénase 2 (COX-2) qui est libéré lors d'une réponse inflammatoire et ils provoquent aussi la suppression des médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines et les chimiokines. Ces substance peuvent également réduire le nombre de neutrophiles (**Kassim et al., 2010 ; Rao et al., 2016**).

II.4. Effet cicatrisant

De nombreuses études ont décrit l'efficacité du miel dans la cicatrisation des plaies aiguës (brûlures, lacérations...) et chroniques (ulcères, escarres...). Le miel exerce son effet cicatrisant par divers mécanismes combinés, tels que la réduction de l'œdème, l'atténuation de l'inflammation et de la douleur. Il facilite également le débridement et la désodorisation des plaies, la synthèse de collagène, le développement de nouveaux vaisseaux sanguins, la stimulation de la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales. Il favorise aussi la formation de tissu de granulation. La cicatrisation des plaies se déroule en trois phases principales (l'inflammation, la prolifération et le remodelage) (**Oryan et al., 2016**).

II.4.1. Phase inflammatoire

Les composants phénoliques contenus dans le miel exercent une activité anti-inflammatoire qui modulant la sévérité de l'inflammation pour l'empêcher de se développer dans un état chronique. Ce produit apicole joue un rôle de modulateur dans la phase inflammatoire et il initie une inflammation active mais contrôlée. Il peut également stimuler les neutrophiles, les macrophages et de la phagocytose pendant la phase inflammatoire pour éliminer les débris et les bactéries de la plaie (**Raynaud et al., 2013**).

II.4.2. Phase proliférative

Le miel stimule l'angiogenèse et sa nature acide permet de libérer l'oxygène de l'hémoglobine, un mécanisme qui stimule la formation de tissu de granulation et la cicatrisation des plaies. Il accélère la contraction de la plaie en stimulant les fibroblastes, les myofibroblastes et le dépôt de collagène. Il favorise également la réépithélialisation et il maintient les bords de la plaie ensemble en raison de sa pression osmotique élevée. Le peroxyde d'hydrogène contenu dans le miel peut stimuler le développement de nouveaux capillaires et la prolifération de fibroblastes et de cellules épithéliales. Le miel fournit également le glucose pour les cellules épithéliales afin de faciliter leur migration à travers la surface de la plaie (**Nakajima *et al.*, 2013 ; Oryan *et al.*, 2016**).

II.4.3. Phase de remodelage

Dans la phase de remodelage, le collagène est remodelé et réaligné le long des lignes de tension et les cellules qui ne sont plus nécessaires sont éliminées par apoptose (**Oryan *et al.*, 2016**).

II.5. Effet anticancéreux

Les constituants du miel tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes sont des inhibiteurs importants de cycle cellulaire des différentes lignées cellulaires de mélanome, de gliome et de cancer du côlon. Récemment, il a été démontré que la chryisine, un constituant important du miel, a un effet antiprolifératif contre le mélanome murin et les cellules humaines via l'arrêt du cycle cellulaire à la phase G0/G1 (**Waheed *et al.*, 2019**).

Plusieurs études ont rapporté que les polyphénols du miel ont la capacité à activer la caspase-3 responsable de l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses colorectales et ils peuvent aussi inhiber les facteurs de croissance (IL8) qui empêchent la prolifération et la métastase des cellules tumorales (**Jaganathan et Mandal, 2009 ; Liu *et al.*, 2013**).

L'effet cytotoxique de certains miels a également été démontré dans la cellule cancéreuse du sein humaine. Les composés phénoliques du miel tels que le kaempférol et la quercétine sont structurellement similaires aux œstrogènes de mammifères et ils peuvent exercer une double action, à la fois inhibitrice et stimulante. Cet effet œstrogène ou anti-œstrogène varie en fonction de certains facteurs tels que la concentration. Il a été également rapporté que la quercétine induit des effets apoptotiques (**Erejuwa *et al.*, 2014**).

II.6. Effet neurologique

Le miel a la capacité d'améliorer les déficits de mémoire et il peut atténuer la neuro-inflammation induite par la microglie et réduire le risque de certaines maladies neuro-dégénératives comme les maladies d'Alzheimer, de Parkinson et de Huntington (**Rahman *et al.*, 2014**).

Les polyphénols du miel peuvent prévenir les maladies neuro-dégénératives de diverses manières. Il s'agit de la protection oxydative des neurones et de l'amélioration de la fonction neuronale. Plusieurs études ont démontré que la lutéoline protège la fonction synaptique et restaure la mémoire dans les troubles neurodégénératifs. La quercétine montre un effet neuro-protecteur contre une exposition chronique au plomb dans des modèles de rats. Le kaempférol présente une activité neuro-protectrice dans des souris atteints de la maladie de Parkinson (**Hossen *et al.*, 2017**).

Les phénols réduisent de manière significative l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) qui est impliquée dans la maladie d'Alzheimer. Une suractivité de cette enzyme provoque une baisse du niveau de l'acétylcholine au sein des cellules cérébrales et par conséquent la diminution de la transmission d'influx nerveux. De nombreuses études ont montré que le miel module les activités de l'acétylcholinestérase et il peut être donc exploiter dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer (**Ahrari-Roodi *et al.*, 2018 ; Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014 ; Muhammad *et al.*, 2015**).

II.7. Effet antidiabétique

Le miel présente un effet antidiabétique spécifique dans l'inhibition de l'activité des enzymes clés impliquées dans l'augmentation de la glycémie par la dégradation des glucides qui sont l' α -amylase et l' α -glucosidase. Par conséquent, l'inhibition de ces deux enzymes est considérée comme un outil thérapeutique efficace pour réduire la glycémie chez les patients diabétiques (**Ali *et al.*, 2020**).

De nombreuses études ont rapporté que les polyphénols peuvent être utilisés dans le traitement du diabète. Bien que le miel contient divers composés phénoliques, seuls quelques polyphénols, tels que l'apigénine, la catéchine, le kaempférol, la lutéoline, la rutine et la quercétine ont des rôles antidiabétiques (figure 12). Dans une étude *in vivo* chez le rat, la quercétine a inhibé l'enzyme intestinale α -glucosidase. Aussi, elle a réduit l'hyperglycémie postprandiale induite par le maltose et elle a protégé la structure et l'intégrité des cellules β -pancréatiques (**Hossen *et al.*, 2017**).

D'autres études ont rapporté que le kaempférol empêche le dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques et améliore la sensibilité périphérique à l'insuline chez les souris obèses atteintes de diabète. La lutéoline améliore l'insuffisance cardiaque en réduisant le stress oxydatif dans la cardiomyopathie diabétique de type 1. Les acides chlorogénique et férulique peuvent également améliorer l'absorption du glucose et être plus efficaces que les deux médicaments hypoglycémifiants, la metformine et la 2, 4 thiozolidinedione (Hossen *et al.*, 2017).

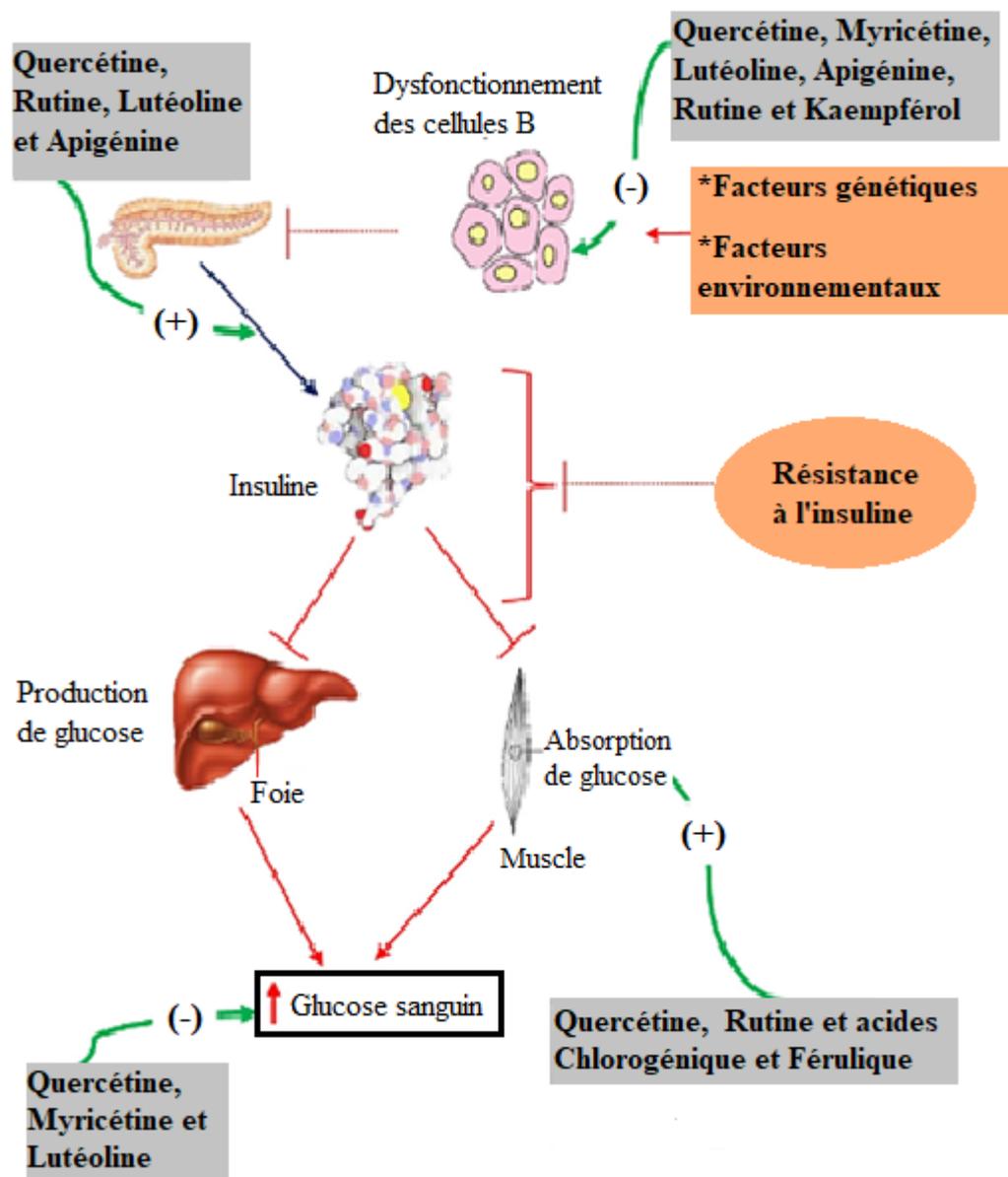


Figure 12 : Evénements séquentiels du diabète et rôles potentiels des polyphénols du miel (Hossen *et al.*, 2017).

II.8. Activité anti-obésité

L'obésité est devenue un problème grave de santé publique et qui pèse lourdement sur l'économie et elle a des effets négatifs sur la longévité des êtres humains. Elle est considérée comme la cause principale de l'augmentation mondiale du diabète de type 2, des maladies cardiovasculaires et de plusieurs autres maladies (**Xie *et al.*, 2018**).

Les médicaments conventionnels sont utilisés pour la prise en charge de l'obésité. En revanche, la présence des effets secondaires néfastes de ces médicaments limitent leur utilisation. Il est donc absolument nécessaire de développer des produits sûrs, efficaces et économiques. L'utilisation de préparations à base de produits naturels permettra de renforcer l'effet anti-obésité en agissant sur des cibles multiples. Les composés phénoliques du miel agissent de différents mécanismes par la régulation de profil lipidique du plasma, l'inhibition de la lipase pancréatique, l'induction de l'anorexie, la régulation de l'expression des gènes et la réduction de l'accumulation du tissu adipeux blanc. Des études ont rapporté l'efficacité du miel dans la réduction du poids ainsi que pour réguler les niveaux de lipides sanguins (**Karri *et al.*, 2019 ; Pai *et al.*, 2018 ; Sun *et al.*, 2016**)

II.9. Activité dermato-protectrice

La peau est le plus grand organe et la couche la plus externe du corps humain. Pour cette raison, elle nécessite beaucoup de soins pour éviter les maladies telles que les infections, les dermatites ou même la déshydratation. De nombreuses recherches ont montré que le miel a un effet dermato-protecteur. Cette activité est principalement due à la composition du miel qui comprend de nombreux minéraux, de vitamines, de phyto-composés et d'enzymes (**Hadi *et al.*, 2016; Burlando et Cornara, 2013**).

La mélanine protège essentiellement la peau humaine contre les radiations mais l'accumulation de celle-ci induit des troubles de la pigmentation, tel que le mélasma. La tyrosinase est une enzyme qui est impliquée dans la mélanogénèse. L'inhibition de la tyrosinase est l'une des principales stratégies utilisées dans le traitement de l'hyperpigmentation. Il existe des inhibiteurs synthétiques de cette enzyme tel que les hydroquinones. Cependant, en raison de problèmes de sécurité, l'Union européenne a interdit son utilisation comme ingrédient cosmétique (**Arrowitz *et al.*, 2019; Uchida *et al.*, 2014**).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Chapitre I. Matériel et méthodes

I. Echantillons

Un total de 26 miels (H1-H26) est fourni par des apicultures de 16 wilayas d'Algérie de l'Est vers l'Ouest (Skikda, Batna, Jijel, Sétif, Bejaia, Bordj Bouarreridj, Tizi-Ouzou, Boumerdès, Djelfa, Médéa, Aïn Defla, Chlef, El Bayadh, Mostaganem, Naâma et Tlemcen) (tableau IV). Les échantillons sont conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité. La figure 13 montre la photographie des miels analysés.

Tableau IV : Régions, années de récolte et consistance des échantillons du miel récoltés.

Identifiant	Région de récolte	Altitude* (m)	Année de récolte	Consistance
H1	Skikda (Azaba)	160	2017	Liquide
H2	Skikda (Azaba)	140	2017	Liquide
H3	Batna	1100	2016	Liquide
H4	Jijel	200	2017	Liquide
H5	Jijel (Tahir)	40	2016	Liquide
H6	Sétif (Dra Al Kaid)	800	2017	Liquide
H7	Sétif (Djmila)	960	2017	Liquide
H8	Bejaia (Tizi-Ahmed)	300	2016	Liquide
H9	Bejaia (Addekar)	1000	2016	Liquide
H10	Bejaia (Mellala)	100	2016	Liquide
H11	Bordj Bouarreridj	1000	2017	Liquide
H12	Tizi-Ouzou (Azefoun)	200	2016	Liquide
H13	Tizi-Ouzou (Sidi Naamane)	160	2016	Solide
H14	Tizi-Ouzou (Freha)	200	2017	Solide
H15	Tizi-Ouzou (Maatkas)	480	2017	Liquide
H16	Tizi-Ouzou (Tadmait)	700	2017	Liquide
H17	Boumerdès (Naceria)	180	2017	Liquide
H18	Djelfa	1200	2017	Solide
H19	Médéa	800	2016	Solide
H20	Aïn Defla	400	2017	Solide
H21	Aïn Defla	600	2017	Liquide
H22	Chlef	200	2017	Liquide
H23	El Bayadh	1320	2017	Liquide
H24	Mostaganem	200	2017	Solide
H25	Naâma	1200	2017	Solide
H26	Tlemcen	740	2016	Liquide

* : obtenues avec Google earth.

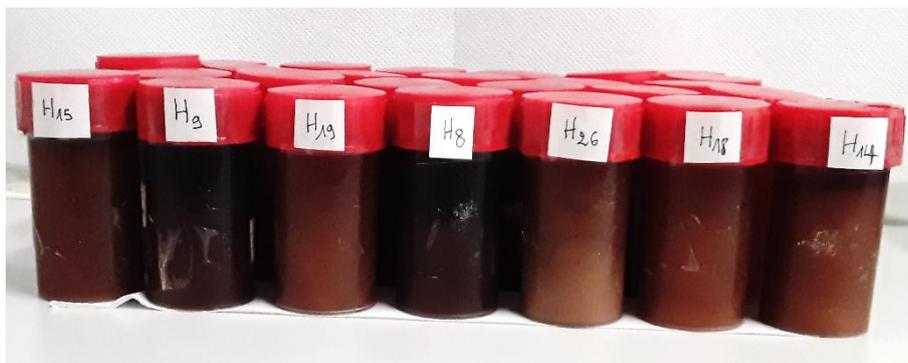


Figure 13 : Photographie des échantillons de miel.

II. Analyses polliniques

L'analyse pollinique est réalisée selon la méthode de **Louveaux *et al.* (1978)**. Une quantité de 3 g du miel est dissoute dans 12 ml d'eau distillée (25 %, p/v). Après homogénéisation, la solution du miel est centrifugée à 4500 rpm (1800 × g) pendant 10 min. Le culot est récupéré et un volume de 10 ml d'eau distillée est ajouté, puis une deuxième centrifugation est réalisée dans les mêmes conditions. Un volume de 0,1 ml est déposé sur une lame puis celle-ci est séchée et recouverte ensuite d'une lamelle. La lecture est faite avec un microscope photonique avec l'objectif (G x 40) en se référant à une banque de données numériques de CETAM (Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle, France).

Les résultats quantitatifs de l'analyse pollinique de chaque échantillon du miel sont présentés comme le pourcentage d'abondance du pollen d'une espèce florale par rapport au pollen total analysé.

III. Paramètres physicochimiques

Selon les recommandations de la commission internationale du miel (**Bogdanov *et al.*, 1997**), 9 paramètres physico-chimiques sont analysés : l'humidité, le Brix, la conductivité électrique, les teneurs en cendres, le pH, l'acidité libre, l'acidité liée, l'acidité totale et l'HMF.

III.1. Brix et humidité

Une goutte du miel liquide est étalée en couche mince sur la platine du prisme d'un réfractomètre Abbe, préalablement étalonné avec l'eau distillée. Les miels cristallisés sont liquéfiés dans un bain marie à 50 °C avant l'analyse.

La lecture est faite à travers l'oculaire de réfractomètre suite au partage de la ligne horizontale entre une zone claire et obscure. Cette ligne coupe deux échelles verticales graduées directement en pourcentage de brix et en indice de réfraction, respectivement. Cet indice permet la détermination de la teneur en eau du miel par correspondance à la table de CHATAWAY à 20 °C (annexe 1).

III.2. Conductivité électrique

Une quantité du miel (M) est homogénéisée dans 25 ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (0,4 $\mu\text{S cm}^{-1}$) pour avoir une solution du miel de 20 % (p/v). La valeur de la conductivité électrique est lue sur un conductimètre et les résultats sont exprimés en mS cm^{-1} :

$$M = (5 \times 100) / MS$$

$$CE \text{ (milli siemens } \text{cm}^{-1}\text{)} = \text{Valeur mesurée} - [(\text{valeur mesurée} \times 0,032) \times (T^\circ - 20^\circ \text{C})]$$

Où :

M : Quantité du miel a pesée.

MS : Teneur en matière sèche du miel.

CE : Conductivité Electrique.

0,032 : Facteur de correction.

T° : Température ambiante de la mesure en °C.

III.3. Teneurs en cendres

Une quantité de 5 g du miel est déposée dans un creusé en céramique puis quelques gouttes d'huile d'olive sont ajoutées. Le mélange est incubé dans un four à moufle électrique pendant 1 heure à 600 °C ($\pm 25^\circ \text{C}$). La teneur en cendres (W_A) est déterminée par la formule suivante :

$$W_A (\%) = ((M_1 - M_2) / M_0) \times 100$$

Où :

W_A : Teneurs en cendre.

M_0 : Masse de l'échantillon d'essai.

M_1 : Masse de creusé + Masse de cendres.

M_2 : Masse de creusé.

III.4. Potentiel d'hydrogène (pH)

Une quantité de 2,5 g du miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée (10 %; p/v) et le pH des solutions du miel est lue au pH-mètre.

III.5. Acidités libre, liée et totale

Un titrage sous agitation est effectué sur une solution aqueuse du miel (10 %; p/v) avec un volume de 10 ml de la solution de l'hydroxyde de sodium (0,05 N) pour déterminer l'acidité libre. Un titrage inverse est réalisé avec une solution d'acide sulfurique (0,05 N) afin de déterminer l'acidité des lactones. Les résultats sont calculés selon les formules suivantes :

$$\text{Acidité libre} = (V \times 0,05 \times 1000) / M$$

$$\text{Acidité liée} = [1000 \times (0,05 (10-V) - 0,05 \times V')] / M$$

$$\text{Acidité totale} = \text{Acidité libre} + \text{Acidité liée}$$

Où :

V : Volume équivalent déterminé par la courbe de neutralisation avec l'hydroxyde de sodium.

V' : Volume équivalent déterminé par courbe de neutralisation de l'excès de l'hydroxyde de sodium avec de l'acide sulfurique.

M : Masse de l'échantillon du miel.

III.6. Couleur

III.6.1. Intensité de couleur ABS₄₅₀

L'intensité de la couleur est déterminée par la méthode de **Beretta *et al.* (2005)**. Une solution du miel à 50 % (p/v) est préparée avec de l'eau tiède entre 45 et 50 °C. Après filtration, l'absorbance nette est déterminée par la différence entre l'absorbance à 450 et 720 nm et les résultats sont exprimés en milli absorbance unité (mAU).

III.6.2. Couleur (échelle Pfund)

La couleur du miel est déterminée selon la méthode de **Kaškonienė *et al.* (2009)**. Une solution aqueuse du miel à 50 % (p/v) est chauffée à 40 °C pour dissoudre les cristaux de sucres et la couleur est déterminée par la lecture de l'absorbance à 635 nm. Les miels sont classés selon l'échelle Pfund après conversion des valeurs d'absorbance (Abs) :

$$\text{mm Pfund} = -38,70 + 371,39 \times \text{Abs}$$

Où :

mm Pfund : Intensité de la couleur du miel dans l'échelle de Pfund.

Abs : Absorption de la solution du miel.

III.7. HMF

Un volume de 25 ml de la solution du miel à 20 % (p/v) est mélangé avec 0,5 ml de la solution de carrez I (solution d'hexanocyanoférate de potassium à 15 %; p/v) et 0,5 ml de la solution de carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 %; p/v). Le mélange est ajusté avec de l'eau distillée jusqu'à 50 ml. La solution est filtrée et un volume de 5 ml de filtrat est additionné à 5 ml d'eau distillée et le même volume de filtrat est additionné à 5 ml de la solution de sodium bisulfate (0,2 %; p/v). La lecture des absorbances est faite au spectrophotomètre UV à deux longueurs d'ondes 284 et 336 nm. La teneur en HMF est déterminée par l'équation suivante :

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

Où :

A_{284} : Absorbance à 284 nm.

A_{336} : Absorbance à 336 nm.

W : Masse en grammes de l'échantillon du miel.

149,7 : Constante.

III.8. Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode d'**Azeredo *et al.* (2003)**. Un volume de 0,1 ml de la solution aqueuse du miel (50 % ; p/v) est mélangé avec 5 ml de réactif de Bradford. Après 2 min d'incubation, l'absorbance est lue à 595 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'albumine de sérum bovin (BSA) par 100 g du miel en référence à la courbe d'étalonnage de la BSA ($y = 0,69x - 0,06$; $R^2 = 0,995$) (annexe 2, figure 1).

III.9. Dosage de la proline

Un volume de 0,5 ml de la solution du miel (5 % ; p/v) et un volume égal d'une solution standard de proline (0,003 % ; p/v) sont préparés séparément. 1 ml d'acide formique et 1 ml de ninhydrine (3 % ; p/v) sont ajoutés à chaque préparation. Les deux solutions sont incubées ensuite au bain marie agitateur à 100 °C pendant 15 min puis à 70 °C pendant 10 min. Un volume de 5 ml de la solution de 2-propanol (50 % ; v/v) est ajouté à chaque mélange. L'absorbance est mesurée à 510 nm après 45 min d'incubation. La teneur en proline est déterminée par la formule suivante :

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

Où :

E_s : Absorbance de l'échantillon du miel.

E_A : Absorbance de la solution standard de la proline.

E_1 : mg de proline pour la solution standard.

E_2 : Quantité du miel.

80 : Facteur de dilution.

IV. Détection par FTIR-ATR de l'adultération du miel avec des solutions de saccharose

La méthode spectroscopique (FTIR-ATR) est utilisée pour produire les spectres de bandes caractéristiques des miels purs et falsifiés pour les utiliser comme des empreintes digitales pour aider à identifier et caractériser des éventuelles miels adultérés avec de saccharose.

IV.1. Préparation des miels falsifiés

Trois échantillons du miel sont choisis au hasard, ensuite plusieurs mélanges sont préparés avec 1 g du miel naturel additionné de 1 ml de chaque solution de saccharose. Les concentrations des solutions de saccharose sont rapportées dans le tableau V.

Tableau V : Composition des solutions d'adultération et des miels falsifiés.

Solution		Miel falsifié	
Identifiant	Composition	Identifiant	Composition
S0	1 ml d'eau distillée	H+DW	1ml d'eau distillée + 1 g du miel
S1	1 ml d'eau distillée + 500 mg de saccharose	H+S1	1 ml de S1 + 1 g du miel
S2	1 ml d'eau distillée + 1000 mg de saccharose	H+S2	1 ml de S2 + 1 g du miel
S3	1 ml d'eau distillée + 1500 mg de saccharose	H+S3	1 ml de S3 + 1 g du miel
S4	1 ml d'eau distillée + 2000 mg de saccharose	H+S4	1 ml de S4 + 1 g du miel

IV.2. Analyse FTIR-ATR

Les spectres sont acquis avec un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier équipé d'une pointe de diamant simple réflexion avec réflectance totale atténuée (ATR). L'analyse FTIR-ATR des échantillons du miel est effectuée à une résolution spectrale de 4 cm^{-1} dans la plage de nombres d'ondes de 4000 à 650 cm^{-1} avec un nombre de scan de 124. Le logiciel OMNIC a servi d'interface entre l'ordinateur et le spectrophotomètre. Les échantillons du miel naturels et falsifiés sont placés en couche fine sur un diamant / Plaque de cristal ZnSe et sont scannés ($n=3$) à température ambiante. Les données collectées sont exportées ensuite vers Microsoft Excel 2013 où elles sont traitées. Les spectres obtenus sont interprétés selon les pics d'absorption des liaisons moléculaires (annexe 3).

V. Teneur en antioxydants

V.1. Composés phénoliques totaux

Le dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux est basé sur la réduction des acides phosphomolybdiques ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphotungstiques ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) qui sont les deux composés de réactif Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) par l'oxydation des phénols du miel. La coloration bleue produite par cette réaction d'oxydo-réduction est proportionnelle au taux des composés phénoliques dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

La teneur en composés phénoliques est déterminée en utilisant la méthode de **Naithani et al. (2006)**. Un volume de 0,1 ml de la solution aqueuse du miel (10 % ; p/v) est mélangé avec 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (50 % ; v/v) et 2 ml de carbonate de sodium (2 % ; p/v). Après 30 min d'incubation, la lecture d'absorbance est faite à 750 nm. Les résultats de la teneur en composés phénoliques des miels sont exprimés en mg équivalent (E) d'acide gallique (AG) par 100 g du miel en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y = 2,79x + 0,02$; $R^2 = 0,998$) (annexe 2, figure 2).

V .2. Flavonoïdes

Le dosage colorimétrique des flavonoïdes par la méthode au chlorure d'aluminium est basé sur la formation d'un complexe entre l'ion aluminium Al (III) et les groupes carbonyle et hydroxyle du flavonoïde. Le complexe formé donne une coloration rosâtre qui indique la concentration en flavonoïdes dans les échantillons du miel (**Alvarez-Suarez et al., 2009**).

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode décrite par **Al et al. (2009)**. Un volume de 1 ml de la solution aqueuse du miel (12,5 % ; p/v) est mélangé avec 0,3 ml de nitrite de sodium (5 % ; p/v). Après 5 min, un volume de 0,3 ml de chlorure d'aluminium (10 % ; p/v) est ajouté. Six minutes plus tard, 2 ml d'hydroxyde de sodium (4 % ; p/v) sont ajoutés au mélange. Les absorbances sont lues à 510 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (Q) par 100 g du miel en référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = 1,58x + 0,02$; $R^2 = 0,999$) (annexe 2, figure 3).

V .3. Flavonols

La teneur en flavonols est déterminée selon la méthode de **Jimoh et al. (2010)**. Un volume de 5 ml (12,5 % ; p/v) de la solution aqueuse du miel est mélangé avec 0,5 ml (2 % ; p/v) de la solution méthanolique de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et 1,5 ml (5 % ; p/v) de la solution d'acétate de sodium ($C_2H_3NaO_2$). Après 2 h d'incubation à 20 °C, l'absorbance est obtenue à 440 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par 100 g du miel en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = 7,10x + 0,08$; $R^2 = 0,988$) (annexe 2, figure 4).

V.4. Caroténoïdes totaux

La détermination de la teneur des caroténoïdes des échantillons du miel est effectuée en premier lieu par l'extraction de ces composés en deux phases. La première phase apolaire permet la récupération des caroténoïdes et une deuxième phase polaire (éthanol/acétone) qui élimine les interférents tels que les polyphénols et les flavonoïdes. Les caroténoïdes sont ensuite déterminés par la méthode colorimétrique en se référant à une courbe d'étalonnage du β -carotène (**Ouchemoukh, 2012**).

La teneur en caroténoïdes est déterminée par le protocole décrit par **Sass-Kiss *et al.* (2005)**. Une quantité de 4 g du miel est dissoute dans 10 ml d'un mélange d'hexane, d'acétone et d'éthanol avec un rapport 2: 1: 1. La préparation est centrifugée à 5500 rpm (3213 x g) pendant 15 min à 4 °C. Le surnageant est récupéré et les absorbances sont lues à 430 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de β -carotène (β -carot) par kg du miel en référence à la courbe d'étalonnage du β -carotène ($y = 62,42x + 0,002$; $R^2 = 0,999$) (annexe 2, figure 5).

V.5. Vitamine C

La vitamine C des échantillons du miel est extraite en présence d'une solution d'acide oxalique. Après filtration, une solution de 2,6-dichlorophénol-indophénol est ajoutée au filtrat. Dans le milieu réactionnel, le 2,6-dichlorophénol-indophénol de coloration rose champagne est transformé en leucodérivé réduit par l'acide ascorbique qui est oxydé à son tour en acide déhydroascorbique. La perte de coloration produite par cette réaction d'oxydo-réduction est proportionnelle au taux de la vitamine C dans l'échantillon qui est déterminé en se référant à l'acide ascorbique comme standard de concentration connue (**Klein et Perry, 1982**).

La teneur en acide ascorbique est déterminée en utilisant la méthode de **Mau *et al.* (2005)**. Une quantité de 2 g du miel est dissoute dans 20 ml d'une solution d'acide oxalique (1 % ; p/v), le mélange est macéré pendant 10 min. Après filtration, un volume de 0,5 ml de filtrat est mélangé avec 2,5 ml de la solution de 2,6-dichlorophénol-indophénol (0,004 % ; p/v). L'absorbance est lue dans les 15 premières secondes à 515 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (AA) par 100 g du miel en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique ($y = -35,62x + 0,62$; $R^2 = 0,987$) (annexe 2, figure 6).

VI. Extraction et détermination des composés phénoliques par HPLC-UV

VI.1. Extraction de composés phénoliques pour l'analyse HPLC-UV

L'extraction liquide-liquide des composés phénoliques est réalisée selon le protocole décrit par **Akyuz *et al.* (2014)**. Une quantité de 3 g du miel est dissoute dans 30 ml d'éthanol (70 %) puis la solution est agitée pendant 24 heures. Après filtration, un volume de 15 ml de filtrat est recueilli et le solvant est évaporé avec un rota-vapeur (40 °C). Ensuite, un volume de 10 ml d'eau distillée acidifiée (pH 2) est ajouté et la solution est homogénéisée dans un bain-marie ultrason. Ensuite, 15 ml d'éther diéthylique sont ajoutés au mélange. Après 15 à 20 min d'agitation, la phase organique est récupérée et 15 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés à la phase aqueuse, puis celle-ci est homogénéisée pendant 15 à 20 min et les phases organiques sont mélangées. Le solvant est évaporé avec l'évaporateur rotatif et le résidu sec est redissout dans du méthanol grade HPLC (2 ml).

VI.2. Analyse HPLC-UV

L'analyse HPLC-UV est réalisée sur une HPLC Thermo Finnigan Surveyor, avec un détecteur UV-Vis. Les analyses sont effectuées en utilisant une colonne en phase inverse C18 (4,6 x 150 mm; taille de particule: 5 µm). L'élution de la phase mobile est effectuée avec 2 % (v/v) d'acide acétique (solvant A) et 30 à 70 % (v/v) d'acétonitrile (solvant B) et le gradient linéaire suivant est appliqué : de 0 à 3 min, 5 % de B ; 8 min, 15 % B, 10 min, 20 % B et jusqu'à 50 min, 5 % B (tableau VI). Les volumes des injections des échantillons et des standards sont fixés à 25 µl, le débit de la phase mobile est ajusté à 1,2 ml min⁻¹ et la température de la colonne est maintenue à 30 °C (**Ozturk *et al.*, 2015**). Les composés phénoliques du miel sont identifiés en faisant correspondre leurs spectres UV avec ceux des standards (annexe 4) et ils sont quantifiés à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec 7 dilutions de chaque standard à des concentrations de 0,31, 1,25, 2,5, 5, 10, 20 et 40 µg ml⁻¹.

Tableau VI : Programme de gradient RP-HPLC-UV.

	Solvant A	Solvant B
Temps (min)	2 % (v/v) d'acide acétique	30 à 70 % (v/v) d'acétonitrile
0,01	95	5
3	95	5
8	85	15
10	80	20
12	75	25
20	60	40
30	20	80
35	95	5
50	95	5

VII. Activités biologiques

VII.1. Activités antioxydantes

VII.1.1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH

La délocalisation des électrons libres au sein de la molécule de DPPH lui confère la capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH dans une solution donne une coloration violette foncée qui absorbe aux environs de 517 nm. Lorsqu'ils sont mélangés à cette solution, les agents antioxydants (phénols, vitamine C...) cèdent un atome d'hydrogène ou un électron et provoquent la forme réduite (DPPH₂) qui se manifeste par une décoloration de la solution et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl (Doukani *et al.*, 2014; Gulcin *et al.*, 2003).

Le test du radical DPPH est déterminé selon la méthode décrite par Meda *et al.* (2005). Un volume de 0,5 ml de solution du miel (2,5 %; p/v) est mélangé avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (6 x 10⁻⁵ M). Après 15 min d'incubation, la lecture est faite à 517 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de DPPH (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du contrôle.

A_E : Absorbance de l'échantillon.

VII.1.2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS

L'activité anti-radicalaire ABTS des échantillons du miel est évaluée à partir de leurs capacités à inhiber les radicaux cationiques $ABTS^{*+}$. Le mélange de la solution d'ABTS et du persulfate de potassium donne des radicaux libres d' $ABTS^{*+}$ qui se forment par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS avec une coloration bleu-verte de la solution. Le contact entre le radical $ABTS^{*+}$ et un donneur d'électron tel que les composés antioxydants conduit à la formation d'un radical neutre ABTS et la décoloration de la solution (**Isla et al. 2011; Re et al. 1999**).

L'essai de radical ABTS est déterminé suivant le protocole décrit par **Re et al. (1999)**. Un mélange de 0,1 ml de la solution du miel (2,5 % ; p/v) et 1 ml de la solution d'ABTS (7 mM) est préparé. L'absorbance est lue à 734 nm après 7 min d'incubation. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition d'ABTS (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du contrôle.

A_E : Absorbance de l'échantillon.

VII.1.3. Test de FRAP (ferric reducing antioxydant power)

Le test de FRAP est basé sur la détermination de la capacité des antioxydants du miel à réduire le complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-s-triazine ferrique (TPTZ- Fe^{3+}) en sa forme ferreux (TPTZ- Fe^{2+}) à faible pH. La forme réduite TPTZ- Fe^{2+} a une couleur bleue intense dont le maximum d'absorbance est de 593 nm (**Alvarez-Suarez et al., 2010**).

Le test de FRAP est réalisé selon le protocole décrit par **Alvarez-Suarez et al. (2010)**. Un volume de 0,5 ml de la solution du miel (2,5 % ; p/v) est mélangé avec 0,75 ml de réactif de FRAP qui est préparé par un mélange de tampon acétate de sodium (300 mM; pH 3,6), TPTZ (10 mM) et de chlorure ferrique (20 mM) avec un rapport 10: 1: 1. Après homogénéisation et incubation au bain marie pendant 5 min à 37 °C, l'absorbance est lue à 593 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g du miel en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 25,61x + 0,05$; $R^2 = 0,967$) (annexe 5, figure 1).

VII.1.4. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur des échantillons du miel est basé sur la détermination de leur capacité à réduire le chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en milieu acidifié par l'acide trichloracétique et en présence d'un agent chromogène (le ferricyanure de potassium). La forme réduite (FeCl_2) donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Gulcin *et al.*, 2005**).

L'évaluation du pouvoir réducteur des miels est effectuée selon le protocole de **Li et lin (2010)**. Un volume de 0,5 ml de la solution du miel (5 % ; p/v) est mélangé avec 0,5 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 0,5 ml de potassium hexanocyanoferrate (1 % ; p/v). Après incubation pendant 20 min au bain marie à 50 °C, un volume de 0,5 ml de trichloroacétate (10 % ; p/v) est ajouté au mélange. Un volume de 0,5 ml est prélevé de ce mélange et dilué dans 0,8 ml d'eau distillée puis 0,1 ml de chlorure ferrique (0,1 % ; p/v) y sont additionnés. Après 10 min, l'absorbance est lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g du miel en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 28,92x + 0,001$; $R^2 = 0,999$) (annexe 5, figure 2).

VII.1.5. Test à la ferrozine

L'évaluation de pouvoir chélateur des échantillons du miel est basé sur la détermination de leur capacité à inhiber la formation du complexe Fe^{2+} -ferrozine après leur incubation avec le fer divalent. Dans le milieu réactionnel, la ferrozine forme un complexe avec le Fe^{2+} pour donner une coloration rose. En revanche, la présence des agents chélateurs diminuent la formation de ce complexe qui se manifeste par l'atténuation de la couleur rose de la solution. La mesure de la réduction de la couleur permet l'estimation de la capacité chélatrice des échantillons du miel (**Ebrahimzadeh *et al.*, 2007**).

La chélation du Fe^{2+} par les échantillons du miel est estimée selon la méthode décrite par **Wang *et al.* (2008)**. Un volume de 0,5 ml de la solution du miel (25 % ; p/v) est mélangé avec 0,05 ml de chlorure de fer (II) (2 mM) et 1,6 ml d'eau distillée. Après 5 min, un volume de 0,1 ml de la solution méthanolique de ferrozine (5 mM) est ajouté au mélange. Après 5 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 562 nm. L'activité chélatrice des échantillons du miel est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité chélatrice de fer (\%)} = (1 - [A_1 - A_2] / A_0) \times 100$$

Où :

A_0 : Absorbance de contrôle (sans échantillon du miel).

A_1 : Absorbance en présence d'un échantillon du miel.

A_2 : Absorbance sans ferrozine.

VII.1.6. Test de radical scavenging d'oxyde nitrique (NORS)

Le test NORS est basé sur la détermination de la capacité des échantillons du miel à piéger les radicaux d'oxyde nitrique. Dans le milieu réactionnel, les radicaux NO^\bullet sont générés par le nitroprussiate de sodium (SNP) qui interagissent ensuite avec l'oxygène pour produire l'ion nitrite (NO^\bullet). La capacité de piégeage de ces radicaux par les miels est évaluée par l'absorbance du chromophore (colorant azoïque pourpre) à 546 nm, formé pendant la diazotation des ions nitrite avec la sulfanilamide et le couplage ultérieur avec le dichlorhydrate de N-1-naphtylène diamine (**Francis et Andrew, 2010**).

Le test NORS est réalisé sur une microplaque de 96 puits en utilisant le protocole de **Francis et Andrew (2010)**, avec des modifications mineures. Un volume de 100 μl de la solution de nitroprussiate de sodium (5 mM), préparée dans un tampon phosphate (15 mM, pH 7,3), est ajouté à 100 μl de chaque dilution du miel (50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 et 3,12 % ; p/v). Ensuite, les mélanges sont incubés sous une lumière visible polychrome (lampe au tungstène de 25 W) pendant 180 min à 25 °C. Un volume de 100 μl de réactif de Griess (1 % de sulfanilamide dans 5 % d'acide phosphorique et 0,1 % de dichlorhydrate de N-1-naphtylène diamine) est ajouté. Après 20 min d'incubation, l'absorbance est lue à 546 nm à l'aide de lecteur de microplaque. Le pourcentage d'inhibition d'oxyde nitrique est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition d'oxyde nitrique (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du contrôle.

A_E : Absorbance de l'échantillon.

Les résultats du test NORS sont exprimés en IC_{50} (concentration inhibitrice médiane) qui est calculée par analyse de régression.

VII.1.7. Blanchiment de β -carotène

Le test de blanchiment de la β -carotène est basé sur la capacité des échantillons du miel à neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique. Dans le milieu réactionnel, l'oxydation d'acide linoléique produit des radicaux peroxydes. Ces radicaux oxydent à leurs tours la β -carotène et provoquent ainsi l'atténuation de sa couleur rouge. Cependant, la présence des agents antioxydants permet de neutraliser les radicaux libres et d'inhiber l'oxydation et le blanchiment de la β -carotène (**Laguerre *et al.*, 2007**).

Le test de blanchiment de β -carotène est réalisé selon la méthode de **Tepe *et al.* (2006)**. L'émulsion est préparée en dissolvant 2 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue est ensuite introduite dans un flacon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, un volume de 100 ml d'eau oxygénée est ajouté sous agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution, un volume de 2,5 ml est transféré dans un tube contenant 0,35 ml de solution du miel (50 % ; p/v) ou de la solution de l'hydroxytoluène butylé (BHT) (2 mg/ml).

Un tube contenant 2,5 ml d'émulsion et 0,35 ml d'eau distillée est utilisé comme témoin négatif. L'absorbance est mesurée à 470 nm à différents intervalles de temps (0, 2, 4, 6, 12 et 48 h). L'activité antioxydante relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante :

$$\text{AAR (\%)} = (\text{A}_E / \text{A}_{\text{BHT}}) \times 100$$

Où :

AAR : Activité Antioxydante Relative.

A_E : Absorbance de l'échantillon après 48 h.

A_{BHT} : Absorbance de BHT après 48 h.

VII.2. Activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne *in vitro*, quatre souches bactériennes de référence sont utilisées : deux souches Gram positive (*S. aureus* ATCC25923 et *S. aureus* FRI S6) et deux souches Gram négatif (*E. coli* ATCC25922 et *S. typhi* ATCC 14028). La pureté des souches est vérifiée par la méthode macroscopique (forme, mode d'association...) et par la méthode microscopique (coloration de gram).

VII.2.1. Test de sensibilité

La méthode de diffusion sur gélose décrite par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015) est utilisée pour étudier l'activité antibactérienne des échantillons du miel. Les souches bactériennes sont ensemencées à la surface de la gélose en utilisant un inoculum de turbidité 0,5 McFarland (10^8 UFC ml⁻¹). Les boîtes de Pétri sont ensuite laissées à température ambiante pendant 15 min. Des disques absorbants stériles (diamètre : 6 mm) sont placés dans chaque solution du miel avant d'être appliqués à la surface des boîtes de Pétri inoculées, puis celles-ci sont incubées pendant 24 heures à 37 °C.

Le diamètre de chaque zone d'inhibition est donné en mm et les résultats obtenus sont comparés aux contrôles positifs (disques d'antibiotiques : acide fusidique, amikacine, céphoxitine et ciprofloxacine). Les échantillons du miel sont classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce *et al.*, 2003) : non sensible (<8 mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19 mm) et extrêmement sensible (>20 mm).

VII.2.2. Concentration minimale inhibitrice

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont déterminées en utilisant le protocole décrit par Patton *et al.* (2006). Dix dilutions de chaque échantillon du miel sont inoculées avec une suspension bactérienne pour donner une concentration de 5 % (v/v). Un volume de 200 µl de chaque mélange est appliqué au puit d'une microplaque avec couvercle pour éviter une contamination croisée. Un volume de 200 µl de bouillon nutritif inoculé avec la suspension bactérienne est utilisé comme témoin. La densité optique est déterminée avec un lecteur de microplaques à 620 nm avant l'incubation à T₀. La plaque est ensuite incubée pendant 24 heures à 37 °C. Après incubation, les densités optiques sont de nouveau lues à T₂₄. Le pourcentage d'inhibition est déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne (\%)} = 1 - (A_T / A_C) \times 100$$

Où :

A_T : Absorbance T₂₄ - Absorbance T₀ de l'échantillon.

A_C : Absorbance T₂₄ - Absorbance T₀ de contrôle.

La CMI de chaque échantillon du miel est déterminée à partir de la courbe de pourcentage d'inhibition basée sur log (concentration %, p/v).

VII.3. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des échantillons du miel est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation de la BSA (Williams *et al.*, 2008). Un volume de 0,45 ml (0,2 % ; p/v) de la solution aqueuse de BSA est mélangé avec 50 μ L de chaque dilution du miel (5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,6 ; 0,3 ; 0,15 % (p/v)) ou d'eau distillée et toutes les solutions sont ajustées à pH 6,3 par une solution d'HCl (1 N). Après incubation pendant 15 min à température ambiante et 5 min au bain marie à 71 °C, 1,5 ml (100 mM ; pH 6,3) de tampon phosphate sont ajoutés. La turbidité est mesurée à 660 nm et l'ibuprofène est utilisé comme inhibiteur de référence.

$$\text{Pourcentage d'inhibition de BSA (\%)} = ((A_C - A_E) / A_C) \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance de la solution BSA sans échantillon.

A_E : Absorbance avec l'échantillon.

Les résultats de l'activité inhibitrice de la BSA sont exprimés en IC_{50} qui est calculé par analyse de régression.

VII.4. Inhibitions enzymatiques

VII.4.1. Préparation des extraits phénoliques

L'extraction solide-liquide des composés phénoliques des échantillons du miel est réalisée selon le protocole de Ferreres *et al.* (1994). Exactement, 50 g du miel sont dissous dans 125 ml d'eau distillée acidifiée avec l'HCl à pH 2. Après homogénéisation, la solution est filtrée en utilisant un papier filtre, puis le filtrat est passé à travers une résine amberlite XAD-4 (taille moyenne des particules: 740 μ m ; Thermo Fisher Co., Kandel, Germany) placée dans une colonne en verre (50 \times 3 cm). Deux lavages successifs de la résine sont effectués avec 100 ml d'eau acidifiée (pH 2) puis avec 300 ml d'eau distillée afin d'éliminer les glucides. La fraction phénolique est éluée avec 400 ml de méthanol et ce dernier est évaporé avec un rota vapeur à 40 °C. Les résidus secs sont récupérés dans 5 ml d'eau distillée et 15 ml d'éther diéthylique sont ajoutés à la solution. La phase organique est récupérée et 15 ml d'éther diéthylique sont à nouveau ajoutés à la phase aqueuse, l'opération est répétée 3 fois. Le séchage chimique des molécules d'eau dans la phase organique est effectué avec du sulfate de sodium anhydre et l'éther diéthylique est évaporé sous la hotte chimique.

VII.4.2. Activité anti-acétylcholinestérase

L'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) est basée sur le clivage de l'acétylthiocholine. Les groupements thiols (SH) de la thiocholine, produite par cette réaction, réagissent avec l'acide 5,5'-dithiobis[2-nitrobenzoïque] (DTNB) pour former un anion de couleur jaune dont l'intensité est en fonction de l'activité de l'acétylcholinestérase (**Amessis-Ouchemoukh, 2014**). La mesure de l'atténuation de la couleur permet l'estimation de la capacité inhibitrice de l'acétylcholinestérase des échantillons de miel.

L'activité d'inhibition de l'acétylcholinestérase est évaluée par la méthode de **Ferreira et al. (2006)**. Un volume de 50 μl de chaque dilution de l'extrait phénolique des différents miels (1 ; 0,75 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,13 et 0,065 mg ml^{-1} (w/v)) est mélangé avec 25 μl de cette enzyme (0,22 U ml^{-1}) et 375 μl de tampon Tris (50 mM ; pH 8,5). Après incubation pendant 15 min, 75 μl d'iodure d'acétylthiocholine (AChI) et 475 μl de DTNB sont ajoutés. La galanthamine est utilisée comme un inhibiteur de référence (standard). La cinétique enzymatique de l'acétylcholinestérase en présence des extraits phénoliques, de contrôle négatif et de standard est suivie sur spectrophotomètre à 405 nm pendant 5 min à 37 °C. Le pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase est déterminé avec la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase} = 100 - [(V_E/V_C) \times 100]$$

Où :

V_E : Vitesse initiale du mélange réactionnel avec de l'extrait phénolique du miel.

V_C : Vitesse initiale de la réaction du contrôle.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase sont exprimés en IC_{50} qui est calculé par analyse de régression.

VII.4.3. Activité anti- α -glucosidase

L'évaluation du pouvoir inhibiteur de l' α -glucosidase est basée sur la mesure de la libération de *p*-nitrophénol (*p*-NP) dans le milieu réactionnel. Cette enzyme catalyse la dégradation du substrat *p*-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (*p*-NPG) en α -D-glucopyranoside et *p*-nitrophénol. L'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase par les échantillons du miel est exprimée par la diminution de la dégradation du substrat *p*-NPG et par conséquent la diminution de taux de *p*-nitrophénol. Ce dernier donne une coloration jaune à la solution et il absorbe à 405 nm (**Mosihuzzman et al., 2013**).

Le test d'inhibition de l' α -glucosidase est réalisé selon le protocole de **Queiroz et al. (2013)**. Un mélange de 25 μ l de chaque dilution de l'extrait phénolique des différents miels (0,6 ; 0,3 ; 0,15 ; 0,075 ; 0,038 et 0,02 mg ml⁻¹ (w/v)) et 150 μ l de la solution d'enzyme α -glucosidase (1 U ml⁻¹) est préparée. Après incubation pendant 5 min à 37 °C, un volume de 150 μ l de la solution de PNPG (p-nitrophényl- α -Dglucopyranoside) (5 mM) et 420 μ l de tampon phosphate (10 mM ; pH 6,9) sont ajoutés. Le mélange est incubé pendant 30 min à 37 °C et la réaction est ensuite stoppée par l'ajout de 900 μ l de carbonate de sodium (1 M). L'absorbance est lue à 405 nm et l'acarbose est utilisé comme inhibiteur de référence. Le pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l}'\alpha\text{-glucosidase} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance de contrôle.

A_E : Absorbance de milieu réactionnel avec l'échantillon.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase sont exprimés en IC₅₀ qui est calculé par analyse de régression.

VII.4.4. Activité anti-lipase

L'inhibition de la lipase pancréatique est évaluée selon la méthode de **Spínola et al. (2020)**. Le milieu réactionnel contient 400 μ l de chaque dilution de l'extrait phénolique des différents miels (0,3 ; 0,15 ; 0,075 ; 0,038 et 0,02 mg ml⁻¹ (p/v)) et 400 μ l de lipase (2,5 mg ml⁻¹) préparée dans le tampon Tris (100 mM de Tris-HCl ; 5 mM de Ca Cl₂ ; pH 7). Après incubation pendant 15 min, un volume de 200 μ l de la solution de pNPB (p-nitrophényl butyrate) (10 mM) est ajouté. Après incubation pendant 15 min supplémentaires à 37 °C, l'absorbance est lue à 405 nm. L'orlistat est utilisé comme standard. L'activité inhibitrice de la lipase pancréatique est calculée avec la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de la lipase pancréatique} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance de contrôle.

A_E : Absorbance de milieu réactionnel avec l'échantillon.

Les résultats de l'activité inhibitrice de la lipase pancréatique sont exprimés en IC₅₀ qui est calculé par analyse de régression.

VII.4.5. Activité anti-tyrosinase

Dans le milieu réactionnel, La tyrosinase catalyse la formation de la L-dopaquinone ensuite de dopachrome à partir de la L-Dopa. Le dopachrome est un composé de couleur rouge, quantifiable par spectrophotométrie visible à 492 nm. L'inhibition de la tyrosinase par les miels provoque la diminution de la formation de dopachrome qui va se traduire par l'atténuation de la couleur de la solution (**Kubo et Kinist-Hori, 1998**).

Le test d'inhibition de la tyrosinase par les extraits phénoliques des échantillons du miel est réalisé en utilisant la méthode Dopa-chrome décrite par **Sungthong et Phadungkit (2015)**. Un mélange qui contient 1 ml de L-Dopa (2,5 mM) et 1,8 ml de tampon phosphate (100 mM ; pH 6,8) est préparé. Après incubation pendant 10 min, un volume de 0,1 ml de l'enzyme tyrosinase (605 U ml⁻¹) et 0,1 ml de chaque dilution de l'extrait phénolique des différents miels (1 ; 0,75 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,13 et 0,065 mg ml⁻¹ (w/v)) sont ajoutés. Après incubation à température ambiante pendant 25 minutes, l'absorbance est mesurée à 492 nm. L'acide α -kojique est utilisé comme inhibiteur de référence. Le pourcentage d'inhibition de l'activité de la tyrosinase est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de la tyrosinase} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance de contrôle.

A_E : Absorbance de milieu réactionnel avec l'échantillon.

Les résultats de l'activité inhibitrice de la tyrosinase sont exprimés en IC₅₀ qui est calculé par analyse de régression.

VIII. Analyses statistiques

Trois répétitions sont effectuées pour tous les échantillons et les résultats sont présentés en moyenne \pm l'écart-type. Le test *t* de Student, l'ANOVA (analyse de variance à un seul critère de classification) et la matrice de corrélation sont appliqués aux données présentées et ils sont réalisés à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1.

L'analyse multivariée est utilisée comme outil de statistique exploratoire pour représenter graphiquement les données quantitatives de cette étude. Une analyse ACP (analyse en composantes principales) est réalisée pour étudier dans un espace de dimensions plus petites toute en minimisant la perte d'information, les similitudes entre les différents échantillons du miel et pour déterminer les liens entre les variables.

L'ACP des paramètres physicochimiques, composés bioactifs et activités biologiques est réalisée en utilisant le logiciel STATISTICA. Par contre, l'ACP des intensités des pics caractéristiques des miels purs et falsifiés est réalisé par l'XLSTAT 2016.

Bien qu'un $p < 0,05$ est généralement utilisé, $p < 0,01$ et $p < 0,001$ sont également utilisés pour la matrice de corrélation afin d'indiquer la plus grande importance de significativité. Les IC_{50} des extraits phénoliques des échantillons du miel pour inhiber les enzymes (AChE, α -glycosidase, lipase et tyrosinase) et l' IC_{50} des miels pour inhiber la BSA sont calculés par analyse de régression en utilisant l'Excel 2013.

La méthode des scores est utilisée pour comparer les échantillons du miel par rapport aux paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques. Les graphiques radars (toile d'araignée) sont réalisés en utilisant l'Excel 2013.

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II. Résultats et discussion

I. Analyses polliniques

Le miel peut être désigné par le nom d'une région géographique ou topographique, sous réserve d'être produit exclusivement dans cette zone. Il peut également être appelé en fonction d'une source florale ou végétale s'il provient totalement ou principalement de cette source et s'il présente les propriétés organoleptiques, physico-chimiques et microscopiques correspondant à ladite origine. L'analyse pollinique permet de faire une analyse qualitative et de mesurer les valeurs quantitatives des pollens des différents taxons contenus dans le miel afin de déterminer ses origines botanique et géographique (**Codex Alimentarius, 2001**).

Les grains de pollens identifiés sont classés selon leurs fréquences dans les catégories suivantes : pollens dominants (≥ 45 %) ; pollens d'accompagnements (16-44 %) ; pollens minoritaires (15-3 %) et pollens très minoritaires (< 3 %) (**Ouchemoukh et al., 2007 ; Silva et al., 2013**).

Un total de 19 familles de pollen est identifié dans les échantillons analysés (tableau VII). Cinq types de pollen (*Apiaceae*, *Fabaceae*, *Myrtaceae*, *Ericaceae* et *Brassicaceae*) sont détectés comme dominants dans 13 miels monofloraux (H2, H4, H5, H6, H12, H13, H14, H15, H18, H20, H22, H23 et H25) et 10 types (*Apiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Cistaceae*, *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae*, *Rhamnaceae* et *Rosaceae*) sont également identifiés comme pollen secondaire dans 13 échantillons polyfloraux (H1, H3, H7, H8, H9, H10, H11, H16, H17, H19, H21, H24 et H26).

Le spectre pollinique des miels analysés montre des similitudes dans le type de flore mellifère visitée par les abeilles et révèle l'abondance de certaines espèces florales, en particulier la famille des *Fabaceae*, qui est la plus abondante sauf dans l'échantillon de Skikda (H1). Ce type de pollen représente à lui seul 25 % du pollen total analysé, suivi des pollens d'*Apiaceae* (17 %), *Brassicaceae* (9 %), *Asteraceae* (5 %) et *Lamiaceae* (2 %). Ces familles de plante sont des ressources précieuses pour la majorité de la population rurale et représentent plus du tiers des plantes médicinales les plus utilisées par la population Algérienne. Ces plantes médicinales sont connues pour leur forte teneur en composés phénoliques qui sont responsables de différentes propriétés pharmacologiques, essentiellement des activités antioxydantes et antibactériennes (**Boudjelal et al., 2013; Noufou et al., 2012**).

Tableau VII : Spectres polliniques et pourcentages de pollens de miels analysés.

E	Origine Botanique	Pollens dominants ($\geq 45\%$)		Pollens secondaires (16-44%)		Pollens minoritaires (3-15%)		Pollens très minoritaires ($< 3\%$)	
		Type de pollen	Fréquence (%)	Type de pollen	Fréquence (%)	Type de pollen	Fréquence (%)	Type de pollen	Fréquence (%)
H1	PF	Absence	-	<i>Rhamnaceae</i> <i>Apiaceae</i>	31 19	<i>Asteraceae, Mimosaceae</i> <i>Ericaceae, Lamiaceae</i> <i>Teliaceae, Rutaceae</i>	(14), (11) (9), (6) (5), (3)	<i>Cistaceae</i>	2
H2	MF	<i>Fabaceae</i>	49	<i>Apiaceae</i>	31	<i>Ericaceae</i> <i>Rosaceae</i>	9 7	<i>Fagaceae,</i> <i>Borogonaceae</i> <i>Lamiaceae, Mimosaceae</i>	(1), (1) (1), (1)
H3	PF	Absence	-	<i>Apiaceae, Rhamnaceae</i> <i>Fabaceae</i>	(31), (22) (18)	<i>Brassicaceae, Cistaceae</i> <i>Rosaceae, Myrtaceae</i>	(8), (7) (5), (4)	<i>Lamiaceae, Teliaceae</i> Autre	(2), (2) (1)
H4	MF	<i>Ericaceae</i>	74	Absence	-	<i>Fabaceae, Brassicaceae</i> <i>Myrtaceae, Apiaceae</i>	(11), (7) (4), (3)	<i>Teliaceae</i>	1
H5	MF	<i>Myrtaceae</i>	61	<i>Fagaceae</i>	17	<i>Rhamnaceae, Fabceae</i> <i>Cistaceae</i>	(10), (5) (5)	<i>Rosaceae</i>	2
H6	MF	<i>Fabaceae</i>	46	<i>Apiaceae</i>	37	<i>Rhamnaceae</i> <i>Rosaceae</i>	7 4	<i>Ericaceae, Teliaceae</i> <i>Asteraceae, Cistaceae</i> <i>Lamiaceae</i>	(2), (1) (1), (1) (1)
H7	PF	Absence	-	<i>Apiaceae</i> <i>Fabaceae</i>	20 25	<i>Chenopodiaceae, Brassicaceae</i> <i>Rhamnaceae, Teliaceae</i> <i>Myrtaceae, Rosaceae</i>	(15), (13) (10), (7) (5), (5)	Absence	-
H8	PF	Absence	-	<i>Ericaceae</i>	29	<i>Myrtaceae, Rosaceae</i> <i>Fabaceae, Rhamnaceae</i> <i>Apiaceae, Cistaceae</i>	(15), (14) (12), (10) (7), (5)	<i>Mimosaceae,</i> <i>Brassicaceae</i> <i>Asteraceae, Teliaceae</i>	(2), (2) (2), (2)

H9	PF	Absence	-	<i>Asteraceae</i> <i>Fabaceae</i>	39 21	<i>Brassicaceae, Ericaceae</i> <i>Myrtaceae, Rhamnaceae</i> <i>Teliaceae, Apiaceae</i> <i>Cistaceae, Lamiaceae</i> <i>Rosaceae</i>	(7), (6) (6), (5) (4), (3) (3), (3) (3)	Absence	-
H10	PF	<i>Absence</i>	-	<i>Fabaceae</i> <i>Ericaceae</i>	44 19	<i>Asteraceae, Rhamnaceae</i> <i>Autre, Rosaceae</i>	(15), (10) (7), (5)	Absence	-
H11	PF	<i>Absence</i>	-	<i>Ericaceae</i> <i>Asteraceae</i>	38 23	<i>Fabaceae, Rhamnaceae</i> <i>Teliaceae, Brassicaceae</i> <i>Myrtaceae, Autre</i>	(9), (9) (7), (5) (3), (3)	<i>Apiaceae</i> <i>Rutaceae</i>	2 1
H12	MF	<i>Apiaceae</i>	69	<i>Fabaceae</i>	21	<i>Brassicaceae</i>	8	<i>Myrtaceae</i>	2
H13	MF	<i>Apiaceae</i>	45	<i>Fabaceae</i>	22	<i>Rhamnaceae, Rosaceae</i> <i>Asteraceae, Myrtaceae</i>	(10), (10) (5), (4)	<i>Lamiaceae, Ericaceae</i> <i>Equium</i>	(2), (1) (1)
H14	MF	<i>Fabaceae</i>	46	<i>Apiaceae</i>	44	<i>Rhamnaceae</i>	5	<i>Brassicaceae, Asteraceae</i> <i>Rosaceae, Myrtaceae</i>	(2), (1) (1), (1)
H15	MF	<i>Apiaceae</i>	52	<i>Fabaceae, Cistaceae</i>	(25), (18)	<i>Myrtaceae</i>	4	<i>Ericaceae</i>	1
H16	PF	<i>Absence</i>	-	<i>Fabaceae</i> <i>Asteraceae</i>	24 26	<i>Teliaceae, Brassicaceae</i> <i>Cystaceae, Rosaceae</i> <i>Apiaceae, Equium</i> <i>Autre</i>	(10), (11) (10), (6) (3), (3) (3)	<i>Poaceae</i> <i>Lamiaceae</i>	2 2
H17	PF	Absence	-	<i>Fabaceae</i> <i>Rhamnaceae</i>	31 38	<i>Eucalyptus, Fogaceae</i> <i>Rosaceae, Apiaceae</i>	(9), (15) (4), (3)	Absence	-
H18	MF	<i>Brassicaceae</i>	65	<i>Absence</i>	-	<i>Asteraceae, Fabaceae</i> <i>Myrtaceae, Rhamnaceae</i> <i>Liliaceae, Rosaceae</i> <i>Autre</i>	(8), (6) (4), (4) (3), (3) (3)	<i>Ericaceae</i> <i>Teliaceae</i>	2 2

H19	PF	Absence	-	<i>Brassicaceae, Rosaceae</i> Autre	(35), (20) (16)	<i>Lamiaceae, Liliaceae</i> <i>Poaceae, Myrtaceae</i>	(13), (8) (4), (4)	Absence	-
H20	MF	<i>Myrtaceae</i>	50	<i>Fabaceae</i>	16	<i>Fagaceae, Asteraceae</i> <i>Brassicaceae, Rosaceae</i>	(4), (4) (10), (7)	<i>Apiaceae, Rhamnaceae</i> <i>Eqium, Ericaceae</i> <i>Lamiaceae, Malvaceae</i>	(2), (2) (2), (1) (1), (1)
H21	PF	Absence	-	<i>Fabaceae</i> <i>Fagaceae</i>	23 21	<i>Brassicaceae, Lamiceae</i> <i>Rosaceae, Apiaceae</i> <i>Cyperus, Liliaceae</i>	(15), (13) (11), (7) (6), (4)	Absence	-
H22	MF	<i>Fabaceae</i>	45	Absence	-	<i>Rosaceae, Brassicaceae</i> <i>Cucurbitaceae, Ericaceae</i> <i>Rhamnaceae, Acacia</i> <i>Apiaceae, Teliaceae</i> <i>Asteraceae, Autre</i>	(12), (9) (6), (5) (5), (4) (4), (4) (3), (3)	Absence	-
H23	MF	<i>Apiaceae</i>	61	<i>Fabaceae</i>	29	<i>Brassicaceae, Rosaceae</i>	(5), (3)	<i>Myrtaceae</i>	2
H24	PF	Absence	-	<i>Fabaceae</i> <i>Brassicaceae</i>	40 20	<i>Lamiaceae, Rosaceae</i> <i>Cystaceae</i>	(15), (13) (12)	Absence	-
H25	MF	<i>Fabaceae</i>	50	<i>Rosaceae</i>	30	<i>Brassicaceae</i> <i>Cystaceae</i>	10 10	Absence	-
H26	PF	Absence	-	<i>Myrtaceae, Rhamnaceae</i> <i>Fabaceae, Rosaceae</i>	(36), (23) (20), (16)	Autre	5	Absence	-

E : Echantillons. PF : PolyFloral. MF : MonoFloral.

Les quatorze autres familles de plantes ne représentent que 42 % du pollen total. Cependant, certains types sont jugés minoritaires ou très minoritaires tels que les *Teliaceae* et les *Cistaceae*. L'analyse révèle également la présence de certains pollens spécifiques de certaines régions, comme les *Mimosaceae* (Skikda et Bejaia), *Chenopodiaceae* (Setif), *Equium* (Tizi-Ouzou et Ain Defla) et *Malvaceae* et *Cyperus* (Ain Defla). Les photos de quelques grains de pollen identifiés dans les miels analysés sont présentées dans la figure 14.

Les miels H7, H9, H10, H17, H19, H21, H22, H24, H25 et H26 ne présentent pas de pollen très minoritaire, ceci est dû à leur teneur élevée en pollen dominant, secondaire et minoritaire. L'analyse révèle aussi que les échantillons H12, H15, H23, H24, H25 et H26 présentent moins de diversité botanique par rapport autres miels analysés. Cela peut s'expliquer par la dominance de certaines familles florales dans la région de récolte. D'autre part, les miels des régions de Tizi-Ouzou (H12, H13, H14, H15 et H16), Béjaia (H8, H9 et H10) et Sétif (H6 et H7) renferment tous le pollen des *Apiaceae* et des *Fabaceae*.

La répartition du pollen par région géographique montre que les régions côtières enregistrent la présence de 20 types de pollen et les régions internes marquent 19 types. Cela confirme la richesse botanique dans le nord de l'Algérie précédemment démontrée par **Ouchemoukh et al. (2007)** et **Makhloufi et al. (2015)**. Cependant, les régions sub-sahariennes enregistrent seulement 9 types. Ces différences sont principalement dues aux caractéristiques géographiques des régions de récolte et à la diversité botanique du nord par rapport au sud de l'Algérie.

Les résultats de l'analyse pollinique obtenus sont différents de ceux rapportés par **Ouchemoukh et al. (2007)** pour les miels de Bejaia dont 13 familles de plantes correspondant à 17 types de pollen sont révélées. Les résultats obtenus sont également distincts de ceux trouvés par **Ávila et al. (2019)** dans les miels Brésiliens, dont l'analyse révèle la présence de neuf familles de pollens dominées par les *Asteraceae*, *Sapindaceae*, *Myrtaceae* et *Verbenaceae*. Cependant, **Makhloufi et al. (2007)** ont rapporté l'*Eucalyptus*, l'*Hedysarum* et le *Trifolium* comme pollens dominants dans 66 miels Algériens.

Les différences de teneur en pollen des miels pourraient s'expliquer par la richesse botanique de la zone de récolte, les conditions climatiques et la distance entre la ruche et le champ de fleurs. La présence des miels polyfloraux peut s'expliquer par l'absence de monocultures à grande échelle dans les régions où la récolte du miel est effectuée (**Makhloufi et al., 2010 ; Ouchemoukh et al. , 2007**).

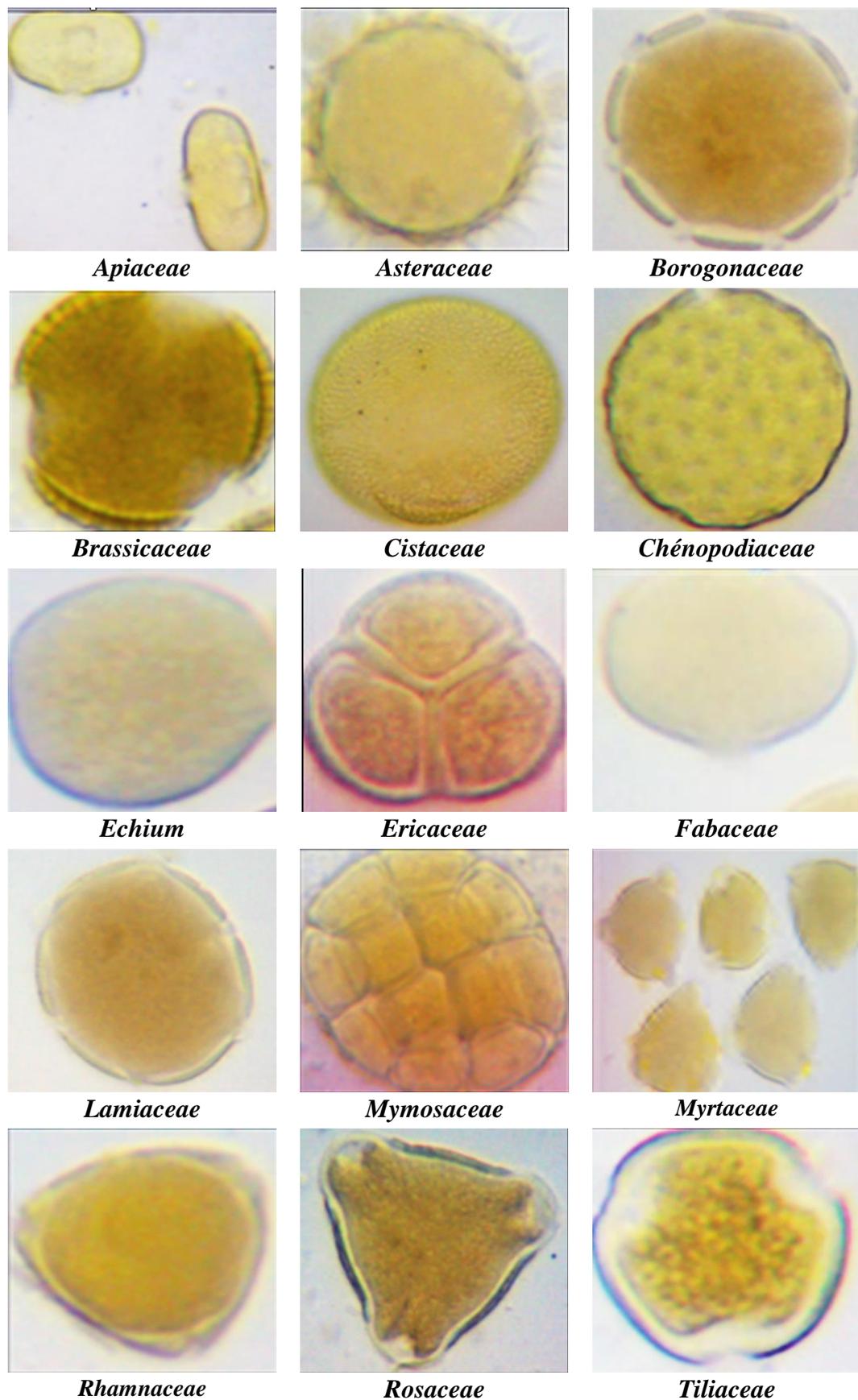


Figure 14 : Photographies des grains de pollen de quelques miels analysés.

II. Analyses physico-chimiques

Les paramètres physicochimiques sont utilisés comme indicateurs d'authenticité, de qualité et de stabilité du miel (**Belhadj et al., 2015**). Parfois, ils sont complémentaires à l'identification de l'origine florale. Les résultats des paramètres physico-chimiques des miels analysés ont fait l'objet de comparaison aux normes légales établies par le Codex Alimentarius et la Commission Européenne de miel (annexes 6 et 7).

II.1. Brix

Le miel en grande partie est composé de glucides qui sont exprimés par le degré de brix (**Conti et al., 2014**). Les différents résultats de brix des miels étudiés sont présentés dans la figure 15. Les valeurs obtenues sont largement supérieures à la limite minimale des miels de nectar (> 60 %) et à la norme fixée par le **Codex Alimentarius (2001)** (> 65 %) concernant la teneur des miels en sucres totaux.

Le brix moyen des miels monofloraux est de 81,28 % et celui des miels polyfloraux est de 80,79 %. Les miels de Tizi-Ouzou (H12) et de Mostaganem (H24) montrent le brix le plus élevé avec des valeurs respectives de 82,92 et de 83,52 %, ce qui indique la richesse en sucres de ces échantillons. Par contre, les échantillons de Jijel (H4) et de Tlemcen (H26) sont moins riches en glucides avec des valeurs de 79 et 78,43 %, respectivement.

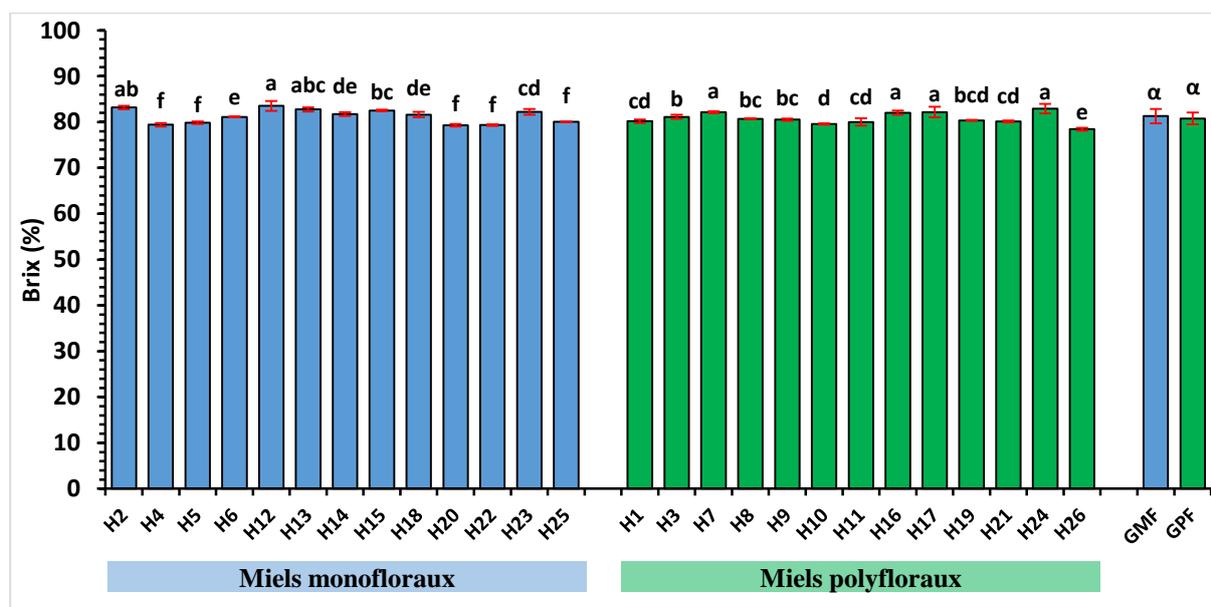


Figure 15 : Brix des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

En comparaison avec des études antérieures, ces résultats sont supérieurs aux valeurs rapportées par **Izzah et al. (2021)** dans les miels de Malaisie (56,20 à 84 %) mais proche des résultats rapportés par **Al-Farsi et al. (2018)** dans les miels Omani (80,1 à 83,6 %).

Le brix des miels *Apiaceae* est supérieur à 82 % et celui des miels *Fabaceae* est entre 80 et 82 %. Cependant, les miels *Ericaceae* et *Myrtaceae* ont un brix situé entre 79 et 80 %. Les miels polyfloraux de Sétif (H7), Tizi-Ouzou (H16), Boumerdes (H17) et Mostaganem (H24) montrent un degré de brix supérieur à 82 %. Les échantillons de Skikda (H1), Batna (H3), Bejaia (H8 et H9), Bordj Bouarreridj (H11), Médéa (H19) et Ain Defla (H21) révèlent un brix compris entre 80 et 82 %. En revanche, les miels de Bejaia (H10) et de Tlemcen (H26) présentent un brix entre 78 et 80 %. Selon les résultats obtenus, les origines botanique et géographique s'avèrent des facteurs importants qui influencent la teneur en sucres des miels.

L'analyse de la variance des miels monofloraux pour le degré de brix, montre 2 groupes homogènes (H4, H5, H20, H22, et H25) et (H14 et H18) et les autres échantillons sont significativement différents. Cependant, les miels polyfloraux révèlent 3 groupes homogènes (H1, H11 et H21), (H7, H16, H17 et H24) et (H8 et H9).

Ils existent plusieurs paramètres qui peuvent expliquer ces variations de degré de brix tels que l'origine botanique des plantes sur lesquelles le miellat et/ou le nectar est prélevé, l'environnement, le climat et les conditions de stockage du miel (**Ouchemoukh et al., 2007**).

II.2. Humidité

La teneur en eau est un facteur très important pour estimer le degré de maturité du miel. Une faible humidité pourrait entraîner une caramélisation et une cristallisation accrue. Cependant, un taux en humidité supérieur à 20 % peut provoquer une croissance microbienne pendant la distribution et le stockage ce qui conduit à la fermentation du miel (**Choi et Nam, 2020 ; Majewska et al., 2019**).

L'humidité des échantillons analysés se situent dans la limite (< 20 %) recommandée par le **Codex Alimentarius (2001)**, ce qui indique que les échantillons analysés sont matures (Figure 16). Les résultats obtenus sont plus ou moins variables et sont moins importants dans les miels *Apiaceae* (H12) et polyfloral de Mostaganem (H24) (14,65 et 15,09 %, respectivement). Ces miels ne présentent aucun risque de fermentation. En revanche, les miels *Myrtaceae* (H20) (19,05 %) et polyfloral de Tlemcen (H26) (20,10 %) ont la teneur en eau la plus élevée. Ce qui augmente le risque de la croissance microbienne dans ces échantillons.

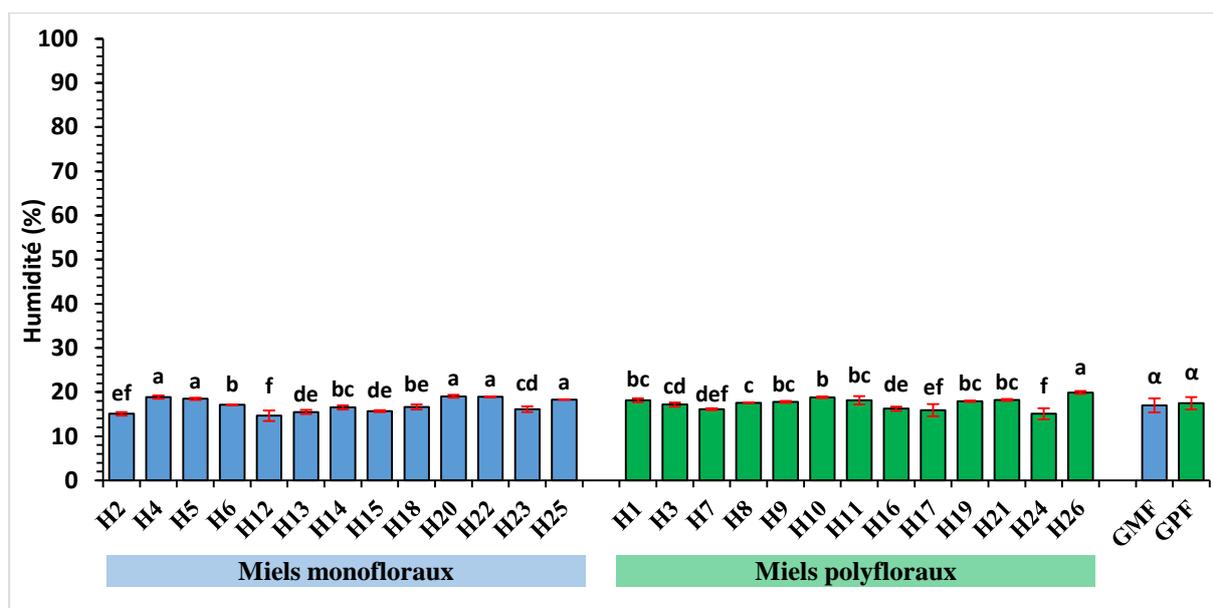


Figure 16 : Taux d'humidité des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

L'humidité des miels de Skikda (H2), Tizi-Ouzou (H12, H13 et H15), Boumerdes (H17) et Mostaganem (H24) ne dépasse les 16 %. Par contre, les miels de Skikda (H1), Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10), Bordj Bouarreridj (H11), Ain Defla (H20 et H21), Chlef (H22) et Naâma (H25) enregistrent une humidité qui dépasse les 18 %. Le miel de Tlemcen montre la plus grande teneur en eau (20,10 %) ceci est probablement due au phénomène d'hygroscopie, à la récolte précoce ou aux mauvaises conditions de stockage de cet échantillon.

Les taux d'humidité obtenus dans la présente étude sont inférieurs à ceux rapporté par **Sajid *et al.* (2020)** dans les miels du Pakistan (18 à 19 %). Des résultats similaires sont rapportés par **Baloš *et al.* (2021)** dans les miels de Serbie (14,6 à 18,60 %).

L'analyse de la variance de la teneur en eau montre que les miels monofloraux sont significativement différents à l'exception des 2 groupes (H4, H5, H20, H22, et H25) et (H13 et H15). Les miels polyfloraux sont statistiquement différents sauf les échantillons H1, H9, H11, H19 et H21 qui ne présentent pas de différence significative dans leur humidité.

La variabilité de l'humidité dans le miel est due principalement à l'origine botanique, à l'humidité du nectar, à la force de la colonie d'abeille, aux conditions climatiques, à l'humidité relative dans la zone de récolte et aux conditions de transformation et de stockage du miel (**Majewska *et al.*, 2019**).

II.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) est un paramètre de qualité qui permet d'estimer la richesse du miel en molécules ionisables. Il permet aussi de différencier le miel de miellat ($CE > 0,8 \text{ mS cm}^{-1}$) de celui du nectar ($CE < 0,8 \text{ mS cm}^{-1}$) (**Codex Alimentarius, 2001**). La conductivité électrique obtenue varie de 0,12 (H21) à 1,21 (H11) mS cm^{-1} et les valeurs moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 0,44 et 0,48 mS cm^{-1} , respectivement (Figure 17). Ces résultats suggèrent que tous les miels analysés proviennent de nectar, à l'exception de l'échantillon H11 (1,21 mS cm^{-1}), qui est probablement un mélange de nectar et du miellat. Les valeurs obtenues sont comparables à celles rapportées par **Molina et al. (2020)** avec les miels du Chili (0,25 à 1,47 mS cm^{-1}) et elles sont supérieures à celles des miels du Brésil (0,12 à 0,66 mS cm^{-1}) rapportées par **Nascimento et al. (2018)**.

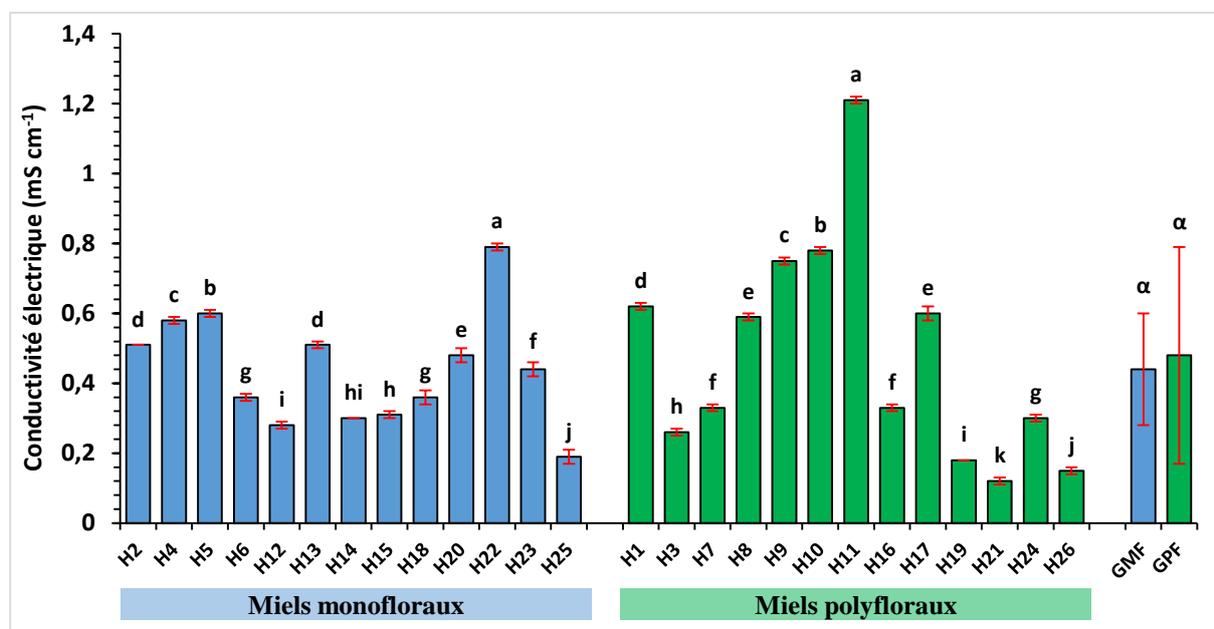


Figure 17 : Conductivité électriques des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les miels clairs (H19, H21, H25 et H26) présentent une faible conductivité électrique qui se situe entre 12 et 19 mS cm^{-1} . Par contre, les miels les plus foncés (H1, H4, H5, H9, H10, H11, H17 et H22) montrent la conductivité électrique la plus élevée et qui est comprise entre 0,58 et 0,79 mS cm^{-1} . Ces résultats concordent avec les corrélations rapportées par **Nayik et al. (2016)** entre la couleur et la conductivité électrique des miels.

Le test d'ANOVA de la conductivité électrique révèle 2 groupes homogènes (H2 et H13) et (H6 et H18) pour les miels monofloraux et 2 groupes homogènes (H7 et H16) et (H8 et H17) pour les miels polyfloraux avec des valeurs qui ne diffèrent pas statistiquement.

Les valeurs de la conductivité électrique des miels de Batna (H3), Sétif (H6 et H7), Tizi-Ouzou (H12, H14, H15 et H16), Djelfa (H18) et Mostaganem (H24) sont semblables à celles rapporté par **Makhloufi et al. (2021)** dans les miels Algériens des régions subhumide (Alger), Semi-aride (Rélizane, Médéa et Tiaret) et aride (Djelfa, Bechar, El Bayadh et Laghouat) avec un intervalle de 0,22 à 0,42 mS cm⁻¹. Cependant, les miels de la région de Bejaia (H8, H9 et H10) montrent des faibles valeurs de conductivité électriques par rapport à celles rapportées par **Ouchemoukh et al. (2007)** dans les miels de la même région (0,21 à 1,61 mS cm⁻¹).

La variabilité de la capacité du miel à conduire le courant électrique peut s'expliquer par la différence de l'origine botanique et de la composition chimique (teneurs en minéraux, acides organiques, polyols, protéines et autres substances ionisables) (**da Silva et al., 2016**).

II.4. Cendres

La teneur en cendres est un critère de qualité qui représente la teneur minérale globale du miel après incinération. Elle offre la possibilité de différencier les miels de nectar et les miels de miellat (**Azonwade et al., 2018**).

Les teneurs moyennes en cendres des échantillons monofloraux et polyfloraux sont de 0,17 et 0,21 %, respectivement. Les miels *Fabaceae* (H22) (0,37 %) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (0,61 %) enregistrent la teneur en cendres la plus élevée. En revanche, les miels *Myrtaceae* (H5) (0,08 %), *Apiaceae* (H23) (0,08 %) et polyfloral d'Ain Defla (H21) (0,01 %) enregistrent simultanément la teneur la plus faible (Figure 18). Ces résultats obtenus sont distincts de ceux des miels Portugais et Serbe rapportés par **Anjos et al. (2018)** (0,06 à 0,4 %) et **Sakač et al. (2019)** (0,08 à 0,15 %), respectivement.

Le **Codex Alimentarius (2001)** rapporte que la limite maximale de la teneur en cendres autorisée pour les miels de nectar est de 0,60 % et celle des miels de miellat est de 1,2 %. Les résultats de la teneur en cendre confirment ceux obtenus avec la conductivité électrique qui suggèrent que tous les échantillons analysés sont issus de nectar à l'exception de miel H11 qui est probablement un mélange de nectar et de miellat.

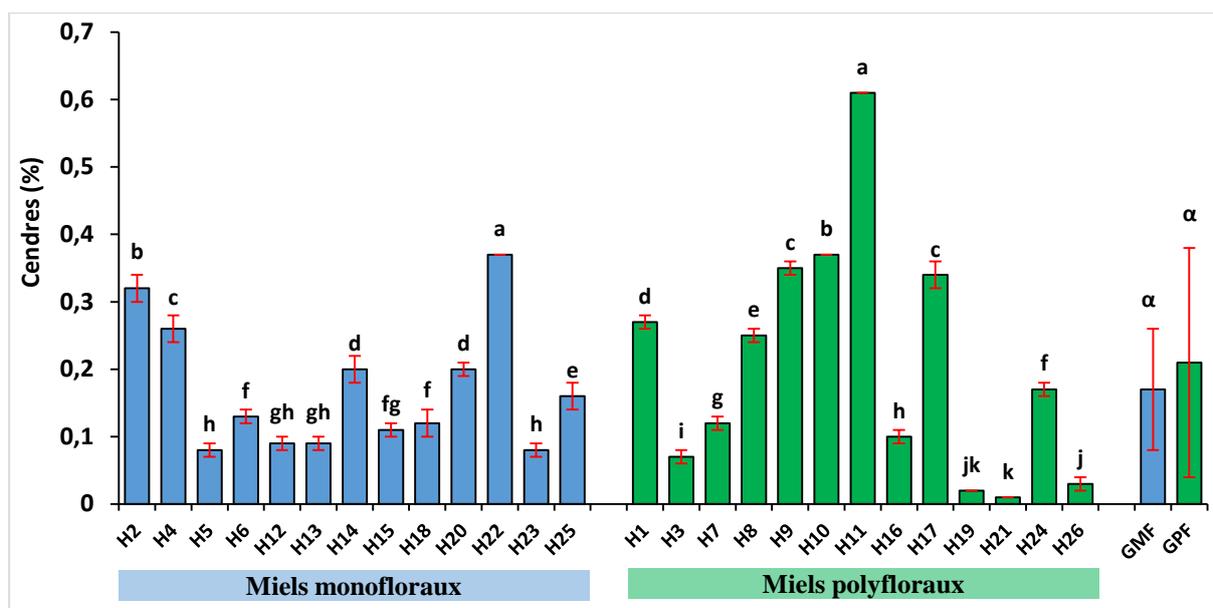


Figure 18 : Teneurs en cendres des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les miels de Tizi-Ouzou (H12, H13, H15 et H16) montrent des teneurs en cendres inférieures à 0,11 % à l'exception de l'échantillon H14 (0,20 %) de la région de Freha. Les miels de Bejaia (H8, H9 et H19) montrent également des valeurs qui ne dépassent pas 0,37 %. Les miels de Skikda, Jijel et Chlef (régions côtières) possèdent des teneurs en cendres similaires. Cette similitude est probablement due à la même origine géographique des miels analysés. L'analyse statistique révèle que les miels monofloraux (H2, H4, H22 et H25) et tous les échantillons polyfloraux à l'exception des miels H9 et H17 possèdent des teneurs en cendres significativement différentes.

Les différences des teneurs en cendres des miels dépend essentiellement de matériels collectés par les abeilles, de sol et de climat de la région d'origine du miel (**Belhadj *et al.*, 2015**).

II.5. pH

La plupart des miels ont un pH relativement acide, allant de 3,5 à 4,5 pour les miels de nectar et de 4,5 à 5,5 pour les miels de miellat (**Bogdanov *et al.*, 1999**). Les résultats de pH obtenus montrent que les miels *Apiaceae* de Tizi-Ouzou (H13) et polyfloral de Mostaganem (H24) sont légèrement plus acides que les autres miels avec des valeurs respectives de 3,52 et 3,46. Des valeurs supérieures à la norme de miel de nectar (4,5) sont enregistrées par le miel *Brassicaceae* de Djelfa (4,87) et le miel polyfloral de Bordj Bouarreridj (4,64) (Figure 19).

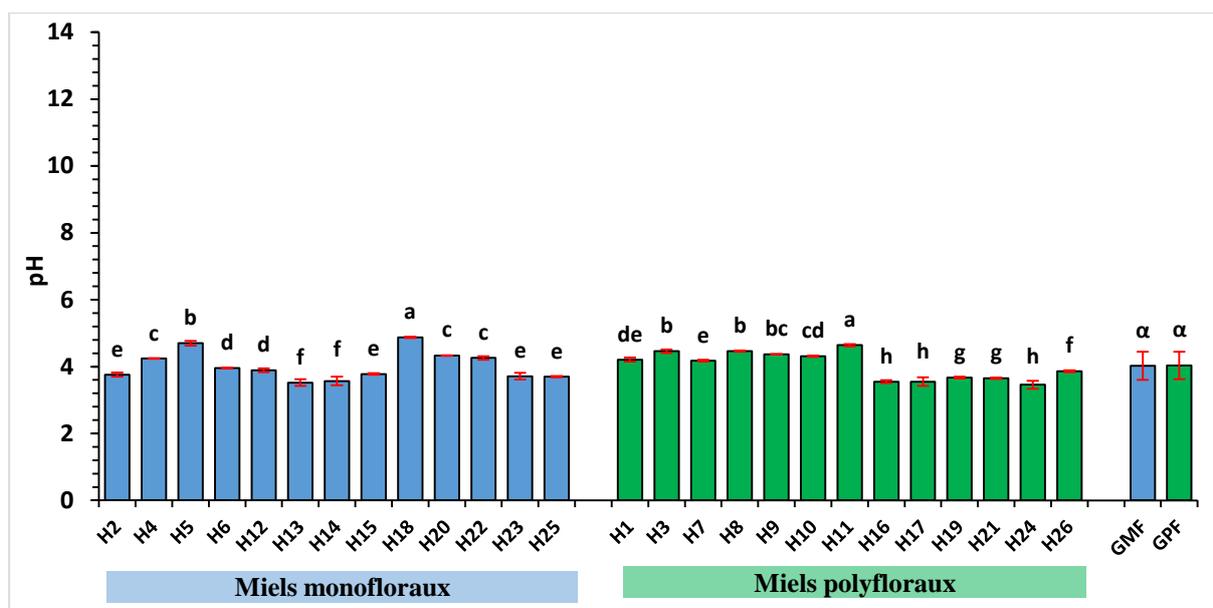


Figure 19 : pH des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels Monofloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Le pH obtenu pour l'échantillon H11 confirme les résultats de la conductivité électriques et de la teneur en cendres qui suggèrent que ce miel est un mélange de nectar et de miellat. Les résultats de pH obtenus sont similaires à ceux rapportés dans les miels de Serbie (3,38 à 4,19) (Sakač *et al.*, 2019) et du Sultanat d'Oman (3,46 à 4,90) (Al-Farsi *et al.*, 2018). En revanche, ces résultats sont différents de ceux des miels Brésiliens (3,21 et 3,62) (Ávila *et al.*, 2019).

Les pH des miels de Bejaia (H8, H9 et H10) sont en accord avec ceux rapporté par Ouchemoukh *et al.* (2007) dans les miels de la même région, avec un intervalle de 3,49 à 4,43. L'analyse de la variance montre 4 groupes homogènes (H2, H15, H23 et H25), (H4, H20 et H22), (H6 et H12) et (H13 et H14) pour les miels monofloraux et 3 groupes homogènes (H3 et H8), (H16, H17 et H24) et (H19 et H21) pour les miels polyfloraux.

Les variations de pH des miels peuvent s'expliquer par l'origine géographique, l'influence de différentes sources de nectar, la nature du sol et la dégradation du glucose en acide gluconique. Il s'avèrent également que le vieillissement naturel du miel et la quantité de sels minéraux affectent le pH (Bogdanov, 2011; Bogdanov *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2014).

II.6. Acidités

Dans le miel l'action enzymatique de la gluco-oxydase sur le glucose produit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'acide gluconique qui est le principal acide du miel. La forme non cyclique donne la forme acide alors que la forme cyclique donne la forme lactone. Il existe dans les miels un équilibre entre les deux formes, qui dépend du pouvoir de chaque miel. L'acidité libre et lactone du miel permettent de mesurer l'importance de chaque forme. Les résultats des acidités libre, liée et totale sont présentés dans les Figures 20, 21 et 22.

II.6.1. Acidité libre

L'acidité libre est la quantité de la forme non-cyclique calculée à partir de la quantité de soude qu'il faut y rajouter pour la neutraliser (**Ouchemoukh, 2012**). L'acidité libre des miels analysés se situent dans les limites établies par le **Codex Alimentarius (2001)** ($< 50 \text{ meq kg}^{-1}$). Cela indique la fraîcheur de ces échantillons.

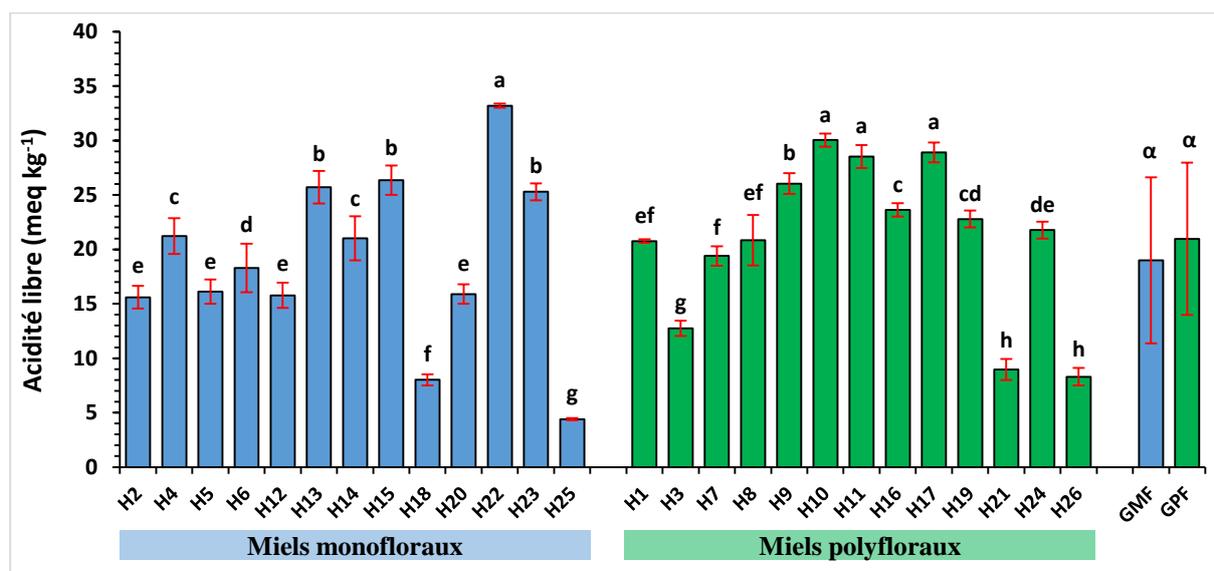


Figure 20 : Acidité libre des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les valeurs moyennes de l'acidité libre des miels monofloraux et polyfloraux sont respectivement de 18,99 et 20,97 meq kg^{-1} . Le niveau le plus élevé est enregistré par les miels *Fabaceae* de Chléf (H22) (33,21 meq kg^{-1}) et polyfloral de Bejaia (H10) (30,01 meq kg^{-1}). En revanche, le niveau le plus faible est enregistré par les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) (4,40 meq kg^{-1}) et polyfloral de Tlemcen H26 (8,30 meq kg^{-1}).

Les résultats obtenus confirment bien le caractère acide des échantillons analysés et sont proches de ceux rapportés par **Kumar et al. (2018)** avec les miels Indiens (14,83 à 40,17 meq kg⁻¹) mais inférieurs à ceux des miels de Pologne (9,4 à 91,4 meq kg⁻¹) (**Majewska et al., 2019**).

Les miels *Fabaceae* de Chlef (H22) et polyfloral de Bejaia (H10) enregistrent une acidité libre supérieure à 30 meq kg⁻¹. Cette valeur accrue de l'acidité dénote le début du processus de fermentation, à travers lequel les alcools produits sont transformés en acides organiques. Les échantillons de Djelfa (H18), Ain Defla (H21), Naâma (H25) et Tlemcen (H26) montrent une acidité libre qui ne dépasse pas les 9 meq kg⁻¹. Ce qui indique le bon conditionnement de ces échantillons.

L'analyse de la variance de l'acide libre des miels monofloraux révèle 3 groupes homogènes (H2, H5, H12 et H20), (H4 et H14) et (H13, H15 et H23). Elle montre également 3 groupes homogènes pour les miels polyfloraux (H1 et H8), (H10, H11 et H17) et (H21 et H26).

L'acidité libre du miel est principalement liée à la présence d'acides organiques tels que l'acide gluconique et d'ions inorganiques tels que le phosphate, le sulfate et le chlorure (**Moreira et al., 2007 ; Terrab et Heredia, 2004**).

II.6.2. Acidité liée

L'acidité combinée est le produit de la cyclisation des acides organiques pour former des esters cycliques appelés lactones. Cette réaction se traduit par la perte d'une molécule d'eau et la disparition de la fonction carboxylique de l'acide. La cyclisation de l'acide gluconique par exemple donne le D-glucono 1,4- lactone. L'acidité lactonique est considérée comme la réserve d'acidité lorsque les miels deviennent alcalins (**Azonwade et al., 2018 ; Ouchemoukh, 2012**).

L'acidité combinée moyenne des miels monofloraux et polyfloraux est de 10,45 et 12,49 meq kg⁻¹, respectivement. La valeur la plus élevée en acidité liée est enregistré par les miels H20 (18,27 meq kg⁻¹) et H7 (20,13 meq kg⁻¹). Cependant, la valeur la plus faible est marquée par les échantillons H25 (3,34 meq kg⁻¹) et H26 (4,48 meq kg⁻¹). Les résultats de l'acidité combinée obtenus sont proches de ceux rapportés par **Kumar et al. (2018)** (0,5 à 12,33 meq kg⁻¹). Cependant, **Laaroussi et al. (2020)** ont rapporté des valeurs inférieures dans les miels Marocain (4,94 à 14,14 meq kg⁻¹).

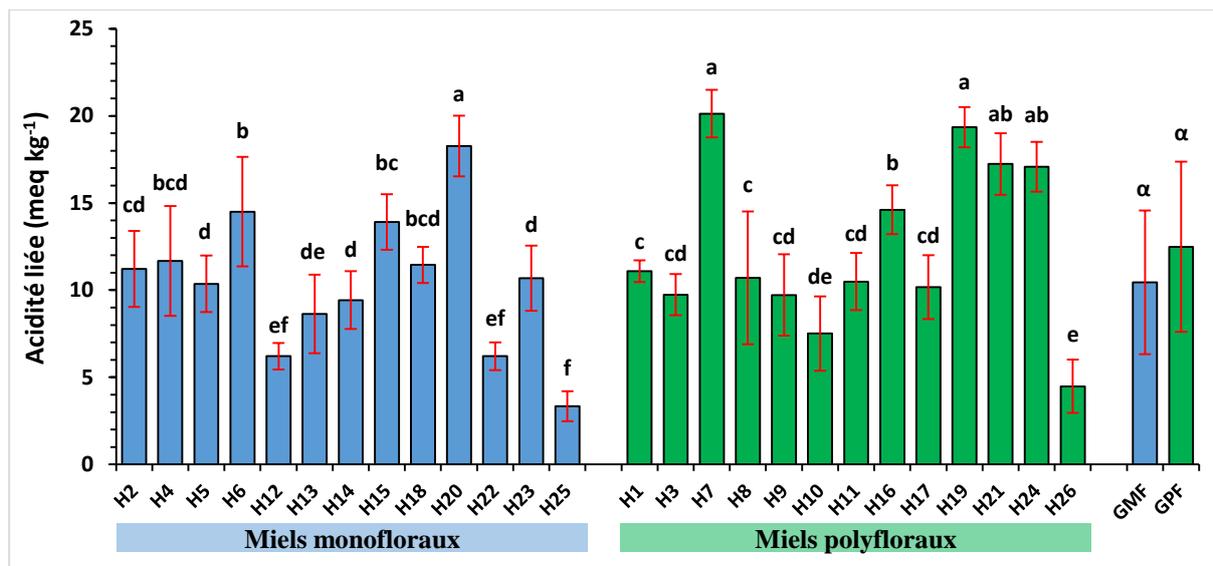


Figure 21 : Acidité liée des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

L'acidité liée des miels de Tizi-Ouzou (H12, H13 et H14), Chlef (H22), Bejaia (H10) et Tlemcen (H26) ne dépasse pas les 10 meq kg^{-1} . Cependant, les échantillons de Sétif (H7), Médéa (H19), Ain Defla (H20 et H21) et Mostaganem (H24) présentent une acidité combinée supérieure à 17 meq kg^{-1} .

Les groupes homogènes (H4 et H18), (H5, H14 et H23) et (H12 et H22) présentent des valeurs d'acidité combinée qui ne sont pas statistiquement différent par rapport au reste des miels monofloraux. Concernant les miels polyfloraux, l'ANOVA révèle 4 groupes homogènes (H1 et H8), (H3, H9, H11 et H17), (H7 et H19) et (H21 et H24).

L'acidité combinée des miels est due aux réactions d'estérification des acides organique qui réagissent entre eux pour donner des lactones (esters cycliques) (**Ouchemoukh, 2012**).

II.6.3. Acidité totale

L'acidité totale est la somme de l'acidité cyclique et de l'acidité non-cyclique. L'acidité totale moyenne des miels monofloraux est de $29,44 \text{ meq kg}^{-1}$ avec des valeurs qui varient de $7,74$ (H25) à $40,26$ (H15) meq kg^{-1} . Cependant, cette acidité pour les miels polyfloraux est comprise entre $12,78$ (H26) et $42,13$ (H19) meq kg^{-1} avec une moyenne de $33,47 \text{ meq kg}^{-1}$.

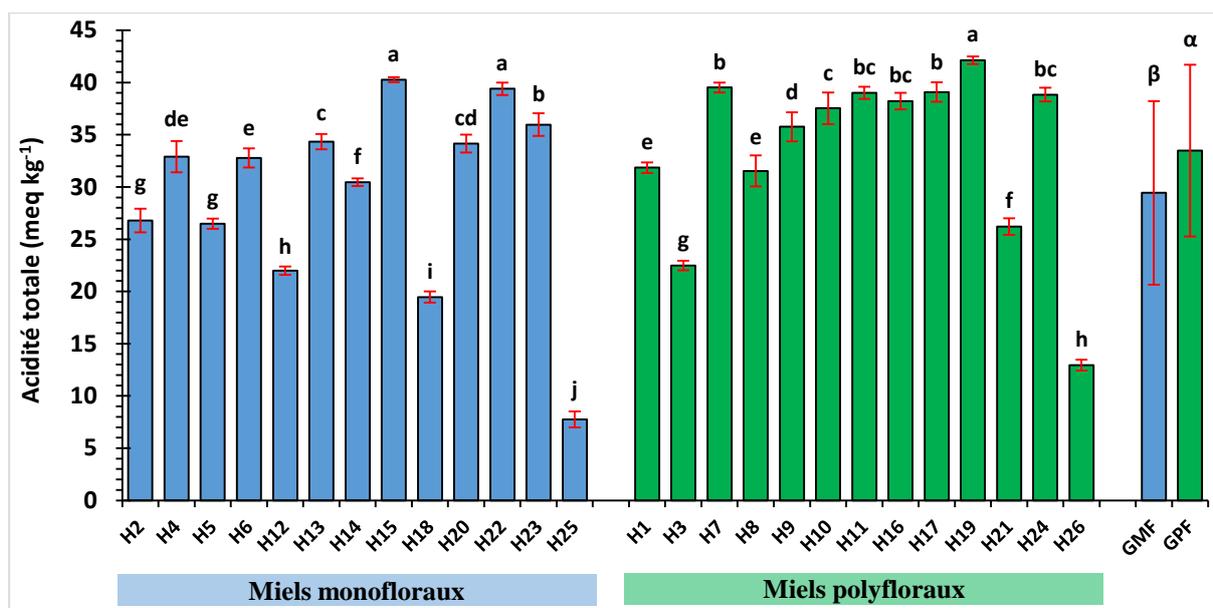


Figure 22 : Acidité totale des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Habib *et al.* (2014) et **Kumar *et al.* (2018)** ont rapporté des valeurs de l'acidité totale similaires dans les miels des régions arides et des miels Indiens avec des intervalles de 10,88 à 40,69 meq kg⁻¹ et 22,67 à 49,33 meq kg⁻¹, respectivement. Cependant, **Anjos *et al.* (2018)** ont rapporté des valeurs d'acidité totale dans les miels Portugais allant de 10,5 à 36,8 meq kg⁻¹.

L'analyse statistique de l'acidité totale des miels monofloraux montre 2 groupes homogènes (H2 et H5) et (H15 et H22) tandis que les échantillons polyfloraux marquent 3 groupes homogènes (H1 et H8), (H7 et H7) et (H11, H16 et H24) qui ont la même acidité totale.

II.7. Couleur

II.7.1. Intensité de couleur ABS₄₅₀

La couleur du miel est un paramètre qui indique la présence de pigments tels que les flavonoïdes et les caroténoïdes (**Moniruzzaman *et al.*, 2013**). Les résultats obtenus montrent que l'intensité de couleur des miels monofloraux varie de 352 à 1484 mAU, enregistré respectivement par les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) et *Myrtaceae* de Jijel (H5). D'autre part, la couleur des miels polyfloraux varie de 379 (H19) à 1513 (H11) mAU (Figure 23).

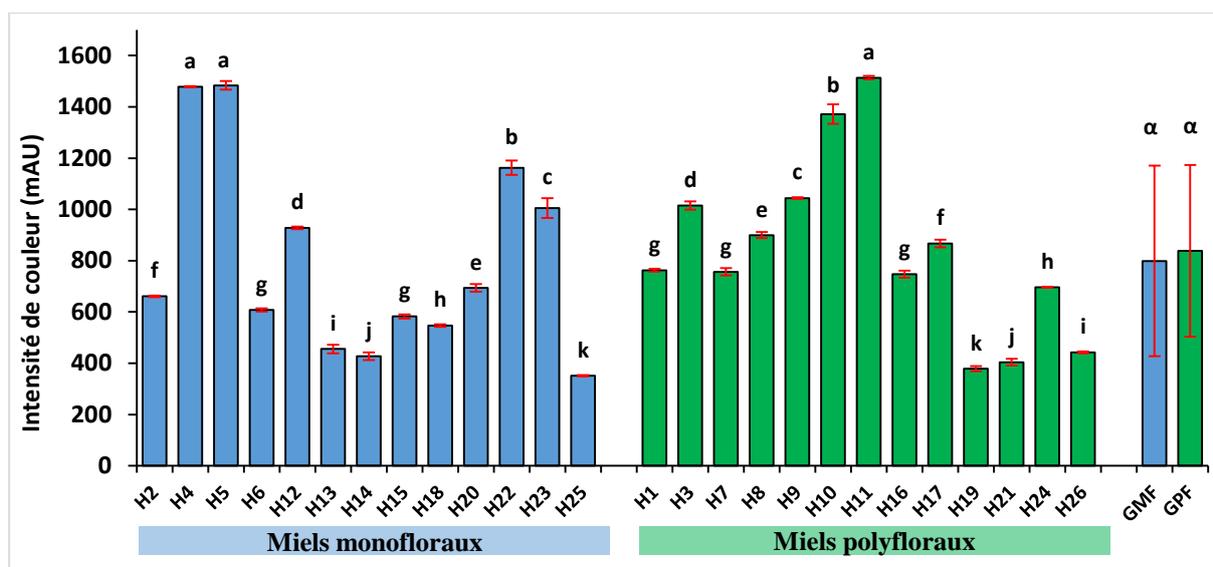


Figure 23 : Intensité de couleur ABS_{450} des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les valeurs obtenues sont similaires à celles des miels d'Inde qui varient de 210 à 1228 mAU (**Saxena et al., 2010**).

Les miels de la région de Jijel (H4 et H5) montrent des intensités de couleur similaires. Cela est due au fait qu'ils appartiennent à la même zone géographique. L'analyse statistique révèle 2 groupes homogènes (H4 et H5) et (H6 et H15) pour les miels monofloraux et un groupe homogène (H1, H7 et H16) pour les miels polyfloraux.

La différence de couleur des miels pourrait être due à l'origine botanique et aux réactions biochimiques pendant la maturation du miel (**Berreta et al., 2005; Moniruzzaman et al., 2013**).

II.7.2. Couleur (échelle Pfund)

La couleur du miel est la première caractéristique physique immédiatement aperçue par le consommateur. C'est un élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du miel par le consommateur (**Ouchemoukh, 2012**).

Les résultats obtenus montrent que la couleur des miels analysés varie de blanc à l'ambre foncé (Tableau VIII). L'intensité de couleur moyenne des miels monofloraux et polyfloraux sont respectivement de 195 et 224 mm Pfund (Figure 24).

L'intensité la plus élevée est enregistré par les miels *Fabaceae* de Chlef (H22) (492 mm Pfund) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (619 mm Pfund). L'intensité la plus faible est obtenue par les échantillons *Fabaceae* de Naâma (H25) (33 mm Pfund) et polyfloral de Bejaia (H9) (61 mm Pfund).

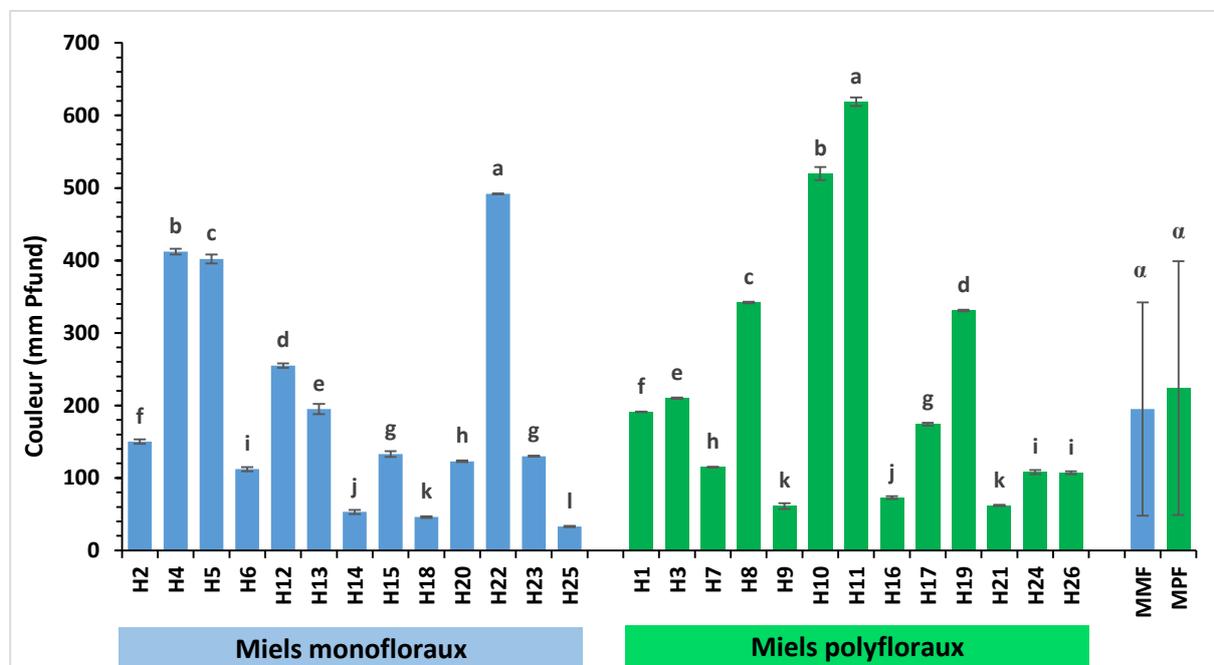


Figure 24 : Intensité de couleur (échelle Pfund) des miels analysés

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats obtenus sont plus élevés que ceux rapportés par **Al-Farsi *et al.* (2018)** dans les miels Omanais (66 à 336 mm Pfund), par **Pauliuc *et al.* (2020)** dans les miels Roumains (29 à 74 mm Pfund) et par **Laaroussi *et al.* (2020)** dans les miels Marocains (30,47 à 175,53 mm Pfund).

Les miels foncés tels que les échantillons qui proviennent de Jijel (H4), Bejaia (H10), Bordj Bouarreridj (H11) et Chlef (H22) avec les intensités de couleur les plus élevées montrent les plus grandes conductivités électriques et les teneurs en cendres les plus élevées. En revanche, les miels ambre clair d'Ain Defla (H21), blanc de Naâma (H25) et ambre de Tlemcen (H26) montrent des faibles conductivités électriques et des faibles teneurs en cendres. Le test ANOVA des miels monofloraux montre un groupe homogène (H15 et H23), tandis que les échantillons polyfloraux montrent 2 groupes homogènes (H9 et H21) et (H24 et H26).

La variation de la couleur du miel dépend principalement de la teneur en composés phénoliques, en caroténoïdes et en minéraux. D'autres paramètres de stockage, comme la température et la lumière, s'avèrent également affecter la couleur du miel (**Moniruzzaman et al., 2013**).

Tableau VIII : Noms des couleurs correspondants à l'échelle Pfund.

Echantillon		Nom de la couleur	Echantillon		Nom de la couleur
Miel monofloral	H2	Ambre foncé	Miel polyfloral	H1	Ambre foncé
	H4	Ambre foncé		H3	Ambre foncé
	H5	Ambre foncé		H7	Ambre foncé
	H6	Ambre		H8	Ambre foncé
	H12	Ambre foncé		H9	Ambre clair
	H13	Ambre foncé		H10	Ambre foncé
	H14	Ambre clair		H11	Ambre foncé
	H15	Ambre foncé		H16	Ambre clair
	H18	Ambre extra clair		H17	Ambre foncé
	H20	Ambre foncé		H19	Ambre foncé
	H22	Ambre foncé		H21	Ambre clair
	H23	Ambre foncé		H24	Ambre
H25	Blanc	H26	Ambre		

II.8. Teneurs en HMF

L'HMF est le produit de déshydratation des monosaccharides et sa teneur est considérée comme l'un des critères de qualité du miel. Il est utilisée pour évaluer la fraîcheur ou le surchauffage du miel (**Sajid et al., 2020**). Les résultats de la teneur en HMF des miels analysés montrent que tous les échantillons sont en accord avec les normes de la Commission Internationale du miel (40 mg kg^{-1}), à l'exception de neuf échantillons (H2, H13, H15, H16, H17, H24 et H25). Cela peut être dû au chauffage ou à de mauvaises conditions de stockage de ces miels (**Molina et al., 2020**). Le miel frais tel que les échantillons de Batna (H3), Jijel (H4) et Bejaia (H9) contient le plus souvent moins de 3 mg kg^{-1} d'HMF.

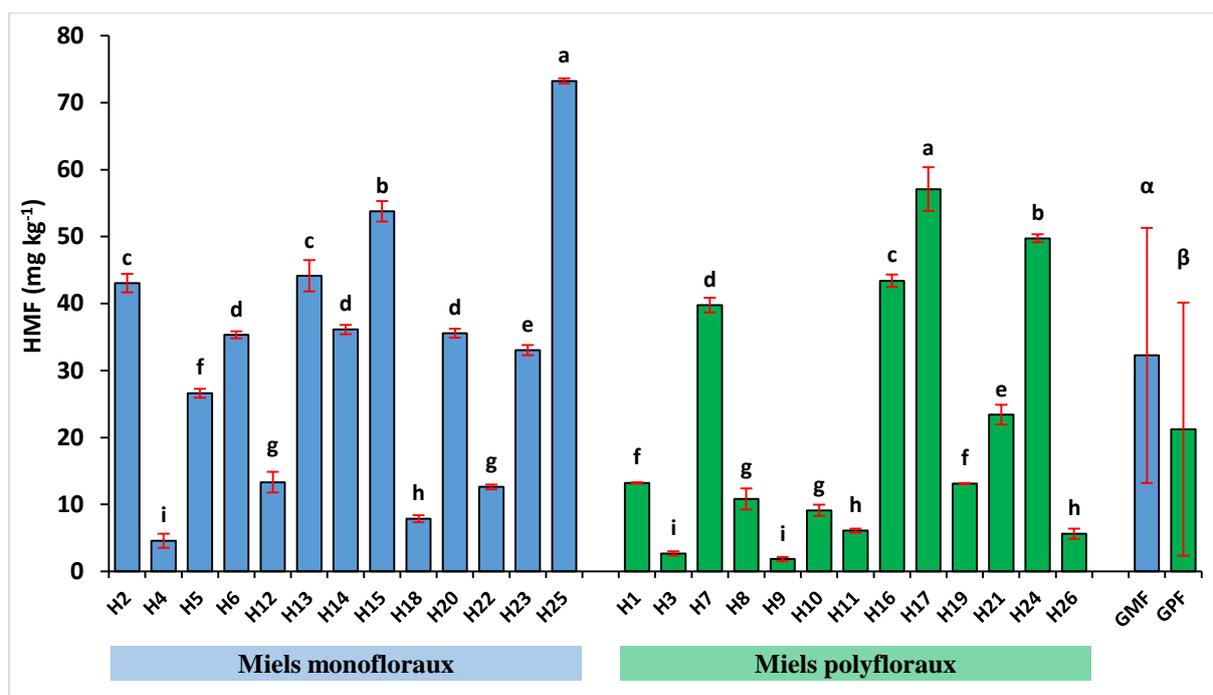


Figure 25 : Teneurs en HMF des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

La faible teneur en HMF est enregistré par les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) ($4,59 \text{ mg kg}^{-1}$) et polyfloral de Bejaia (H9) ($1,85 \text{ mg kg}^{-1}$). La teneur la plus élevée en ce produit est enregistrée par les miels les plus acides tels que les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) et polyfloral de Boumerdes (H17) avec des valeurs de $73,25$ et $57,09 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivement (Figure 25).

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux obtenus par **Kivima et al. (2021)** dans les miels d'Estonie ($3,5$ à $19,5 \text{ mg kg}^{-1}$). Cependant, **Belhaj et al. (2015)** ont rapporté des valeurs supérieures dans les miels Marocains ($3,87$ à 100 mg kg^{-1}).

Le taux d'HMF des miels de Skikda (H3), Jijel (H4), Bejaia (H8, H9 et H10), Bordj Bouarreridj (H11), Tizi-Ouzou (H12), Djelfa (H18), Médéa (H19), Chlef (H22) et Tlemcen (H26) ne dépassent pas 14 mg kg^{-1} . Ces échantillons présentent également des faibles degrés de brix et d'acidité, qui sont deux paramètres qui influencent significativement la formation d'HMF. Les miels qui proviennent de Skikda (H1), Jijel (H5), Sétif (H6 et H7), Tizi-Ouzou (H14), Ain Defla (H20 et H21) et El Bayadh (H23) montrent un taux d'HMF entre 14 et 40 mg kg^{-1} . En revanche, le miel de Boumerdes (H17) montre une teneur élevée en HMF ($57,09$ à $73,25 \text{ mg kg}^{-1}$) et un taux important en degré de brix et en acidité.

L'analyse statistique révèle 3 groupes homogènes pour les miels monofloraux (H6, H14 et H20), (H2 et H13) et (H12 et H22) et 2 groupes homogènes pour les miels polyfloraux (H3 et H9) et (H8 et H10). Les autres miels sont statistiquement différents pour le taux d'HMF.

La variabilité observée entre les miels analysés peut être expliquée par des facteurs tels que la source florale, la teneur en humidité, la présence d'acides organiques, le pH et le profil des sucres (Molina *et al.*, 2020).

II.9. Teneurs en protéines

Les protéines et les acides aminés sont présents en petites quantités dans le miel à environ 0,26 %. Ces substances proviennent de deux sources, l'une animale (abeilles) et l'autre végétale (pollen) (Ouchemoukh *et al.*, 2007).

Les résultats obtenus montrent que les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) (57,01 mg EBSA 100 g⁻¹) et polyfloral d'Ain Defla (H21) (46,71 mg EBSA 100 g⁻¹) ont de faibles teneurs en protéines par rapport aux miels *Apiaceae* d'El Bayadh (H23) (130,38 mg EBSA 100 g⁻¹) et polyfloral de Sétif (H7) (134,38 mg EBSA 100 g⁻¹) (Figure 26). Ces concentrations sont supérieures à celles rapportées par Izzah *et al.* (2021) dans les miels Malaysiens (27,44 à 105,89 mg EBSA 100 g⁻¹). Cependant, les valeurs obtenues sont incluses dans l'intervalle rapporté par Milek *et al.* (2021) dans des miels Polonais locaux et des miels importés (10,91 à 475,46 mg EBSA 100 g⁻¹).

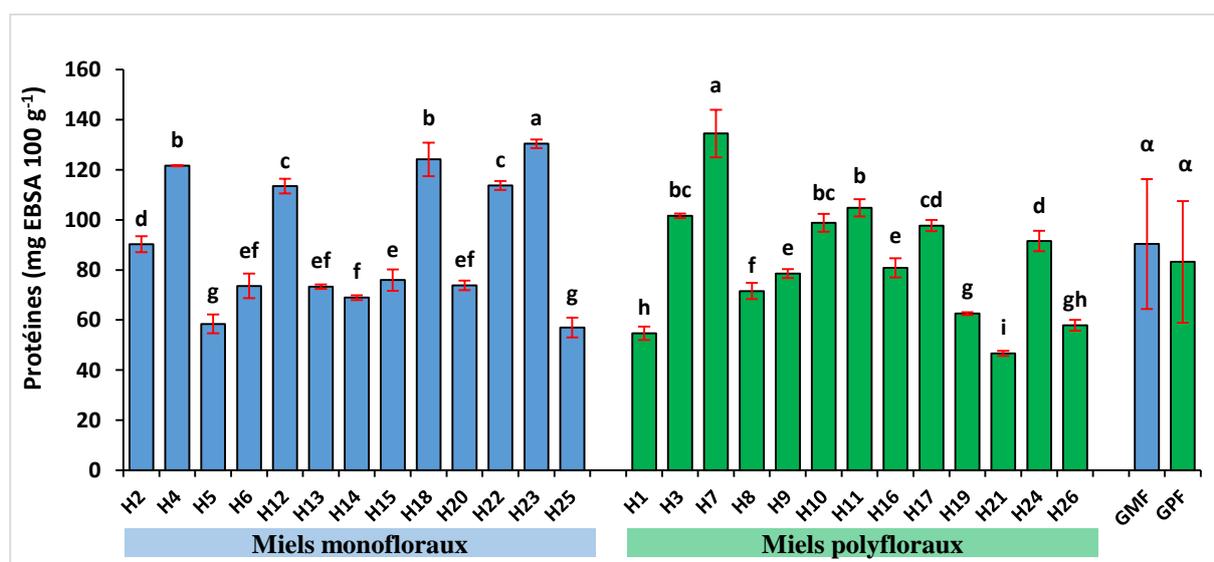


Figure 26 : Teneurs en protéines des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les miels de Batna (H3), Jijel (H4), Bordj Bouarreridj (H11), Tizi-Ouzou (H12), Djelfa (H18), Chlef (H22) et El Bayadh (H23) montrent une teneur en protéines qui dépassent 100 mg EBSA 100 g⁻¹. Les échantillons de Skikda (H2), Sétif (H6 et H7), Bejaia (H8, H9 et H10), Tizi-Ouzou (H13, H14, H15 et H16), Boumerdes (H17), Médéa (H19), Ain Defla (H20) et Mostaganem (H24) ont une concentration en protéines qui varie de 60 à 100 mg EBSA 100 g⁻¹. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Alvarez-Suarez et al. (2010)** sur les miels du Cuba (12 - 92,3 mg 100 g⁻¹). Cependant, les miels de Skikda (H1), Jijel (H5), Ain Defla (H21), Naama (H25) et Tlemcen (H26) enregistrent un taux de protéines inférieure à 60 mg EBSA 100 g⁻¹.

L'analyse statistique pour la teneur en protéines montre 4 groupes homogènes (H4 et H18), (H5 et H25), (H6, H13 et H20) et (H12 et H22) pour les miels monofloraux et 2 groupes homogènes (H3 et H10) et (H9 et H16) pour les miels polyfloraux qui ne sont pas significativement différents.

Selon **Moniruzzaman et al. (2013)**, la variabilité de la concentration en protéines des miels s'explique par les origines botanique et géographique, les conditions et le temps de leur stockage, la présence d'enzymes ajoutées par les abeilles au cours du processus de production (α -amylase, gluco-invertase, catalase, glucose-oxydase et phosphatase) et la quantité de grains de pollen présents dans le miel.

II.10. Teneurs en proline

Le miel contient environ 16 acides aminés libres différents tels que la proline, l'histidine, l'alanine, la glycine et la méthionine. Des teneurs en proline inférieures à 183 mg kg⁻¹ indiquent généralement une immaturité ou une falsification en nourrissant les abeilles avec du sucre ou en ajoutant du sucre au miel (**Meda et al., 2005**).

Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons ont des taux de proline supérieurs à la limite minimale fixée par le **Codex Alimentarius (2001)** (>183 mg kg⁻¹). Ce qui confirme que tous les miels analysés sont mûrs et non adultérés. La plus grande teneur en proline est obtenue par les miels *Apiaceae* d'El Bayadh (H23) et polyfloral de Boumerdes (H17) avec des valeurs de 877 et 1260 mg kg⁻¹, respectivement. La teneur la plus faible est enregistrée par les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) (398 mg kg⁻¹) et polyfloral d'Ain Defla (H21) (412 mg kg⁻¹) (Figure 27).

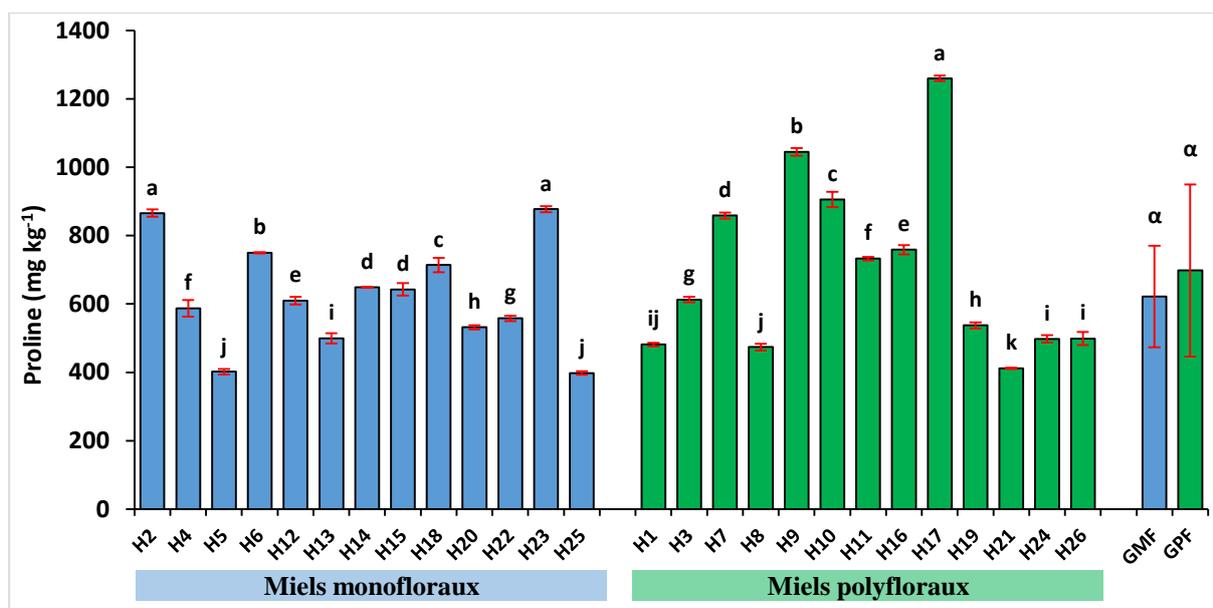


Figure 27 : Teneurs en proline des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats de la teneur en proline des miels analysés sont supérieurs à ceux rapportés par **Ouchemoukh *et al.* (2007)** dans les miels de la région de Bejaia (202 à 680 mg kg⁻¹), par **Al-Farsi *et al.* (2018)** dans les miels du Sultanat d'Oman ($59,12$ à $102,22$ mg kg⁻¹) et par **Boussaid *et al.* (2018)** dans les miels de Tunisie (299 à 683 mg kg⁻¹).

Les miels de Skikda (H2), Sétif (H6 et H7), Bejaia (H9 et H10), Bordj Bouarreridj (H11), Tizi-Ouzou (H12 et H16), Boumerdes (H17), Djelfa (H18) et El Bayadh (H23) montrent une teneur en proline supérieur à 700 mg kg⁻¹. En revanche, les autres miels marquent des teneurs inférieurs à cette limite.

Les miels monifloraux montrent 3 groupes homogènes (H2 et H23), (H5 et H25) et (H14 et H15) qui ne sont pas statistiquement différent pour la teneur en proline tandis que les miels polyfloraux révèlent un seul groupe homogène (H24 et H26).

Les différences de teneur en proline des miels peuvent s'expliquer par l'origine du pollen que l'abeille consomme et la force de la colonie d'abeilles (**Ouchemoukh, 2012**).

III. Détection par FTIR-ATR de l'adultération du miel avec des solutions de saccharose

III.1. Analyse des spectres FTIR-ATR des miels purs

L'analyse FTIR-ATR a permis d'obtenir 56 spectres de miels purs et 15 spectres de miels adultérés. Les spectres des miels purs, observés entre 4000 et 750 cm^{-1} , montrent 6 bandes principales (Figure 28). Selon **Anjos *et al.* (2015)**, les deux bandes I et III avec un maximum d'absorption respective de 3307 et 1644 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation et de déformation de groupement O-H dans les molécules d' H_2O .

La bande II avec un maximum d'absorption de 2934 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation de groupement C-H de l'acide carboxylique et aux vibrations d'élongation de groupement NH_3 des acides aminés libres. Les bandes IV, V et VI qui s'étalent entre 1500 et 750 cm^{-1} correspondent à la région d'absorption la plus importante des sucres et des acides organiques du miel (**Tewari et Irudayaraj, 2004**).

L'attribution des groupes fonctionnels correspondant aux modes de vibration est basée sur l'identification de maximum d'absorption des spectres de miels analysés et la correspondance de la fréquence avec le groupe chimique associé (tableau IX). Les différences observées dans les spectres des miels purs peuvent être dues à la teneur en acides carboxyliques et qui est liée à l'origine florale et géographiques de chaque miel (**Anjos *et al.*, 2015**).

L'acide carboxylique est caractérisé par une région d'absorption irrégulière dans la bande 3300 et 2500 cm^{-1} et cela est due aux fortes liaisons hydrogènes qui sont les raisons de l'extension significative de la bande des vibrations d'élongation du groupe OH qui absorbe dans cette intervalle. La bande de vibration d'élongation du C=O des acides carboxyliques apparaît dans les intervalles 1760-1690 cm^{-1} et sa position précise dépend de fait que l'acide soit saturé ou insaturé, dimérisé ou associé (**Matysek *et al.*, 2018**).

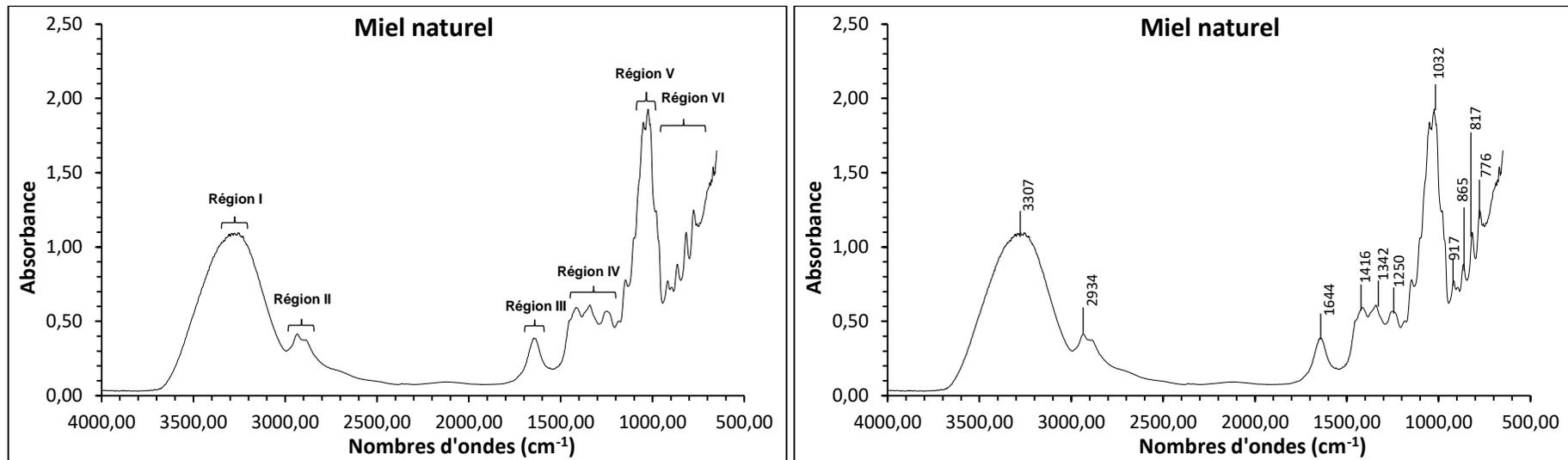
La région spectrale située entre 1500 et 900 cm^{-1} révèle les bandes caractéristiques des principaux mono et disaccharides du miel tels que le saccharose, glucose et fructose. Cependant, la région située entre 900 et 750 cm^{-1} montre les bandes caractéristiques des saccharides (**Bureau *et al.*, 2010; Velázquez *et al.*, 2009**).

Le pic observé à 1419 cm^{-1} est dû à une combinaison de la flexion d'O-H dans le groupe C-O-H et de la flexion C-H dans les alcènes tandis que le pic observé à environ 1342 cm^{-1} est dû à la flexion O-H dans le groupe C-OH (**Riswahyuli et al., 2020**).

Le pic observé à 1250 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation des groupements C-H et C-O dans les glucides. Les pics 1054 et 1032 cm^{-1} correspondent à l'élongation de C-O dans le groupe C-OH ainsi que l'élongation de C-C dans la structure glucidique, tandis que le pic à 918 cm^{-1} est dû à la flexion de C-H des glucides (**Matysek et al., 2018**).

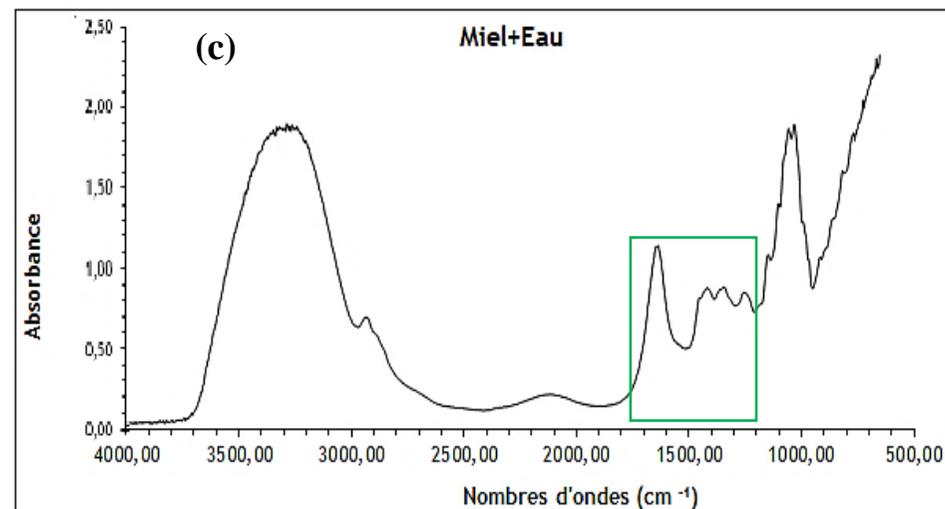
Tableau IX : Types de vibration associés au maximum d'absorption des bandes FTIR-ATR.

Région	Position des bandes (cm^{-1})	Type de vibration
I	3307	Vibration d'élongation de (O-H) dans H_2O
II	2934	Vibration d'élongation de (C-H) et/ou vibration d'élongation de (NH_3) d'acides aminés libres
III	1644	Vibrations de déformation (O-H) de H_2O
IV	1416	Vibrations de déformation de (O-H) dans le groupe COH et vibrations de déformation de (C-H) dans les alcènes
	1342	Vibrations de déformation de (-OH) dans le groupe C-OH
	1250	Vibrations d'élongation de (C-H) dans les hydrates de carbone et/ou vibrations d'élongation de (C-O) dans les hydrates de carbone
V	1098	Vibration d'élongation de (C-O) dans le groupe C-O-C
	1054	Vibration d'élongation de (C-O) dans le groupe C-OH ou vibration d'élongation de (C-C) dans la structure des glucides
	1032	
	987	Vibration d'élongation des groupes CO des deux unités (de l'unité glucosyle et de l'unité fructosyle) de saccharose
VI	917	Vibrations de déformation de (C-H)
	865	Région anomérique des hydrates de carbone ou vibrations de déformation (C-H)
	817	



a : Spectres FTIR-ATR des miels purs avec les bandes (régions) caractéristiques de ces miels.

b : Spectre FTIR-ATR des miels purs avec les pics correspondants aux maximums d'absorbances dans les bandes caractéristiques.



c : Spectre FTIR-ATR des miels adultérés avec de l'eau distillée.

Figure 28 : Spectres FTIR-ATR des miels purs et des miels adultérés avec de l'eau distillée

III.2. Analyse des spectres FTIR-ATR des miels falsifiés

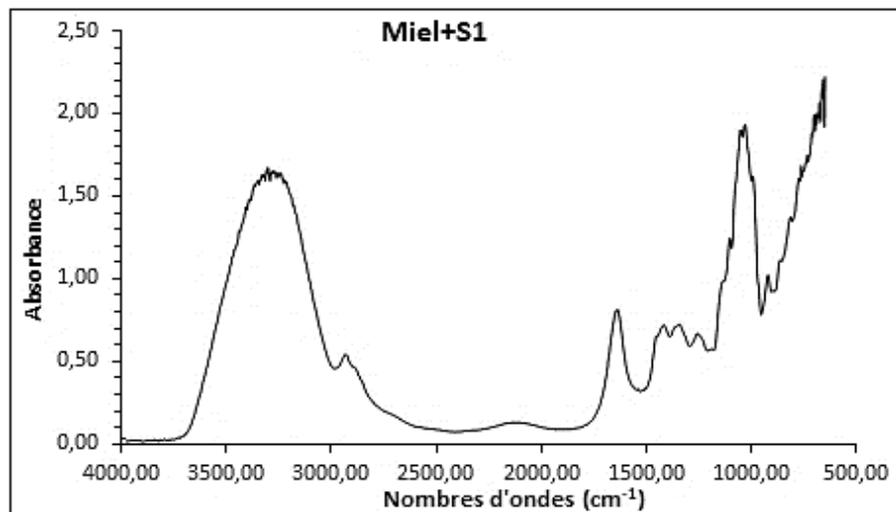
La comparaison des spectres de miels pure et adultérés révèle une augmentation significative de l'intensité de la bande à 1644 cm^{-1} pour les miels adultérés avec de l'eau distillée et la solution de saccharose de 50 % (w/v) (Figure 29). Cependant, les spectres des autres miels falsifiés avec des solutions de saccharose de 100, 150 et 200 % (p/v) montrent l'apparition de pic 987 cm^{-1} qui est un marqueur de D-(+)-saccharose et son intensité augmente en fonction de la concentration de saccharose dans la solution d'adultération (**Wiercigroch et al., 2017**).

La plus grande intensité de pic 987 cm^{-1} est obtenue avec les miels adultérés avec une solution de saccharose de 200 % suivi par ceux adultérés avec des solutions de 150 et 100 %. Ce résultat montre que l'intensité de ce pic (987 cm^{-1}) dépend de la quantité de saccharose ajouter aux miels analysés.

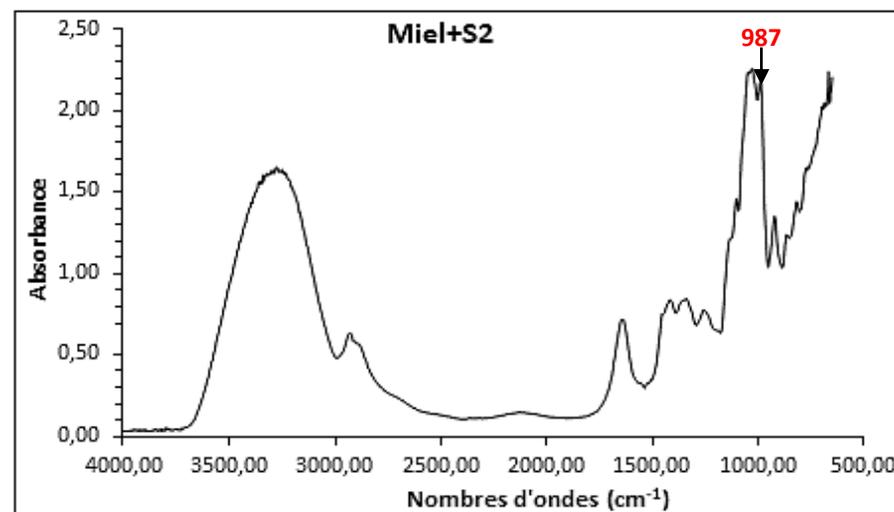
Les spectres des miels falsifiés montrent la diminution de l'intensité d'absorption de la bande à 1644 cm^{-1} qui correspond à la déformation de groupement O-H d' H_2O avec des solutions d'adultération de 100 et 150 % (p/v) pour arriver à l'intensité initiale des miels purs à 200 % (p/v).

Les résultats obtenus montrent le même profil spectral des miels purs et falsifiés avec 6 bandes caractéristiques, à l'exception de l'intensité de pic de vibrations de déformation (O-H) de H_2O et le pic 987 cm^{-1} qui correspondent aux vibrations d'élongation des groupes CO des deux unités glucosyle et fructosyle de saccharose qui apparaissent dans les miels falsifiés.

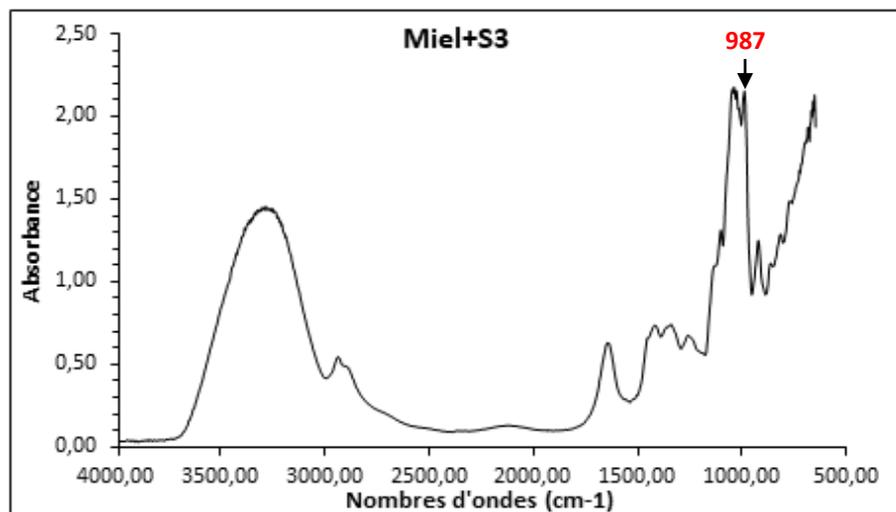
L'ajout de saccharose et de l'eau aux miels s'exprime par le changement de leurs spectres FTIR au niveau des bandes III et V. La première région montre une augmentation considérable de pic 1644 cm^{-1} et la deuxième région marque l'apparition de pic 987 cm^{-1} . Ces deux caractéristiques des miels adultérés peuvent être utilisées pour détecter des éventuels miels falsifiés avec l'eau et le saccharose. En effet, l'analyse FTIR-ATR est un moyen simple, rapide, fiable et moins coûteux qui permet de différencier les miels purs des miels adultérés avec du sirop de saccharose après la récolte.



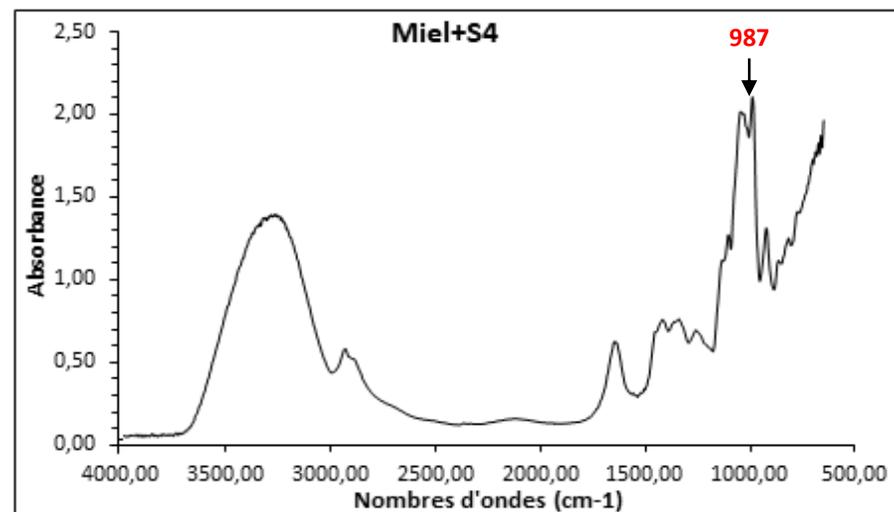
a : Spectre FTIR-ATR des miels adultérés avec la solution de saccharose à 50 %.



b : Spectre FTIR-ATR des miels adultérés avec la solution de saccharose à 100 %.



c : Spectre FTIR-ATR des miels adultérés avec la solution de saccharose à 150 %.



d : Spectre FTIR-ATR des miels adultérés avec la solution de saccharose à 200 %.

Figure 29 : Spectres FTIR-ATR des miels adultérés avec les solutions de saccharose (S1, S2, S3 et S4).

V. Teneurs en antioxydants

V.1. Composés phénoliques totaux

En général, les teneurs en composés phénoliques des miels clairs sont plus faibles que celles des miels foncés (**Beretta *et al.*, 2005**). En effet, cette information est prouvée dans cette étude. La teneur la plus élevée en phénols totaux est enregistrée par les miels ambre foncé de Jijel (H5) (200 mg EAG 100 g⁻¹) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (190 mg EAG 100 g⁻¹) qui diffèrent de manière significative de celle des autres échantillons. Le taux le plus faible est obtenu par le miel blanc de Naâma (H25) (64 mg EAG 100 g⁻¹) (Figure 30). La teneur moyenne en polyphénols des miels monofloraux et polyfloraux est de 110 et 120 mg EAG 100 g⁻¹, respectivement.

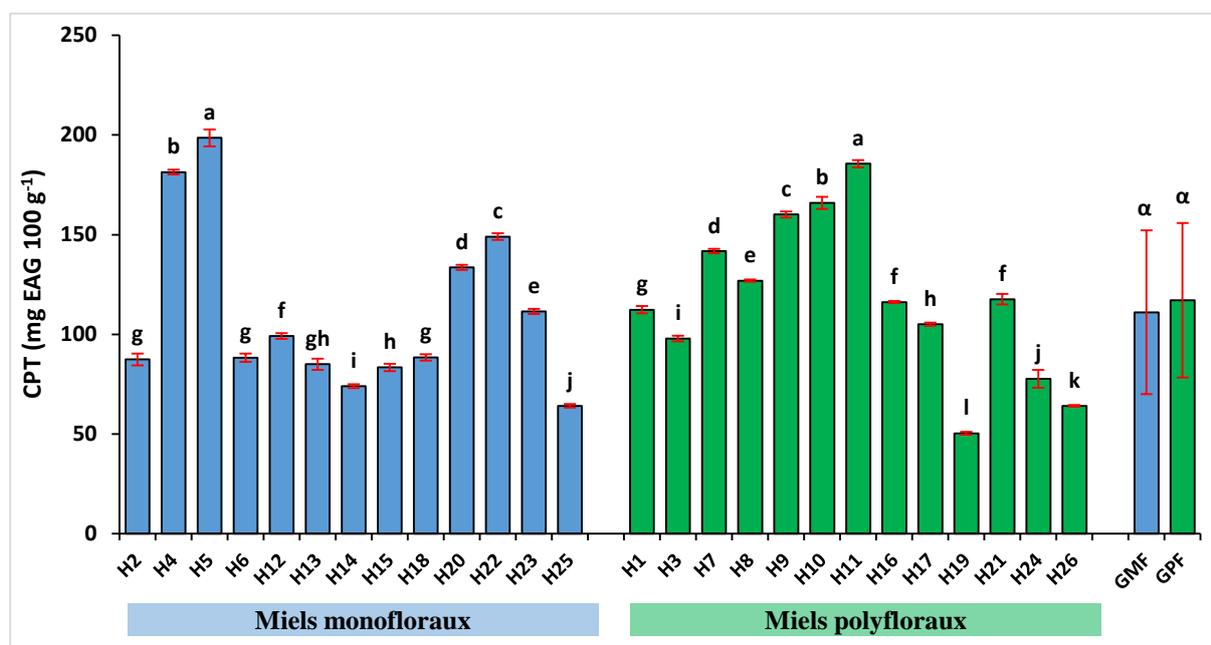


Figure 30 : Teneurs en composés phénoliques totaux des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. CPT : Composés phénoliques Totaux. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Pour la plupart des miels analysés, les résultats obtenus sont très élevés comparés à ceux rapportés par **Boussaid *et al.* (2018)** dans les miels Tunisiens (32,17 à 119,42 mg EAG 100 g⁻¹) et **Can *et al.* (2015)** dans les miels Turques (16,02 à 120,04 mg EAG 100 g⁻¹). Cependant, des valeurs légèrement plus élevées sont rapportées par **Ouchemoukh *et al.* (2017)** dans les miels Algériens (90 et 318 mg EAG 100 g⁻¹).

Les miels de la région de nord tels que les échantillons qui proviennent de Skikda (H1), Jijel (H4 et H5), Bejaia (H8, H9 et H10), Bordj Bouarreridj (H11), Tizi-Ouzou (H12 et H16) et Boumerdes (H17) montrent les concentrations les plus élevées en polyphénols. L'analyse pollinique à démontrer la richesse botanique des régions où ces miels sont récoltés. La méthode de Folin-Ciocalteu montre également que les échantillons de Médéa (19), Naâma (H25) et Tlemcen (H26) contiennent moins de phénols totaux par rapport aux autres miels avec des valeurs inférieurs à 65 EAG 100 g⁻¹. Les profils polliniques de ces échantillons ont révélé moins de diversité botanique ce qui peut expliquer leur faible teneur en ces composés.

Le miel de Bordj Bouarreridj (H11) qui est un mélange de nectar et de miellat est plus riche en composés phénoliques. Ce résultat confirme celui apporté par **Meda *et al.* (2005)**, qui suggère que les miels de miellats ont un taux plus élevé en ces composés par rapport aux autres miels.

L'ANOVA révèle un groupe homogène (H2, H6 et H18) dans les miels monofloraux et un groupe homogène dans les miels polyfloraux (H16 et H21) qui ne présentent pas de différence significative pour les teneurs en phénols. Cependant, les autres miels sont statistiquement différents concernant ce paramètre.

En effet, les résultats obtenus montrent bien qu'il existe des différences entre les teneurs en polyphénols, que ce soit entre les miels monofloraux ou les miels polyfloraux. Ces variations reviennent principalement à la différence des origines botaniques et géographiques des miels et notamment à la composition chimique de pollen (**Rodríguez-Flores *et al.*, 2015**).

V.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans le miel et représentant jusqu'à 50 % des composés phénoliques totaux (**Wali *et al.*, 2020**). A partir des résultats illustrés dans la figure 31, la teneur moyenne en flavonoïdes dans les miels monofloraux et polyfloraux est de 15 mg EQ 100 g⁻¹. Les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) (28 mg EQ 100 g⁻¹) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (28 mg EQ 100 g⁻¹) sont très riches en flavonoïdes, contrairement aux miels *Fabaceae* de Tizi-Ouzou (H14) (5 mg EQ 100 g⁻¹) et polyfloral d'Ain Defla (H21) (3 mg EQ 100 g⁻¹) qui enregistrent les concentrations les plus faibles en ces substances.

Les résultats de taux des flavonoïdes obtenus dans la présente étude sont supérieurs à ceux des miels Brésiliens rapportés par **Bueno-Costa *et al.* (2016)** et **Nascimento *et al.* (2018)** avec des valeurs de 2,97 à 10,46 mg EQ 100 g⁻¹ et de 0 à 2,60 mg EQ 100 g⁻¹, respectivement. En revanche, un taux de flavonoïdes similaire est rapporté par **Ouchemoukh *et al.* (2017)** dans les miels Algériens (0,30 à 36 EQ 100 g⁻¹).

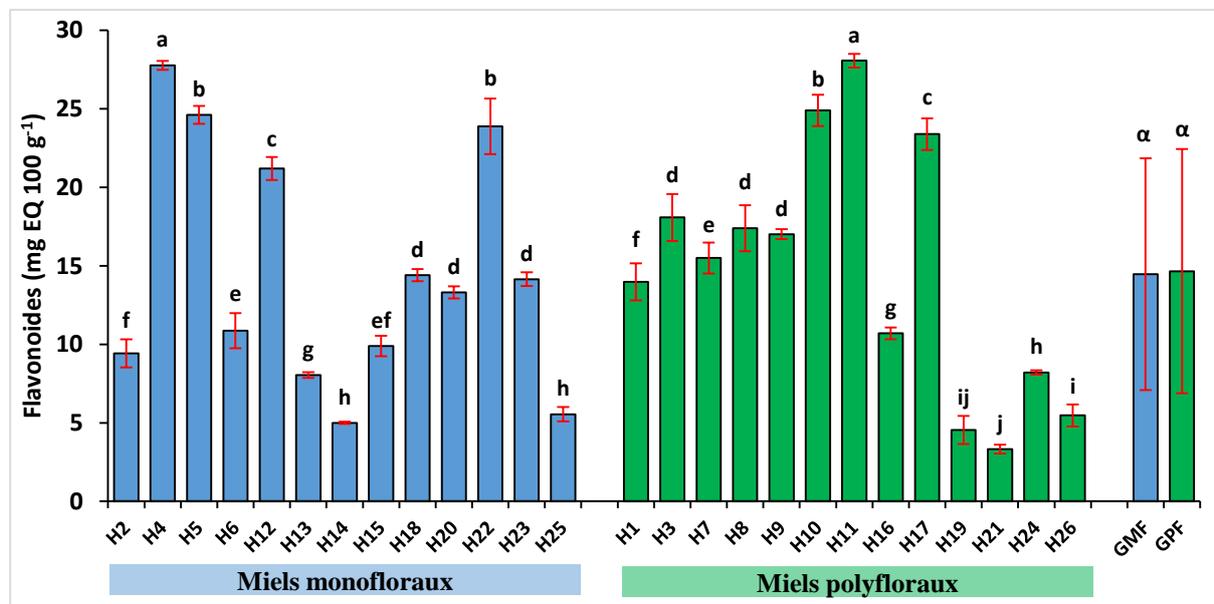


Figure 31 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Un très grand écart est enregistré entre les teneurs en flavonoïdes des miels clairs et foncés. Les échantillons de couleur foncé qui proviennent de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10), Bordj Bouarrerdj (H11), Tizi-Ouzou (H12), Boumerdès (H17) et Chlef (H22) ont les teneurs les plus élevées en flavonoïdes. Le dosage au chlorure d'aluminium montre que les échantillons clairs tels que les miels *Fabaceae* de Jijel (H2), Tizi-Ouzou (H14) et Naâma (H25) et les échantillons polyfloraux qui proviennent de l'ouest d'Algérie (Médéa, Ain Defla, Mostaganem et Tlemcen) contiennent des concentrations en flavonoïdes qui ne dépassent pas 9 mg EQ 100 g⁻¹. Ces résultats confirment que les flavonoïdes affectent directement la couleur du miel.

L'analyse statistique des concentrations en flavonoïdes des miels analysés montre que les groupes de miels monofloraux (H5 et H22), (H18, H20 et H23) et (H14 et H25) et polyfloraux (H3, H8 et H9) et (H21 et H26) ne présentent pas de différence significative à $p<0,5$.

La variabilité des concentrations en flavonoïdes des miels est due au type de composés phénoliques qui dépendent principalement de l'origine florale et géographique du miel (Sousa *et al.*, 2016).

V.3. Flavonols

Tous les miels analysés montrent la présence des flavonols et les différentes concentrations obtenues sont présentées dans la figure 32. Les teneurs moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 5,77 et 5,60 mg EQ 100 g⁻¹, respectivement. Selon les résultats obtenus, les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) (12 mg EQ 100 g⁻¹) et les miels polyfloraux de Bejaia (H10) (11 mg EQ 100 g⁻¹) et de Bordj Bouarreridj (H11) (12 mg EQ 100 g⁻¹) sont les plus riches en flavonols avec des teneurs qui diffèrent statistiquement des autres échantillons. En revanche, les miels *Fabaceae* (H14) (1 mg EQ 100 g⁻¹) et (H25) (1 mg EQ 100 g⁻¹) et les miels polyfloraux de Médéa (H19) (2 mg EQ 100 g⁻¹) et de Aïn Defla (M21) (2 mg EQ 100 g⁻¹) présentent les taux en flavonols les plus faibles.

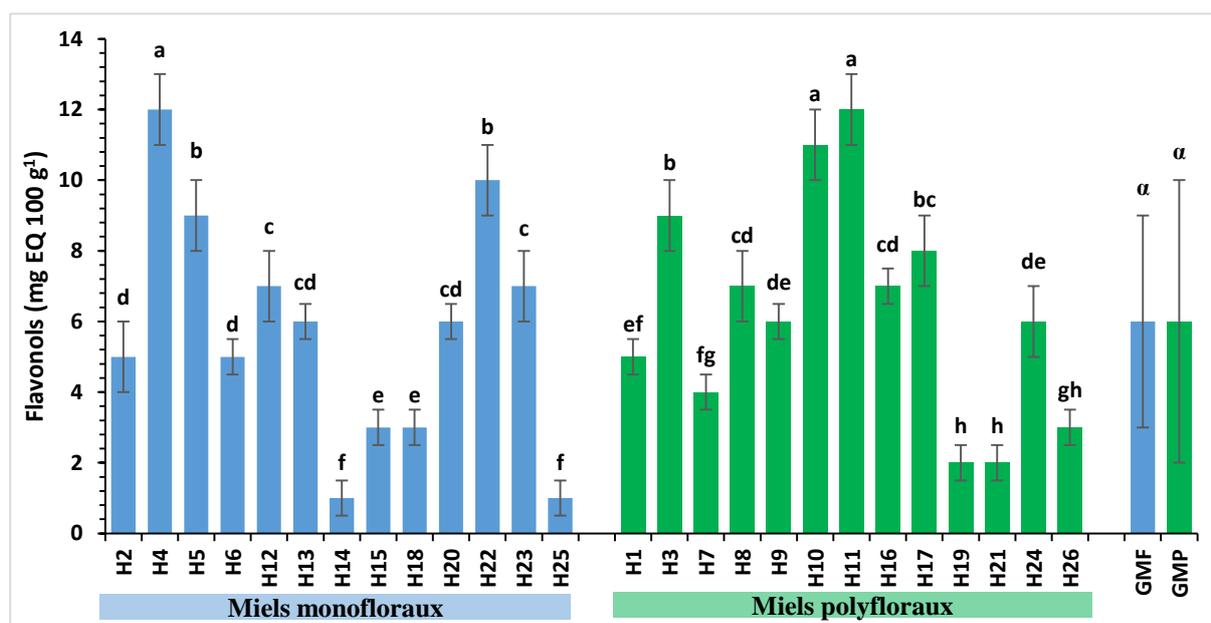


Figure 32 : Teneurs en flavonols des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les concentrations en flavonols des miels analysés sont proches de celles rapportées par **Imtara *et al.* (2018)** dans les miels Palestiniens (1 à 18 mg EQ 100 g⁻¹).

Les miels de Batna (H3), Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10), Bordj Bouarreridj (H11) et Chlef (H22) montrent simultanément l'intensité de couleur et les teneurs en flavonols les plus élevées. Les miels de couleur claire qui sont récoltés à Tizi-Ouzou (H14), Médéa (H19), Ain Defla (H21) et Naâma (H25) enregistrent des faibles concentrations en ces composés avec des valeurs qui ne dépassent pas les 2 mg EQ 100 g⁻¹. Selon ces résultats, la couleur du miel est liée à sa teneur en flavonols et ce même constat est observé lors des deux dosages précédents (composés phénoliques totaux et flavonoïdes).

L'analyse de la variance révèle 6 groupes homogènes (H2 et H6), (H5 et H22), (H12 et H23), (H13 et H20), (H14 et H25) et (H15 et H18) dans les miels monofloraux et 4 groupes homogènes (H8 et H16), (H9 et H24), (H10 et H11) et (H19 et H21) dans les miels polyfloraux pour les concentrations en flavonols. Cependant, les autres miels sont statistiquement différents.

V.4. Caroténoïdes

Les résultats de dosage des caroténoïdes sont illustrés dans la figure 33 et les teneurs moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 2,1 et 2,3 E β carot kg⁻¹, respectivement. Les miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) (5 mg E β carot kg⁻¹) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (5,6 mg E β carot kg⁻¹) montrent une quantité assez considérable en caroténoïdes devant ainsi les autres échantillons, plus particulièrement les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) (0,5 E β carot kg⁻¹) et polyfloral de Tlemcen (H26) (0,7 E β carot kg⁻¹) qui présentent les concentrations les plus faibles en ces substances.

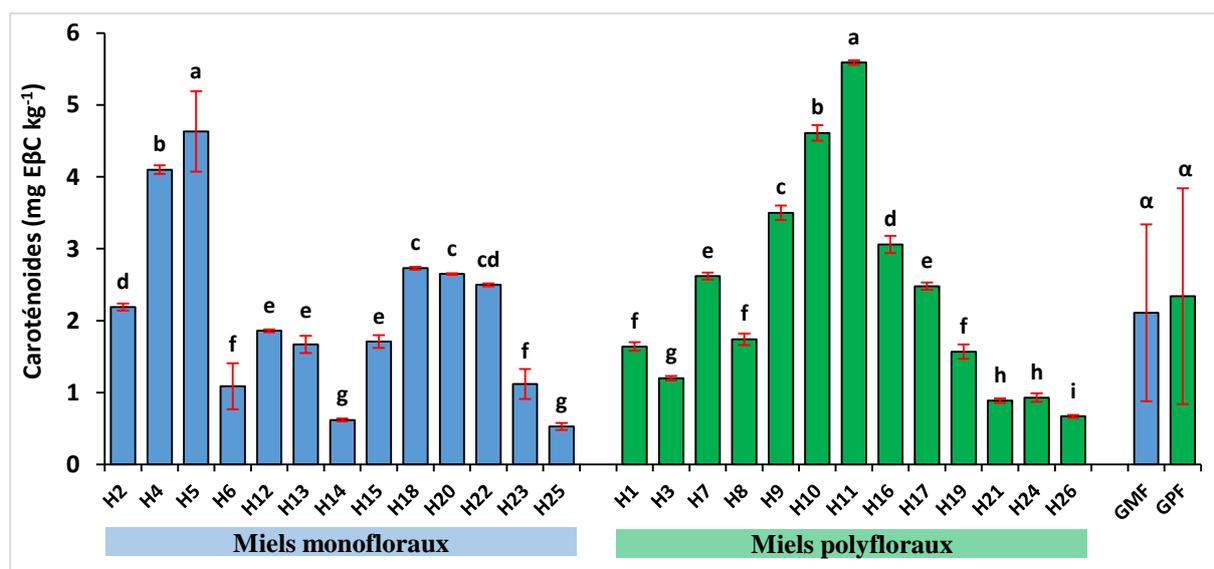


Figure 33 : Teneurs en caroténoïdes totaux des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les valeurs obtenues des caroténoïdes totaux sont supérieures à celles des miels de Malaisie (1,55 à 3,09 mg E β carot kg^{-1}) rapportés par **Chan *et al.* (2017)** mais inférieures à celles des miels Algériens (3 à 10,1 mg 100 mg E β carot kg^{-1}) rapporté par **Mouhoubi-Tafinine *et al.* (2016)**. Dans ce cas, il faut tenir compte du fait que la composition du miel en caroténoïdes est assez variable et dépend non seulement de sa source florale mais aussi de la zone géographique, ainsi que des facteurs saisonniers et environnementaux, qui peuvent être responsables des différences détectées.

Comme indiqué ci-dessus pour les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes, l'intensité de la couleur semble être liée aux concentrations de caroténoïdes. Les miels sombres de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et de Bordj Bouarreridj (H11) sont riches en caroténoïdes par rapport aux miels clairs de Tizi-Ouzou (H14) et Naâma (H25) qui sont moins riches avec des concentrations qui ne dépassent pas 0,62 mg 100 mg E β carot kg^{-1} .

L'analyse statistique des taux des caroténoïdes des miels monofloraux révèlent 3 groupes homogènes (H12, H13 et H15), (H14 et H25) et (H18 et H20). Les miels polyfloraux révèlent également 3 groupe homogènes (H1, H8 et H19), (H7 et H17) et (H21 et H24).

Le pollen est une source importante de β -carotène et la quantité de caroténoïdes dans le miel dépend de la particularité de la flore dans une région géographique donnée. En dehors de leur contenu polyphénolique, les caroténoïdes contribuent aussi à la coloration du miel (**Mokaya *et al.*, 2020 ; Nwaichi *et al.*, 2015**).

V.5. Vitamine C

La vitamine C est une molécule antioxydante essentielle dans le métabolisme végétal et animal et fonctionne également comme cofacteur dans de nombreuses enzymes. Certains animaux sont capables de la synthétiser et d'autres, comme les humains, ne possèdent pas cette capacité (**Fenech *et al.*, 2019**).

Tous les miels testés renferment de la vitamine C et les concentrations moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 1,1 et 1,2 mg EAA 100 g^{-1} , respectivement. Selon les résultats illustrés dans la figure 34, les meilleurs taux reviennent aux miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) (2,3 mg EAA 100 g^{-1}) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (2,1 mg EAA 100 g^{-1}) tandis que les concentrations les plus faibles sont obtenues par les miels *Fabaceae* de Sétif (H6) (0,43 mg EAA 100 g^{-1}) et polyfloral de Médéa (H19) (0,4 mg EAA 100 g^{-1}).

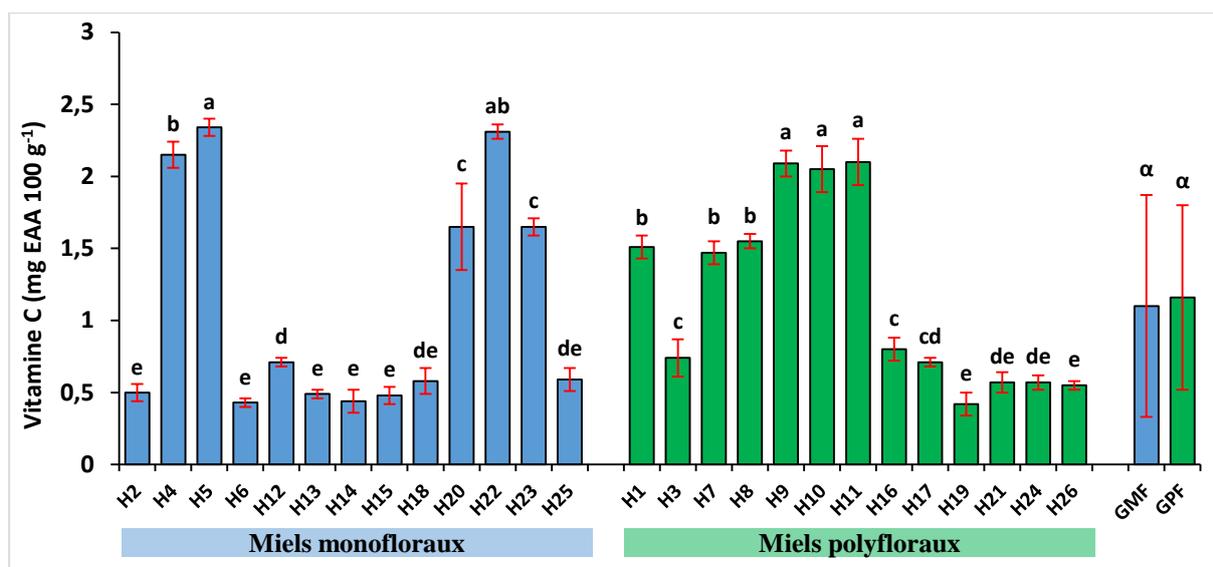


Figure 34 : Teneurs en vitamine C des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats de cette étude se situent dans la fourchette rapportée par **Mouhoubi-Tafinine et al. (2016)** (0,4 à 3,4 mg 100 g⁻¹) dans les miels Algériens. Cependant, **Ciulu et al. (2011)** ont rapporté des valeurs plus faibles dans les miels Italiens (0,1 à 0,6 mg 100 g⁻¹).

Les échantillons de miel récoltés à Jijel ((H4 et H5), Bejaia (H9 et H10), Bordj Bouarreridj (H11) et Chlef enregistrent une teneur élevée en vitamine C avec des valeurs supérieures à 2 mg EAA 100 g⁻¹. Les miels de Tizi-Ouzou (H13, H14 et H15) montrent des concentrations similaires en acide ascorbique. Cela est probablement dû à la même origine géographique de ces échantillons. Certains nombre de paramètres spécifiques (température, oxygène, lumière, humidité et pH) prouvent réduire la teneur du miel en vitamine C. Un autre facteur peut également entraîner la perte de cette vitamine qui est l'oxydation de l'acide ascorbique par le peroxyde d'hydrogène produit dans le miel (**Ciulu et al., 2011**).

L'analyse statistique des taux de la vitamine C des échantillons de miel montre 3 groupes homogènes (H2, H6, H13, H14 et H15), (H18 et H25) et (H20 et H23) dans les miels monofloraux et 5 groupes homogènes (H1, H7 et H8), (H3 et H16), (H9, H10 et H11), (H19 et H26) et (H21 et H24) dans les miels polyfloraux.

La vitamine C du miel provient principalement du pollen des fleurs et sa teneur varie selon l'origine botanique et géographique. Cependant, le traitement thermique et les mauvaises conditions de stockage peuvent provoquer la perte de la vitamine C dans ce produit de la ruche (**Chua et al., 2013**).

VI. Analyse HPLC-UV des composés phénoliques

Les résultats de l'analyse des miels par HPLC-UV présentés dans le tableau X montrent la présence de 16 composés phénoliques sur 17 standards utilisés et leur identification est faite par correspondance de leurs spectres UV avec ceux des polyphénols de référence. Il a été possible d'identifier 8 acides phénoliques dont les plus dominants appartiennent à la classe des hydroxycinnamiques. Les chromatogrammes des différents miels montrent à leur tour la présence de 8 flavonoïdes dont les plus abondants sont les flavanones (pinocembrine) et les flavones (chrysin).

VI.1. Acides phénoliques

Plusieurs acides phénoliques sont détectés dans les miels analysés : un acide hydroxybenzoïque (l'acide *p*-OH benzoïque) et 5 acides hydroxycinnamiques (les acides caféique, CAPE, férulique, *p*-coumarique et *t*-cinnamique) sont identifiés dans la majorité des échantillons. Cependant, l'acide protocatéchuique n'est détecté que dans le miel *Ericaceae* (H4) et le miel polyfloral de Bejaia (H9). L'acide syringique est présent dans un seul miel monofloral (H25) et dans les miels polyfloraux de la région de centre d'Algérie (H7, H8, H9, H10, H16 et H17).

Des quantités variables d'acides phénoliques sont détectées dans les miels monofloraux. Le miel *Ericaceae* (H4) contient la plus forte concentration en acides caféique ($299 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-OH benzoïque ($205 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et *t*-cinnamique ($110 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) tandis que le miel *Myrtaceae* (H20) est le plus riche en acides férulique ($114 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et *p*-coumarique ($61,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$). Les deux types de miels ont obtenus les plus grands taux des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes et également les meilleures activités antioxydantes. En revanche, le miel *Fabaceae* (H25) contient la teneur en CAPE (ester phénylique de l'acide caféique) la plus élevée ($98,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$).

Le miel de Sétif (H7) diffère des autres miels polyfloraux par sa concentration élevée en acides caféique ($369 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), férulique ($107 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-OH benzoïque ($302 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), syringique ($194 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-coumarique ($62 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et *t*-cinnamique ($59,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$). Le taux le plus élevé en CAPE ($133 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) est obtenu par le miel de Batna (H3). Les échantillons de miel récoltés à Jijel (H5), Sétif (H6) et Tizi-Ouzou (H12 et H14) présentent des quantités assez proches en acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.

Tableau X : Résultats de l'analyse HPLC-UV des composés phénoliques.

Echantillo n	µg phénolique 100 g ⁻¹ de miel																	
	Acides phénoliques									Flavonoïdes								
	Acides hydroxy-benzoïques			Acides hydroxy-cinnamiques						Flavanols		Flavanones		Flavones		Flavonols		Isoflavones
	HBA	Prt	Syr	Cin	Cou	Caf	CAPE	Fer	Cat	Epi	Hes	Pin	Lut	Chr	Mye	Rut	Dai	
Miels monofloraux	H02	ND	ND	ND	6,4	ND	ND	21,2	93,1	50,1	ND	ND	19,2	ND	278	ND	ND	ND
	H04	205	52,1	ND	110	ND	299	26,4	103	ND	ND	34,1	47,9	ND	351	ND	ND	ND
	H05	19,2	ND	ND	6,8	41,9	69,3	27,9	ND	ND	ND	ND	23,6	ND	304	ND	ND	15,2
	H06	20,5	ND	ND	6,6	42,4	81	46	63,7	ND	ND	ND	35,7	ND	289	ND	ND	ND
	H12	33,2	ND	ND	6,2	55	80,9	ND	ND	ND	ND	ND	26,6	ND	294	240	ND	102
	H13	ND	ND	ND	14,2	35,1	ND	ND	57,3	ND	ND	ND	20,1	ND	228	ND	ND	24,2
	H14	18,7	ND	ND	6,7	40,2	ND	23,1	67,2	ND	ND	ND	24,1	ND	281	ND	ND	23,3
	H15	ND	ND	ND	11,7	44,5	ND	77,2	ND	ND	ND	ND	41,3	ND	348	ND	ND	27,9
	H18	ND	ND	ND	5,7	ND	ND	17	ND	ND	ND	ND	20,5	ND	ND	ND	ND	ND
	H20	104	ND	ND	ND	61,6	83,9	ND	114	80,8	ND	ND	ND	91,2	ND	ND	ND	116
	H22	ND	ND	ND	28,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	43,2	125	381	ND	57,8	201
	H23	44,6	ND	ND	16,1	ND	75,7	86,9	ND	ND	ND	ND	52,1	ND	278	ND	ND	239
H25	59,9	ND	20,4	9,7	50,8	143	98,1	81	ND	ND	24,3	44,6	ND	334	ND	ND	25,6	
Miels polyfloraux	H01	24,8	ND	ND	8,5	39,6	70,7	48,5	ND	ND	ND	ND	26,1	ND	330	ND	ND	ND
	H03	ND	ND	ND	25,1	60,7	78,5	133	ND	ND	ND	ND	89,5	ND	386	ND	174	ND
	H07	302	ND	194	59,4	62	369	69,8	107	ND	ND	ND	87,6	ND	400	ND	ND	587
	H08	ND	ND	6,4	9,1	45,7	80,6	49,3	75	ND	ND	ND	29,2	ND	326	ND	ND	29,6
	H09	120	70,3	16,1	44,6	60,3	98,6	ND	95,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	121
	H10	ND	ND	11,5	15,1	48,6	82,2	ND	90,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	73,4
	H11	ND	ND	ND	ND	48,4	ND	ND	82,1	ND	ND	ND	ND	202	ND	ND	ND	ND
	H16	ND	ND	5,5	ND	ND	ND	11,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	274	ND	ND	12,9
	H17	41,5	ND	25	11,6	60	75,8	30,3	81	ND	ND	ND	29,9	93,4	302	ND	ND	56,1
	H19	15,3	ND	ND	6,5	36	ND	28,4	ND	ND	ND	ND	21,1	ND	265	ND	ND	ND
	H21	66,7	ND	ND	5,6	ND	73,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	290	ND	ND	20
	H24	ND	ND	ND	11,4	ND	161	34,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	60
H26	ND	ND	ND	8,8	60	123	87,6	97,8	ND	ND	ND	42,3	ND	201	ND	ND	34,4	

Caf : Acide caféique. **CAPE** : Ester phénéthylque de l'acide caféique. **Cat** : Catéchine. **Chr** : Chryisine. **Cin** : Acide *t*-cinnamique. **Cou** : Acide *p*-coumarique. **Dai** : Daidzéine. **Epi** : Epicatechine. **Fer** : Acide férulique. **HBA** : Acide *p*-OH benzoïque. **Hes** : Hespérétine. **Lut** : Lutéoline. **Mye** : Myricétine. **Pin** : Pinocembrine. **Prt** : Acide protocathétique. **Rut** : Rutine. **Syr** : Acide syringique.

Ouchemoukh et al. (2017) ont identifié 6 autres acides phénoliques (acides 4-hydroxybenzoïque, 4-hydroxyphénylacétique, gallique, gentisque, homovanillique et vanillique) dans des échantillons de miels Algériens en plus des 8 composés présentés dans cette étude.

Can et al. (2015) ont rapporté des quantités différentes d'acides caféique (80 à 2680 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-coumarique (0 à 1590 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et *p*-OH benzoïque (1090 à 5530 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) dans des échantillons de miel provenant de la Turquie. La composition qualitative et quantitative du miel en polyphénols varie en fonction des origines géographique et botanique (**Ouchemoukh, 2012**). Cela explique les différences de teneur en ces composés, observées entre les miels étudiés et celles des miels qui proviennent d'autres zones géographiques.

Les résultats obtenus indiquent également des différences dans les contenus en acides phénoliques des miels analysés avec ceux rapportés par **Moniruzzaman et al. (2014)** dans des miels du Bangladesh pour les acides *p*-OH benzoïque (0 à 230 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), caféique (0 à 270 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et *t*-cinnamique (0 à 80 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$).

Shen et al. (2019) ont démontré la présence des acides caféique (60 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), férulique (11 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-coumarique (25 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), *p*-OH benzoïque (58 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et syringique (49 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) dans le miel du *Manuka* avec des concentrations différentes de celles obtenues dans cette étude.

VI.2. Flavonoïdes

Cinq sous-classes de flavonoïdes sont identifiées dans les miels analysés : les flavanols, les flavanones, les flavones, les flavonols et les isoflavones. La daidzéine, la chrysin et la pinocembrine sont détectées dans la majorité des miels monofloraux et polyfloraux. La catéchine et l'hespérétine sont identifiées dans les miels monofloraux (H2-H20 et H4-H25, respectivement) mais pas dans les miels polyfloraux. Cependant, la lutéoline est présente dans quatre miels (H11, H17, H20 et H22), la myricétine dans un miel (H12) et la rutine dans deux miels (H3 et H22).

L'analyse quantitative pour les miels monofloraux montre que la teneur la plus élevée en chrysin (381 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), en lutéoline (125 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et en rutine (578 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) est obtenue par le miel *Fabaceae* (H22). La concentration la plus élevée en daidzéine (239 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et en pinocembrine (52,1 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) est obtenue par le miel *Apiaceae* (H23).

Les valeurs les plus élevées en pinocembrine ($89,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et en rutine ($1737 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) dans miels polyfloraux sont enregistrés par le miel de Batna (H3) tandis que le taux le plus élevé en chryisine ($400 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et en daidzéine ($587 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) est obtenue par le miel de Sétif (H7).

Les résultats obtenus indiquent des similitudes et des différences dans la composition des flavonoïdes des miels analysés avec ceux rapportés dans la littérature. **Ouchemoukh et al. (2017)** ont rapporté l'absence de myricétine dans les miels *Apiaceae* et *Ericaceae* et cela est observé exclusivement dans le miel polyfloral. **Shen et al. (2019)** ont rapporté des teneurs différentes de chryisine ($69 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), d'hespérétine ($6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), de lutéoline ($32 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et de pinocembrine ($68 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) dans les miels du *Manuka*. Cependant, **Can et al. (2015)** ont signalé des teneurs variables de catéchine (0 à $2307 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), d'épicatéchine (0 à $2840 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et de rutine (0 à $53862 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) dans les miels de Turquie.

Les résultats d'analyse HPLC montrent bien des différences des teneurs en flavonoïdes des miels étudiés, que ce soit entre les miels qui proviennent des origines florales différentes ou les échantillons de même origine botanique. La variation de ces derniers peut être expliquée par leurs différentes teneurs en pollens d'accompagnements, minoritaires et très minoritaires. En effet, la composition chimique de pollen est très variable d'une espèce végétale à une autre. Par exemple dans les miels *Fabaceae*, l'échantillon H14 est le moins riche en flavonoïdes par rapport au miel H22 qui présente plus de diversité botanique en pollens d'accompagnements, et minoritaires. Les facteurs saisonniers et environnementaux peuvent également jouer un rôle dans les fluctuations détectées.

VII. Activités biologiques

VII.1. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante des miels est évalué *in vitro* avec 7 méthodes (piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, FRAP, pouvoir réducteur, test à la ferrozine, piégeage des radicaux d'oxyde nitrique et blanchiment du β -carotène).

VII.1.1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH

Les systèmes antioxydants semblent jouer un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité morphologique et fonctionnelle de tous les organismes vivants. L'activité d'inhibition de radical DPPH reste l'une des méthodes rapides et commodes pour l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante (Lestari *et al.*, 2020).

Les résultats illustrés dans la figure 35 montrent que tous les échantillons testés présentent un pouvoir scavenger du radical DPPH^{*} et les pourcentages d'inhibitions moyens pour les miels monofloraux et polyfloraux sont de 18 et 24 %, respectivement. L'analyse statistique montre que les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) (36 %) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (47 %) ont l'activité antiradicalaire la plus élevée. Cependant, les miels *Apiaceae* de Tizi-Ouzou (H12) et polyfloral de Médéa (H19) montre l'activité antiradicalaire la plus faible avec un pourcentage d'inhibition de 6 % enregistré par les deux échantillons.

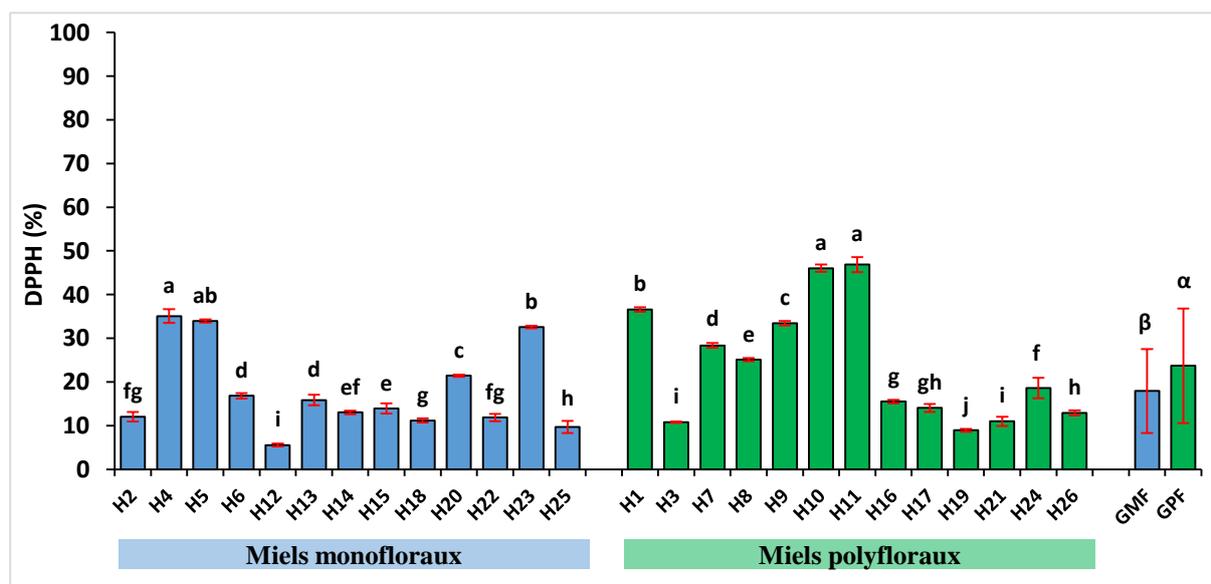


Figure 35 : Activité antiradicalaire DPPH des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats obtenus montrent une différence avec ceux rapportés dans la littérature. **Zaidi et al. (2019)** ont enregistré une activité anti-radicalaire dans 31 échantillons de miel Algérien qui varie de 4,41 à 83,93 %. Cependant, **Doukani et al. (2014)** rapporte des taux plus faibles d'inhibition de radical DPPH (3,42 à 22,06 %). Les types et la quantité des antioxydants seraient à l'origine de ces variations observées entre ces miels (**Lewoyehu et Amare, 2019**).

Les miels plus foncés de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarreridj (H11) ont une meilleure activité de piégeage des radicaux, principalement en raison de leur contenu phénolique. Cependant, une faible activité inhibitrice de DPPH est observée dans les miels clairs de Tizi-Ouzou (H12), Médéa (H19), Ain Defla (H21) et Naâma (H25). Ces résultats obtenus confirment ceux rapportés par **Saxena et al. (2010)** que la couleur de miel est corrélée positivement avec le contenu phénolique total et les activités antioxydantes. Les groupes de miels monofloraux (H2 et H22) et (H6 et H13) et de miels polyfloraux (H3 et H21) et (H9 et H11) ne présentent pas de différence significative dans les pourcentages d'inhibitions de radical DPPH. Cependant, les autres miels sont statistiquement différents.

D'une manière générale, le pouvoir scavenger du radical DPPH[•] présenté par les miels est probablement dû à la présence des antioxydants ayant un fort pouvoir réducteur, notamment les composés phénoliques qui agissent comme des piègeurs de radicaux libres. Cette fonction est liée à leur pouvoir à donner des atomes d'hydrogène et à leur capacité à stabiliser les radicaux phénoxyles résultants via le système conjugué (**El-Seedi et al., 2012**).

Dans la littérature, nombreux sont les travaux qui ont démontré que la présence des groupes $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ dans l'acide cinnamique assure une plus grande capacité de don d'atome d'hydrogène et une stabilisation ultérieure des radicaux que le groupe carboxylate des acides benzoïques (**El-Seedi et al., 2012**). De ce fait, l'abondance des acides hydroxycinnamiques révélés par l'analyse HPLC confère aux miels analysés un fort pouvoir scavenger du radical DPPH[•]. Ce constat est confirmé avec les miels H1, H4, H5, H10 et H11 qui montrent des concentrations élevées en acides hydroxycinnamiques et les meilleurs pourcentages d'inhibitions du radical DPPH[•].

Les miels de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et de Bordj Bouarreridj (H11) ont une forte activité réductrice du radical DPPH[•] et ils sont les plus riches en flavonols. Ces derniers présentent une forte analogie structurale avec la vitamine C. Ils ont la capacité de neutralisation les radicaux libres par fixation de deux atomes d'hydrogène sur ces radicaux. Ces hydrogènes sont fournis par les deux groupements phénols des flavonols.

Les deux électrons célibataires créés sur les flavonols s'apparient de façon interne pour former un tri-cétone neutre. En d'autres termes, les flavonols neutralisent les radicaux libres par l'association d'une oxydation radicalaire et une réduction ionique (Amessis-Ouchemoukh, 2014).

Le piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes dépend fortement de la présence d'un groupement 3-OH libre. Par exemple, les flavonols et les flavones ont tous les deux une configuration hydroxyle identique mais les flavones sont caractérisés par l'absence du groupe fonctionnel 3-OH ce qui explique l'activité anti-radicalaire la plus faible de ces derniers. Les flavonols aglycones présentent des activités antioxydantes élevées avec un ordre d'activité de quercétine > myricétine > kaempférol. La capacité anti-radicalaire de cette classe particulière de flavonoïdes est liée au nombre de groupes hydroxyle qu'ils présentent. La faible activité anti-radicalaire du kaempférol par rapport aux autres flavonols aglycones pourrait être attribuée à la présence d'un seul groupe hydroxyle sur le noyau B qui contribue peu, même en présence du système de double liaison conjuguée et du groupement 3-OH. L'angle de torsion de l'anneau B dans la structure des flavonoïdes influence fortement leur capacité de piégeage des radicaux libres. Par exemple, la planéité dans la structure des flavonols et des flavanols leur permet d'exercer une meilleure activité anti-radicalaire et une augmentation de la stabilité du radical phénoxy. En revanche, les flavones et les flavanones, légèrement tordus, sont dépourvus de cette caractéristique (Soobrattee *et al.*, 2005).

Les composants responsables des propriétés redox du miel sont principalement des acides phénoliques, flavonoïdes, des vitamines et des enzymes, ainsi qu'une petite quantité de minéraux, notamment du cuivre et du fer (Alisi, 2012 ; Lewoyehu et Amare, 2019).

VII.1.2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS

Les capacités scavenging du radical ABTS présentées par les miels sont représentées dans la figure 36. Tous les échantillons montrent une activité anti-radicalaire et les pourcentages d'inhibitions moyennes pour les miels monofloraux et polyfloraux sont respectivement de 32 et 34 %. A la lumière des résultats obtenus, les échantillons *Fabaceae* de Chlef (H22) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) montrent une activité antiradicalaire élevée avec des valeurs respectives de 56 et 75 %. Cependant, les miels *Fabaceae* de Skikda (H2) (12 %) et polyfloral de Tlemcen (H26) (8 %) enregistrent le potentiel antioxydant le plus faible.

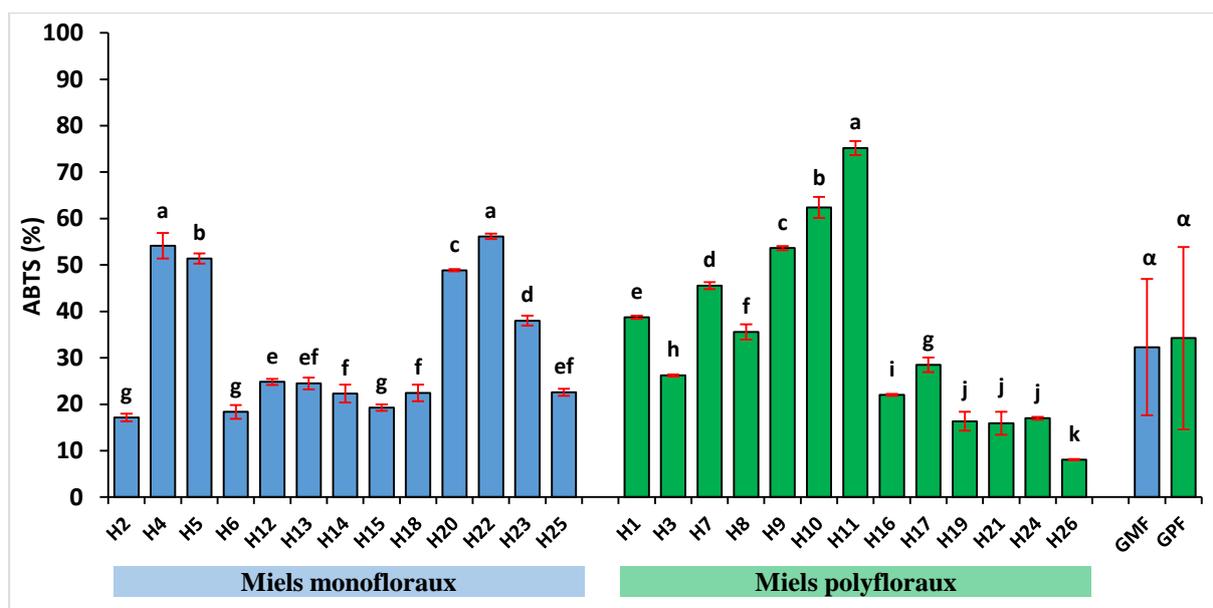


Figure 36 : Activité antiradicalaire ABTS des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapportés par **Wilczynska (2010)** (2 à 31,51 %) dans 34 échantillons de miel collecté en Pologne. Cependant, ils sont inférieurs à ceux rapportés par **Isla et al. (2011)** (65-80 %). En revanche, **Zaidi et al. (2019)** ont rapporté des valeurs similaires pour l'activité anti-radicalaire ABTS des miels Algériens (2,52 à 63,24 %).

Les miels de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H9 et H10) et Bordj Bouarreridj (H11) qui appartiennent à la même région géographique montrent une grande inhibition de radical ABTS avec des valeurs qui dépassent les 50 %. Comme indiqué dans le test DPPH, ces échantillons de couleur foncé montrent des teneurs élevées en composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, caroténoïdes et vitamine C. Les échantillons de faible intensité de couleur qui proviennent de Skikda (H2), Sétif (H6), Tizi-Ouzou (H15), Médéa (H19), Ain Defla (H21) et Mostaganem (H24) enregistrent des pourcentages d'inhibition inférieurs à 20 %.

L'activité anti-radicalaire dépend généralement de la teneur et de la structure moléculaire des polyphénols. Le nombre et la position des groupes hydroxyles dans ces composés semblent également importants dans la neutralisation des radicaux libres. Par exemple, le groupe monohydroxyle dans les acides cinnamiques étant plus disponible comme donneur d'hydrogène que les groupes monohydroxyle dans l'acide phénylacétique qui est l'arôme associé au miel sous forme de son ester d'éthyle (phénylacétate d'éthyle).

En revanche, la dihydroxylation en position 3,4 renforce l'efficacité de ce dernier tout en diminuant celle de l'acide *p*-coumarique. En fait, l'activité antioxydante de l'acide caféique (acide 3,4-dihydroxycinnamique) est presque la même que celle de l'acide protocatéchuïque (acide 3,4-dihydroxybenzoïque) (El-Seedi *et al.*, 2012).

Les monophénols substitués avec un groupement méthyl en position ortho sont plus protecteur contre les radicaux libres dans les systèmes lipophiles. L'acide férulique par exemple, possède une efficacité antioxydante meilleure que celle des acides *p*-coumarique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque. Cependant, en milieu aqueux il est plus efficace que les acides caféique et chlorogénique. La présence des composés phénoliques et d'autres antioxydants tels que les vitamines et les minéraux et l'effet synergique entre eux augmente l'activité anti-radicalaire des miels (Amessis-Ouchemoukh, 2014 ; Miller *et al.*, 1995).

L'ANOVA de pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS révèle 4 groupes homogènes dans les miels monofloraux (H2, H6 et H15), (H4 et H22), (H13 et H25) et (H14 et H18) qui ne sont pas statistiquement différents tandis que les miels polyfloraux présentent un seul groupe homogène (H19, H21 et H24).

Le potentiel anti-radicalaire du miel est attribué à son origine botanique et à la présence de plusieurs antioxydants tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les vitamines (Al-Mamary *et al.*, 2002).

VII.1.3. Test de FRAP

Le test de FRAP permet d'évaluer la capacité à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants enzymatiques (catalase, glucose oxydase et peroxydase) et non enzymatiques (acide ascorbique, caroténoïdes, flavonoïdes et acides phénoliques) du miel (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

A première vue de l'histogramme illustrés dans la figure 37, tous miels analysés montrent une capacité à réduire le fer avec des valeurs qui varient considérablement entre les échantillons. Les valeurs moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 32,14 et 40,83 mg EAG 100 g⁻¹, respectivement. Selon les résultats obtenus, les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) (56,76 mg EAG 100 g⁻¹) et polyfloral de Bejaia (H10) (59,67 mg EAG 100 g⁻¹) présentent la capacité réductrice la plus importante. Par contre, les miels *Fabaceae* de Chlef (H22) (6,47 mg EAG 100 g⁻¹) et polyfloral d'Aïn Defla (H21) (14,33 mg EAG 100 g⁻¹) montrent la capacité réductrice la plus faible.

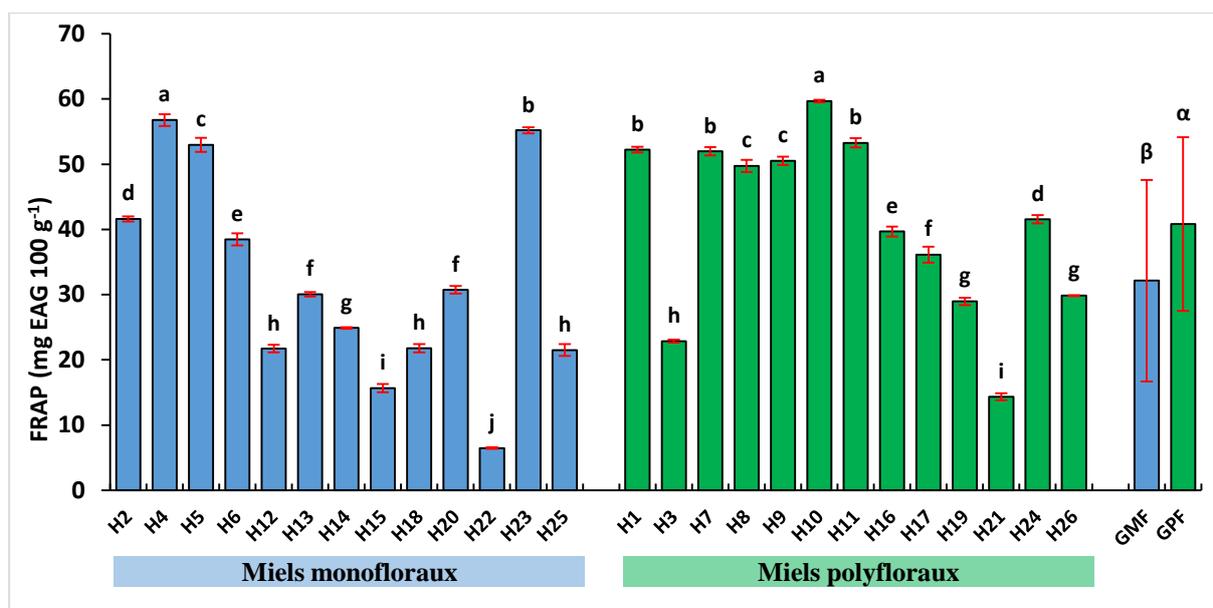


Figure 37 : Pouvoir du FRAP des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les valeurs obtenues sont incluses dans l'intervalle rapporté par **Doukani *et al.* (2014)** (8 à 240 mg EAG 100 g⁻¹). Cependant, **Sagdic *et al.* (2013)** ont rapporté des valeurs supérieures (70,09 à 86,19 mg EAG 100 g⁻¹) pour cette activité antioxydante.

Les miels qui possèdent les grandes teneurs en composés antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes totaux, flavonols totaux, caroténoïdes et vitamines C) tels que les échantillons de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarreridj (H11), révèlent la meilleure activité réductrice. Cependant, les miels de Tizi-Ouzou (H15), Ain Defla (H21) et Chlef (H22) ont des valeurs qui ne dépassent pas 20 mg EAG 100 g⁻¹.

Les miels monofloraux (H2, H4, H5, H6, H14, H15, H22 et H23) et les miels polyfloraux (H3, H11, H16, H17, H21 et H24) présentent une différence significative concernant cette activité antioxydante.

Des études antérieures ont mis en évidence des corrélations significatives entre la teneur en composés phénoliques et le taux de fer ferreux (Fe²⁺) formé en présence des antioxydants du miel (**Bertoncelj *et al.*, 2007** ; **Blasa *et al.*, 2006**). Les résultats de FRAP des miels analysés rapportent le même constat.

VII.1.4. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des miels monofloraux varie de 50,70 à 146,83 mg EAG 100 g⁻¹ enregistré respectivement par les échantillons *Myrtaceae* de Jijel (H5) et *Brassicaceae* de Djelfa (H18) et la valeur moyenne de ces miels est de 75 mg EAG 100 g⁻¹. Les miels polyfloraux montrent un pouvoir réducteur moyen de 78 mg EAG 100 g⁻¹ avec des valeurs qui varient de 39,58 (H21) à 149,56 (H11) mg EAG 100 g⁻¹ (Figure 38). Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Čanadanovic-Brunet *et al.* (2014) (39 à 120 mg EAG 100 g⁻¹).

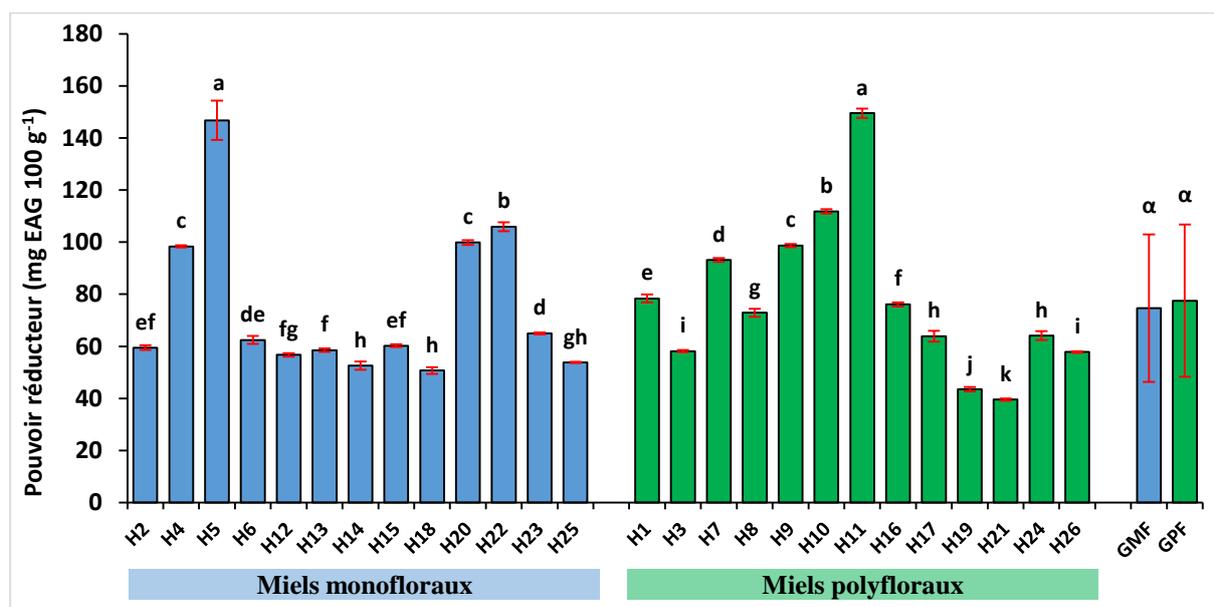


Figure 38 : Pouvoir réducteur des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

L'analyse statistique révèle 3 groupes de miels (H2 et H15), (H4 et H20) et (H14 et H18) qui ne présentent pas de différence significative dans les échantillons monofloraux. D'autres parts, les miels polyfloraux présentent 2 groupes (H3 et H26) et (H17 et H24).

Les composés phénoliques totaux et la vitamine C du miel sont les principaux facteurs responsables de son pouvoir réducteur. Généralement, le miel foncé présente une teneur élevée de ces composés et une activité antioxydante plus importante (Doukani *et al.*, 2014; Khalil *et al.*, 2012). Cela est démontré par les miels de Bordj Bouarreridj (H11) et de Jijel (H5) qui présentent des teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et vitamine C significativement plus élevés que les autres miels ce qui leur confère l'activité réductrice la plus puissante.

VII.1.5. Test à la ferrozine

La capacité chélatrice des métaux de transition est considérée comme un mécanisme secondaire pour estimer l'activité antioxydante d'un composé. Des études récentes ont démontré que certains métaux de transition, en particulier Fe^{2+} et Cu^{2+} , sont impliqués dans certaines maladies dégénératives telles que les maladies d'Alzheimer, de Parkinson et de Wilson, ainsi que les maladies cardiovasculaires et le stress oxydatif (Santos *et al.*, 2017).

Tous les miels analysés montrent une activité chélatrice de fer et les résultats illustrés dans la figure 39 indiquent que la formation du complexe Fe^{2+} -ferrozine n'est pas complète en présence des miels analysés. Les valeurs moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont de 40,48 et de 32,77 %, respectivement. Comme le montre l'histogramme ci-dessous, les miels *Fabaceae* de Tizi-Ouzou (H14) (96 %) et polyfloral de Bejaia (H9) (83 %) enregistrent le meilleur pouvoir chélateur qui diffère significativement de celui des autres miels. En revanche, les échantillons *Fabaceae* de Sétif (H6) (7 %) et polyfloral de Tlemcen (H26) (1 %) montrent la plus faible capacité chélatrice.

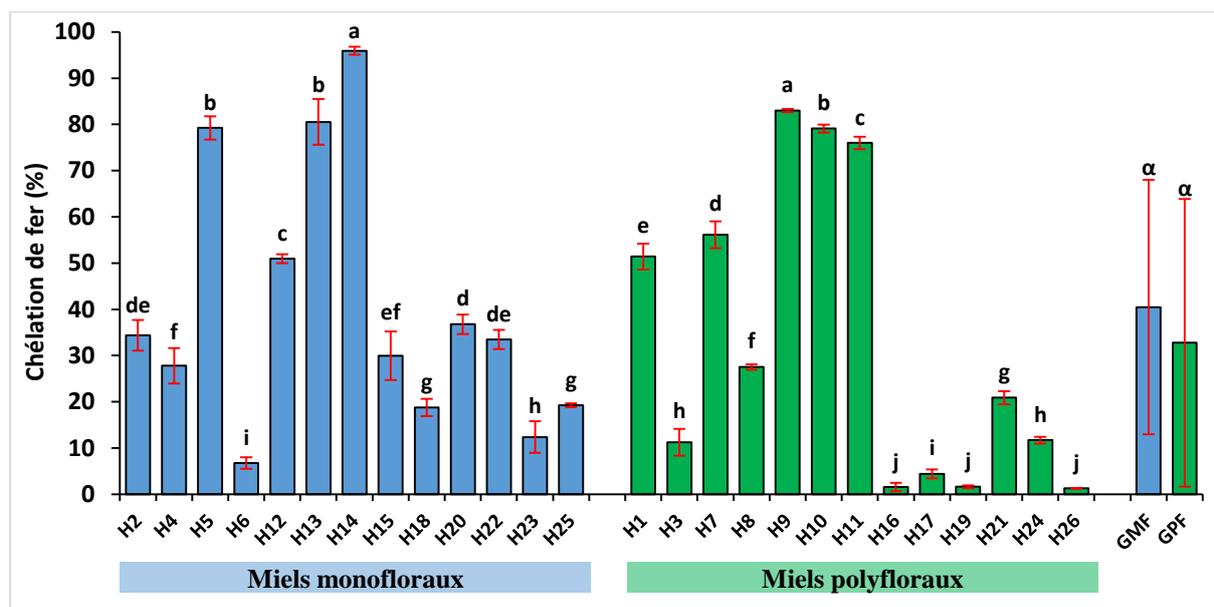


Figure 39 : Test à la ferrozine des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Ces résultats montrent une meilleure activité chélatrice de fer par rapport à celle rapporté par Temizer *et al.* (2018) (36 à 37 %). Cependant, Tahir *et al.* (2017) ont obtenu des valeurs (52 à 88 %) plus proches de celles de la présente étude.

Le dosage des antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, caroténoïdes et vitamine C) effectué dans ce travail montrent que les miels récoltés à Jijel (H5), Bejaia (H9 et H10), Bordj Bouarreridj (H11) et Tizi-Ouzou (H13 et H14) contiennent des concentrations plus élevées en ces composés, d'où leur capacité réductrice élevée. En revanche, les échantillons de Sétif (H6), Tizi-Ouzou (H16), Boumerdes (H17), Médéa (H19) et Tlemcen (H26) montrent un faible pouvoir chélateur de fer. Les autres miels montrent des valeurs qui varient entre 10 et 60 %. Les agents chélateurs de miel interfèrent la formation de complexe Fe^{2+} -ferrozine et ces chélateurs agissent comme des captures des ions ferreux avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine.

L'ANOVA de test à la ferrozine montre 3 groupes homogènes (H2 et H22), (H5 et H13) et (H18 et H25) pour les miels monofloraux et 2 groupes homogènes (H3 et H24) et (H16, H19 et H26) pour les miels polyfloraux.

Plusieurs études ont rapporté que les composés phénoliques sont capables de complexer et de stabiliser les ions métalliques de transition, ce qui est probablement dû au fort caractère nucléophile de leurs cycles aromatiques. D'autres part, les groupements catéchol (3,4-dihydroxy) et galloyl (3,4,5-trihydroxy) des acides phénoliques pouvant former des chélates avec le Fe^{3+} . Des études antérieures ont montré que les chélateurs qui forment des liaisons σ (sigma) avec un métal réduisent le potentiel redox de manière à stabiliser la forme oxydée des ions métalliques, ces composés sont efficaces comme antioxydants secondaires. D'autres études ont démontré que les composés qui comportent dans leur structures les groupements fonctionnels -OH, -COOH, -COO, -SH, -PO₃H₂, -NR₂, -S et -O pouvant exercer une activité chélatrice de métaux (**Amessis-Ouchemoukh, 2014 ; Maioli *et al.*, 2010**).

Les composés phénoliques ne sont pas les seuls chélateurs de fer. Il existe d'autres composés tels que les acides organiques (acides malique, citrique, tartrique...), les acides aminés et les sucres qui peuvent se complexer avec les métaux de transition. Le pouvoir chélateur des polyphénols dépend principalement de leur nature chimique et de leur structure moléculaire. Par exemple, la conjugaison d'un phénol avec un glucide provoque la perte de son activité chélatrice, de même le groupement catéchol chélate mieux le fer que le groupement phénol. Les proanthocyanidines possèdent également une grande activité de réduction ferrique et celle-ci est attribuée à leurs fonctions hydroxyle qui sont de puissants donneurs d'hydrogène. De plus, les doubles liaisons conjuguées permettent la délocalisation des électrons à travers la molécule, stabilisant ainsi le radical phénoxy (**Soobrattee *et al.*, 2005 ; Wong *et al.*, 2006**).

La variabilité des pouvoirs chélateurs de miels reflètent la nature complexe des chélateurs qui sont présents dans le miel avec des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la ferrozine (Ouchemoukh, 2012).

VII.1.6. Test de radical scavenging d'oxyde nitrique (NORS)

Le test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique est basé sur la capacité des échantillons du miel à réduire la concentration de nitrite dans le milieu réactionnel exprimée en IC₅₀. De faibles valeurs IC₅₀ indiquent une plus grande capacité de récupération de NO dans le milieu de dosage.

Les résultats de pouvoir scavenger d'oxyde nitrique sont représentés dans la figure 40 et les IC₅₀ moyennes des miels monofloraux et polyflorayx sont de 191 et 290 mg ml⁻¹. A première vue de l'histogramme ci-dessous, les miels *Ericaceae* de Jijel (H4) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) présentent la meilleure capacité de scavenging d'oxyde nitrique avec des IC₅₀ de 35,71 et 37,01 mg ml⁻¹, respectivement. Cependant, les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) et polyfloral de Médéa (H19) montent une faible capacité de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique avec des valeurs respectives d'IC₅₀ de 98 et 141 mg ml⁻¹.

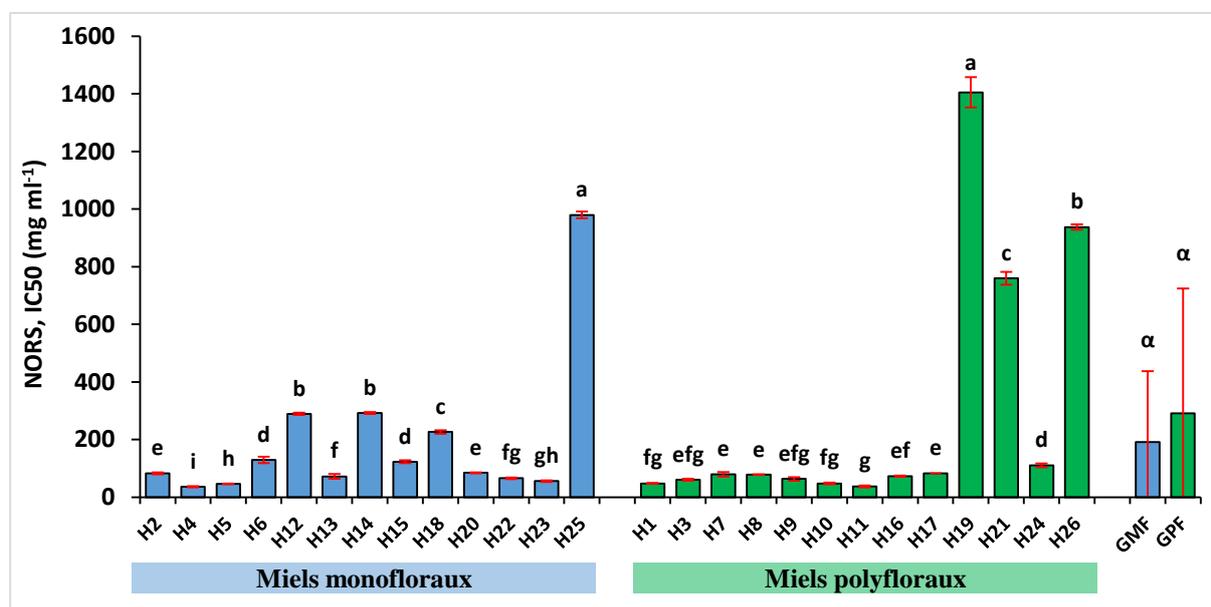


Figure 40 : Pouvoir de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux révélés par **Dor et Mahomoodally (2014)** dans les miels de la République de Maurice (2,8 à 47 mg ml⁻¹) et **Aazza *et al.* (2014)** dans des miels Marocains (22 à 95 mg ml⁻¹).

Les miels de Jijel (H4 H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarreridj (H11) enregistrent le meilleur pouvoir scavenger de monoxyde d'azote qui pourrait être attribué à leurs teneurs élevées en composés antioxydants (polyphénols, caroténoïdes et vitamines C). Ces substances rentrent en compétition avec l'oxygène, conduisant ainsi à la réduction de production de nitrites. Les miels de Skikda (H1 et H2), Batna (H3), Sétif (H7), Bejaia (H8 H9 H10) et Tizi-Ouzou (H13 et H16) montrent des IC₅₀ inférieures à 10 mg ml⁻¹. Les échantillons de Boumerdes (H17), Médéa (H19), Naâma (H25) et Tlemcen (H26) enregistrent une faible capacité de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique avec valeurs d'IC₅₀ supérieures à 80 mg ml⁻¹.

L'analyse statistique des IC₅₀ de test NORS montre que les miels monofloraux (H4, H5, H13, H18, H22, H23 et H25) et polyfloraux (H11, H19, H21, H24 et H26) présentent une différence significative.

L'oxyde nitrique est considéré comme un radical libre impliqué dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques de l'organisme. Le surdosage de cette molécule peut altérer la structure et la fonction de nombreux composants cellulaires. La toxicité du NO[•] augmente lorsqu'il réagit avec le superoxyde pour former l'anion peroxynitrite (ONOO⁻), qui est un oxydant puissant et qui peut se décomposer pour former le [•]OH et le NO₂ (**Pacher *et al.*, 2007**). Les composés phénoliques sont connus pour leurs pouvoirs scavenger des radicaux libre, ce qui explique en effet les meilleures inhibitions de la formation de NO[•] par les miels riches en ces composés. Cependant, les polyphénols qui forment des liaisons avec les glucides et les protéines perdent leur efficacité à réduire la formation de monoxyde d'azote.

VII.1.7. Blanchiment de β-carotène

L'inhibition de blanchiment de la β-carotène permet d'évaluer la capacité d'un composé à prévenir l'oxydation du β-carotène en le protégeant contre les radicaux libres générés lors de la peroxydation de l'acide linoléique (**Chintong *et al.*, 2019**).

Selon les résultats représentés dans la figure 41, tous les miels analysés montrent la capacité à empêcher le blanchiment de la β-carotène avec des moyennes de 67 % pour les miels monofloraux et de 73 % pour les miels polyfloraux.

Les miels *Fabaceae* de Chlef (H22) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) enregistrent les valeurs les plus élevées de l'activité antioxydante relative (87,65 et 87,44 %, respectivement). D'autres parts, les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) et polyfloral de Tlemcen (H26) enregistrent de faibles valeurs (30,25 et 43,21 %, respectivement).

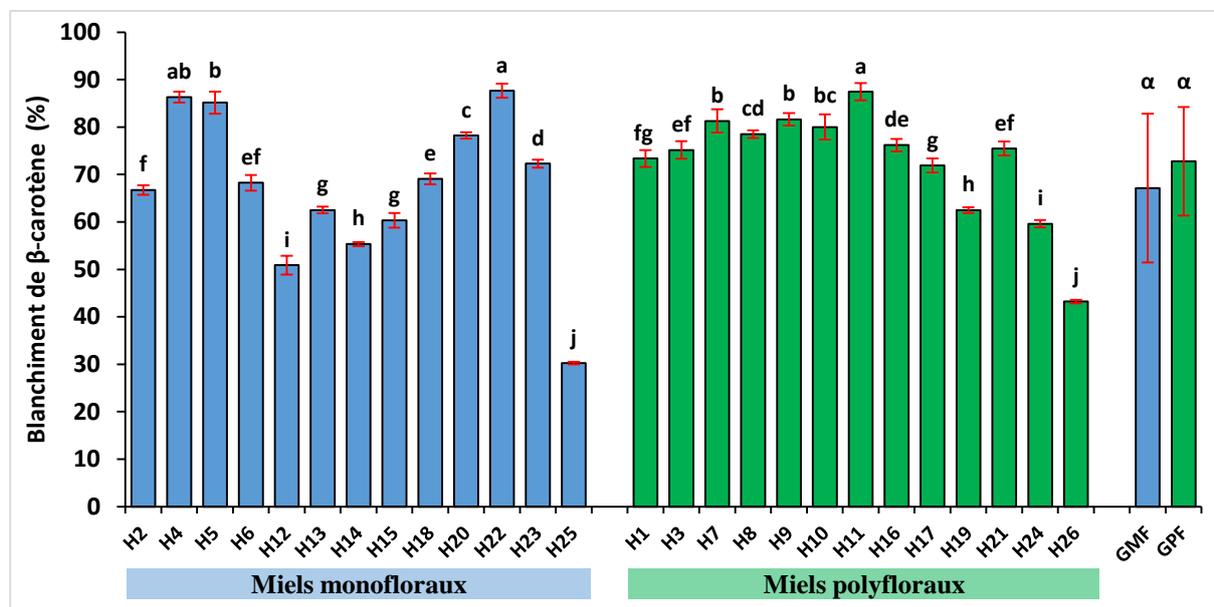


Figure 41 : Pouvoir de blanchiment de la β -carotène des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Des résultats de blanchiment de la β -carotène similaires sont rapportés par **Silva *et al.* (2013)** et **Gül *et al.* (2018)** dans les miels du Brésil (48,80 et 74,60 %) et de Turquie (32,09 et 94,87 %).

Les miels de Jijel (H4 et H5), Sétif (H7), Bejaia (H9), Bordj Bouarreridj (H11) et Chlef (H22) révèlent la meilleure capacité à empêcher le blanchiment de la β -carotène en comparaison avec les autres échantillons de miel. Cette capacité peut être attribuée à leur richesse en polyphénols. Cela est confirmé dans le présent travail soit par les dosages colorimétriques ou par analyse HPLC-UV. Le miel H4, par exemple, montre des concentrations élevées en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en flavonols.

Les miels de Naâma (H25) et de Tlemcen (H26) qui ont enregistré des faibles concentrations en composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, caroténoïdes et vitamine C, montrent moins d'habileté à inhiber blanchiment de la β -carotène avec des pourcentages d'inhibition qui ne dépassent pas les 45 %.

Les groupes homogènes de miels monofloraux (H13 et H15) de Tizi-Ouzou et de miels molyfloraux (H7 et H9) et (H3 et H21) ne présentent pas de différence significative. En revanche, les autres miels sont statistiquement différents pour le blanchiment de la β -carotène.

Les antioxydants du miel tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes possèdent la capacité à entraver l'étendue du blanchiment du β -carotène en neutralisant le radical libre de linoléate et d'autres radicaux libres formés dans le système et cela grâce à leur potentiel redox. En plus, les flavonoïdes qui portent dans leur structures des groupements hydroxyles, en position R3, montrent un pouvoir antioxydant élevé dans les émulsions (**Chintong *et al.*, 2019**).

Les flavanols sont également de puissants antioxydants dans les systèmes lipidiques où ils réduisent les modifications oxydatives des membranes en limitant l'accès des oxydants à la bicouche lipidique et la propagation des réactions l'oxydation en chaîne dans la matrice membranaire hydrophobe. Cependant, la substitution du groupement 3-OH par un groupe méthyle ou glycosyl diminue l'activité de la quercétine et du kaempférol contre l'oxydation de la β -carotène (**Soobrattee *et al.*, 2005**).

Le test de blanchiment de la β -carotène est similaire à un système d'émulsion dont les antioxydants apolaires exercent une meilleure activité antioxydante car ils sont concentrés à l'interface lipides-eau tandis que les antioxydants polaires sont dilués dans la phase aqueuse et exercent ainsi une activité moins importante (**Amessis-Ouchemoukh, 2014**).

VII.2. Activité antibactérienne

VII.2.1. Test de sensibilité

Le test d'inhibition de la croissance bactérienne sur milieu solide montre une activité inhibitrice plus efficace contre les bactéries Gram positif (*S. aureus* ATCC25923 et *S. aureus* FRI 6) par rapport aux bactéries Gram négatif (*E. coli* et *S. typhi*) et les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau XI. Ceci peut être attribué à la différence structurelle entre les deux catégories. Les bactéries Gram négatif présentent une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe avec des lipopolysaccharides qui empêchent l'incursion des molécules. Cependant, la paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée d'une seule couche et les substances peuvent facilement y pénétrer (Jimoh *et al.*, 2010). Des photographies de l'effet antibactérien des miels sur les 4 souches bactériennes testés sont données dans la figure 42.

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne, la souche bactérienne *S. aureus* ATCC25923 est sensible à 9 miels monofloraux et 10 miels polyfloraux. Cependant, les miels de Skikda (H1), Sétif (H6), Bejaia (H10), Tizi-Ouzou (H13), Djelfa (H18), Aïn Defla (H20) et Tlemcen H26 ne montrent pas d'effet antibactérien contre cette souche. Les plus grands diamètres d'inhibition de *S. aureus* ATCC25923 sont obtenus par les miels *Fabaceae* de Skikda (H2) (13,33 mm) et polyfloral de Sétif (H7) (13,67 mm).

Le test antibactérien révèle que la souche Gram positif *S. aureus* FRI 6 est la bactérie la plus sensible par rapport aux autres souches étudiées. Selon les résultats obtenus, les miels analysés ont tous inhibé la croissance de *S. aureus* FRI 6 à l'exception des miels monofloraux de Djelfa (H18) et Naâma (H25) et les miels polyfloraux de Batna (H3), Médéa (H19) et Tlemcen (H26). Les miels de Jijel (H5) (21,33 mm) et Bordj Bouarrerdj (H11) (21 mm) montrent le meilleur pouvoir inhibiteur contre *S. aureus* FRI 6. Cependant, les échantillons de Sétif (H6) (9 mm) et Boumerdès (H17) (10,67 mm) enregistrent l'inhibition la plus faible.

Parmi les 26 miels testés, il y a que 9 miels monofloraux et à 4 miels polyfloraux qui ont peu inhiber la croissance d'*E. coli* et ce sont les miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) et polyfloral de Sétif (H7) qui présentent les plus grands diamètres d'inhibition avec des valeurs respectives de 11,67 et 12,33 mm. En revanche, les échantillons récoltés à Bejaia (H10) (8,67 mm) et El Bayadh (H23) (7,33 mm) montrent les plus petits diamètres d'inhibition. Le tableau ci-dessous montre l'absence d'effet antibactérien contre *E. coli* dans 4 miels monofloraux et 9 miels polyfloraux.

Tableau XI : Résultats de l'activité antibactérienne des échantillons de miel.

Echantillon	Bactéries Gram positif (+)						Bactéries Gram négatif (-)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923			<i>Staphylococcus aureus</i> FRI S6			<i>Escherichia coli</i> ATCC25922			<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028		
	DZI (mm)	ES	CMI (% p/v)	DZI (mm)	ES	CMI (% p/v)	DZI (mm)	ES	CMI (% p/v)	DZI (mm)	ES	CMI (% p/v)
H2	13,33±0,58 ^a	S	26,35±0,82 ^j	15,33±0,58 ^{cd}	S	52,74±3,27 ^e	-	NS	54,51±1,95 ^{gh}	-	NS	67,87±0,90 ^f
H4	8,67±0,58 ^{fg}	S	58,22±3,22 ^{fg}	19,33±1,15 ^b	TS	49,17±2,29 ^e	10,00±1,00 ^{bc}	S	71,05±5,73 ^{ef}	14,33±0,58 ^b	S	56,30±1,75 ^{gh}
H5	9,33±0,58 ^{ef}	S	76,41±5,72 ^d	21,33±0,58 ^a	ES	46,45±2,66 ^{ef}	11,67±0,58 ^a	S	81,73±1,83 ^d	15,67±0,58 ^a	TS	49,22±1,82 ^h
H6	-	NS	87,37±1,11 ^b	9,00±1,00 ^f	S	94,14±5,01 ^b	9,33±0,58 ^{bed}	S	104,39±8,66 ^c	10,33±1,53 ^e	S	75,98±1,49 ^e
H12	11,67±0,58 ^{bc}	S	56,28±0,59 ^{gh}	15,00±1,00 ^{cd}	TS	69,76±7,62 ^d	8,67±0,58 ^d	S	51,76±5,51 ^h	12,00±1,00 ^{cd}	S	74,36±0,20 ^{ef}
H13	-	NS	113,16±1,69 ^a	12,67±0,58 ^e	S	72,62±5,14 ^d	9,00±1,00 ^{cd}	S	58,82±4,47 ^{gh}	12,33±0,58 ^c	S	94,26±4,46 ^d
H14	9,67±0,58 ^{de}	S	53,27±1,54 ^h	9,67±1,53 ^f	S	88,39±1,07 ^{bc}	9,67±1,53 ^{bed}	S	62,73±1,81 ^{fg}	-	NS	113,47±11,83 ^c
H15	8,33±0,58 ^g	S	80,60±0,11 ^c	13,67±0,58 ^{de}	S	90,65±3,39 ^{bc}	9,67±0,58 ^{bed}	S	121,67±4,48 ^a	11,00±1,00 ^{de}	S	95,73±1,77 ^d
H18	-	NS	65,56±0,70 ^e	-	NS	83,05±1,61 ^c	-	NS	81,47±1,13 ^d	-	NS	121,59±7,56 ^b
H20	-	NS	73,63±1,19 ^d	15,33±0,58 ^c	TS	52,06±3,09 ^e	-	NS	74,28±2,82 ^{de}	12,67±0,58 ^c	S	57,72±0,25 ^g
H22	11,33±0,58 ^c	S	47,52±3,56 ⁱ	19,00±1,00 ^b	TS	39,71±3,34 ^f	-	NS	54,65±6,29 ^{gh}	11,67±0,58 ^c	S	55,75±0,32 ^{gh}
H23	10,33±0,58 ^d	S	59,11±0,48 ^{fg}	15,67±0,58 ^c	TS	86,23±10,32 ^c	7,33±0,58 ^e	S	112,43±7,06 ^{bc}	12,67±0,58 ^c	S	59,36±1,85 ^g
H25	12,33±0,58 ^b	S	61,94±0,29 ^{ef}	-	NS	126,99±2,25 ^a	10,33±0,58 ^b	S	118,88±8,64 ^{ab}	-	NS	197,81±8,20 ^a
M±ET	7,31±5,13^u		66,11±20,64^u	12,69±6,49^u		73,23±24,51^u	6,59±4,59^u		80,64±25,27^β	8,67±6,02^u		83,11±39,84^u
H1	-	NS	77,21±0,27 ^c	11,33±1,15 ^e	S	85,50±1,20 ^d	-	NS	86,27±3,18 ^e	12,00±1,73 ^c	S	85,79±2,27 ^{ef}
H3	11,33±0,58 ^{bc}	S	50,79±1,35 ^{ef}	-	NS	94,80±1,26 ^c	-	NS	51,89±1,20 ^g	8,00±1,00 ^e	S	91,48±4,42 ^{cd}
H7	13,67±0,58 ^a	S	40,53±1,26 ^g	15,33±1,15 ^c	TS	42,27±2,36 ^h	12,33±0,58 ^a	S	38,62±0,94 ^h	14,33±0,58 ^a	S	54,70±0,76 ⁱ
H8	10,33±0,58 ^c	S	48,38±3,40 ^f	11,67±0,58 ^e	S	52,91±2,73 ^g	-	NS	72,51±6,94 ^f	8,33±0,58 ^e	S	72,72±0,26 ^g
H9	8,00±1,00 ^d	S	68,86±3,05 ^d	15,67±0,58 ^c	TS	37,49±1,92 ⁱ	-	NS	85,92±1,88 ^e	9,67±0,58 ^d	S	70,94±4,33 ^g
H10	-	NS	83,77±2,32 ^b	19,00±1,00 ^b	TS	36,43±2,11 ⁱ	8,67±0,58 ^d	S	104,96±1,21 ^d	-	NS	62,59±20,9 ^h
H11	8,33±0,58 ^d	S	75,71±2,62 ^c	21,00±1,73 ^a	ES	29,87±1,26 ^j	-	NS	81,03±10,19 ^{ef}	13,67±1,15 ^{ab}	S	52,88±1,08 ⁱ
H16	10,33±0,58 ^c	S	67,05±3,63 ^d	13,33±0,58 ^d	S	74,33±3,55 ^f	-	NS	96,04±6,99 ^d	11,67±0,58 ^c	S	86,83±2,64 ^{de}
H17	13,33±0,58 ^a	S	83,83±1,76 ^b	10,67±0,58 ^e	S	76,22±3,62 ^{ef}	-	NS	85,96±7,02 ^e	7,67±0,58 ^e	NS	89,36±2,88 ^{cde}
H19	13,33±0,58 ^a	S	47,86±0,22 ^f	-	NS	100,05±1,31 ^b	-	NS	167,76±1,24 ^b	-	NS	93,61±0,97 ^{bc}
H21	10,67±0,58 ^c	S	54,79±0,65 ^e	11,33±0,58 ^e	S	72,80±3,97 ^f	11,33±0,58 ^b	S	124,87±3,60 ^c	12,67±0,58 ^{bc}	S	80,42±1,76 ^f
H24	12,00±1,00 ^b	S	54,45±0,25 ^e	10,67±0,58 ^e	S	79,09±2,60 ^e	10,67±0,58 ^c	S	248,19±7,20 ^a	-	NS	97,11±6,37 ^b
H26	-	NS	107,42±5,69 ^a	-	NS	124,44±2,82 ^a	-	NS	249,02±10,20 ^a	-	NS	257,08±5,93 ^a
M±ET	8,56±5,07^u		66,20±18,67^u	10,77±6,76^u		69,71±27,79^u	3,31±5,09^β		114,85±65,67^u	8,46±5,15^u		91,96±50,40^u

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. DZI : Diamètre de Zone d'Inhibition. ES : Echelle de Sensibilité. NS : Non Sensible. S : Sensible. TS : Très Sensible. ES : Extrêmement Sensible.

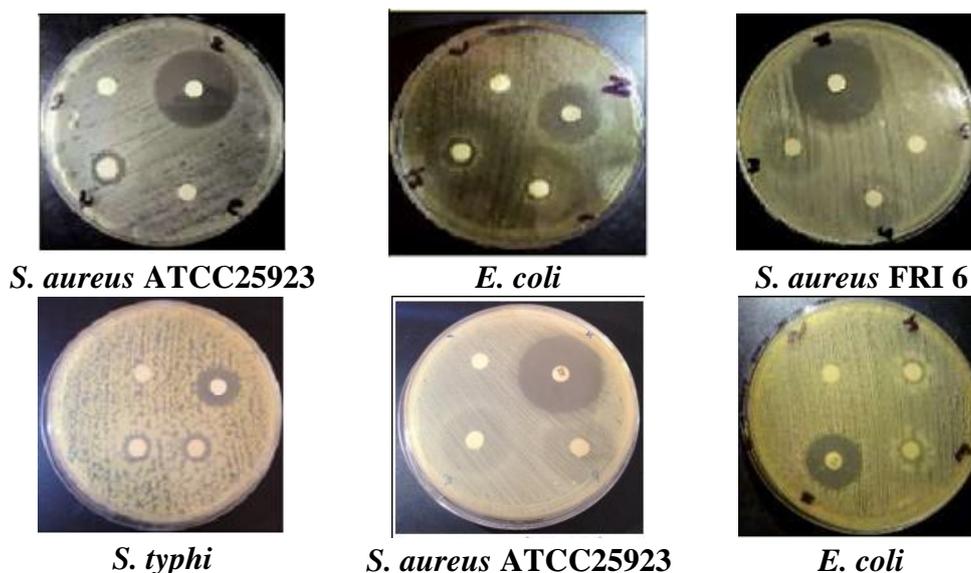


Figure 42 : Photographies des effets antibactériens des miels sur les 4 souches bactériennes testées.

La souche *S. typhi* est sensible à 9 miels monofloraux et 9 miels polyfloraux. Le miel de *Myrtaceae* de Jijel (H5) et le miel polyfloral de Sétif (H7) présentent les diamètres d'inhibition les plus élevés avec des valeurs de 15,67 et de 14,33 mm, respectivement. En revanche, cette souche a montré une résistance vis-à-vis des miels *Fabaceae* (H2, H14 et H25), *Brassicaceae* (H18) et polyfloral (H10, H19, H24 et H25).

Les miels de Jijel (H5), Sétif (7) et Bordj Bouarreridj (H11) ont inhibé *S. aureus* et *E. coli* au même titre que l'antibiotique de référence céphoxitine. Par contre, tous les miels montrent des diamètres d'inhibitions inférieures à ceux de l'amikacine, de l'acide fusidique et de la ciprofloxacine contre les 4 souches bactériennes étudiées (Figure 43).

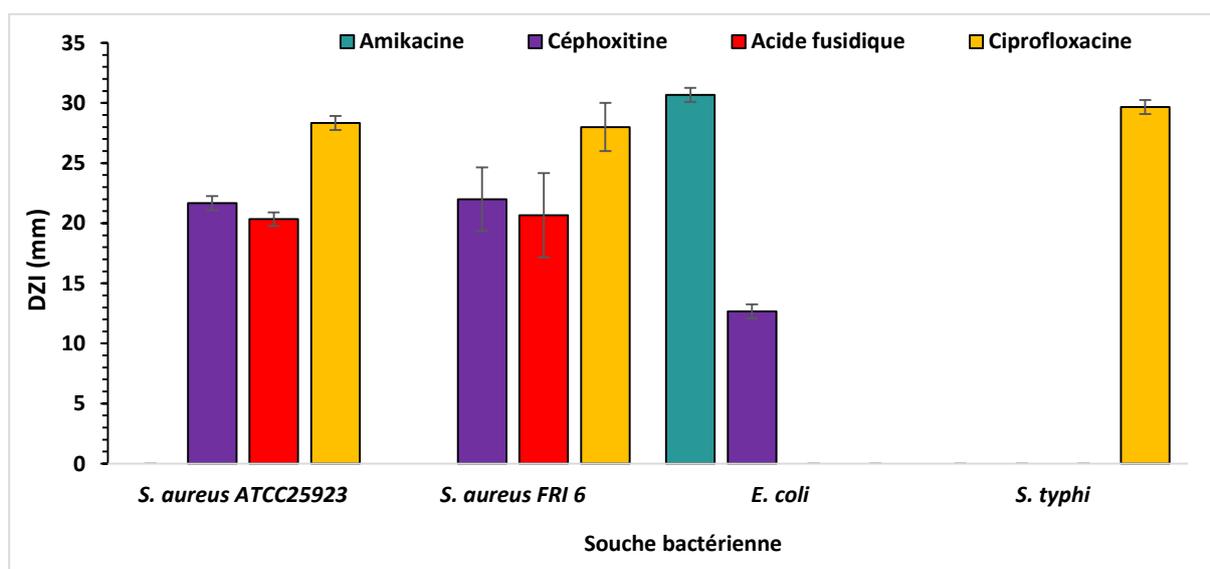


Figure 43 : Résultats de l'antibiogramme.

DZI : Diamètre de Zone d'Inhibition.

Les diamètres des zones d'inhibition contre *S. aureus* sont similaires à ceux rapportés par **Ghranh *et al.* (2019)** (8 à 20 mm) et **Voidarou *et al.* (2011)** (9 à 12,88 mm). Cependant, les diamètres de *S. typhi* sont plus petits que ceux obtenus par **Tumin *et al.* (2005)** (32 à 34 mm).

L'effet antibactérien du miel pourrait être attribué à plusieurs facteurs tels que l'osmolarité élevée, l'humidité et l'acidité (**Alvarez-Suarez *et al.*, 2010**). Les miels de Jijel (H4 et H5), Sétif (H7) et Bordj Bouarreridj (H11) ont à la fois les meilleurs paramètres physicochimiques et la plus grande capacité inhibitrice de la croissance bactérienne. Ces miels présentent le degré de brix le plus élevé et par conséquent la plus grande teneur en sucres. L'osmolarité élevée est connue par son pouvoir à provoquer la déshydratation des bactéries et à inhiber leurs croissances et leurs proliférations. Ils sont également caractérisés par une faible humidité, ce qui signifie qu'il offre une très faible disponibilité en eau pour la croissance bactérienne. L'acidité est un autre paramètre qui s'ajoute à ceux déjà mentionnés. Avec un pH inférieur à 4.5, ces échantillons possèdent une bonne activité inhibitrice des bactéries pathogènes qui se développent dans un milieu neutre ou légèrement alcalin.

Les activités antibactériennes *in vitro* des acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique et des flavonoïdes ont été démontrées expérimentalement. Les composés phénoliques aux structures moins complexes, tels que le catéchol et la coumarine possèdent également des activités bactéricides. En effet, le miel de Jijel (H4) a enregistré simultanément les plus grandes concentrations en acides phénoliques et flavonoïdes et le meilleur pouvoir inhibiteur de *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* FRI 6, *E. coli* et *S. typhi*. La littérature disponible indique que les bactéries Gram positive sont plus sensibles aux effets antibactériens des polyphénols que les bactéries Gram négative (**Lima *et al.*, 2019**). Il a été rapporté que la forte électronégativité de la membrane externe dans la paroi cellulaire des bactéries Gram négative peut entraîner des interactions plus faibles avec les phénols (**Lima *et al.*, 2019**). Cela peut expliquer la meilleure activité inhibitrice contre les bactéries Gram positive par rapport aux Gram négative obtenue dans cette étude.

Les facteurs de virulence sont des caractéristiques physiologiques importantes chez les bactéries pathogènes et ils sont responsables des maladies infectieuses chez l'homme et l'animal. Cependant, les bactéries peuvent subir des modifications de ces caractéristiques lorsqu'elles sont exposées à des conditions stressantes, y compris la présence de composés antibactériens.

Plusieurs études ont démontré l'altération physiologique des facteurs de virulence, des éléments de régulation génétique et de la capacité à produire des biofilms des bactéries sont causés par les composés phénoliques. Ces derniers peuvent également diminuer l'hydrophobie et la capacité d'auto-agrégation de la surface cellulaire, qui sont des caractéristiques importantes liées aux mécanismes d'adhésion des bactéries pathogènes tels que *Salmonella typhimurium* (Lima *et al.*, 2019 ; Salahaen *et al.*, 2016).

VII.2.2. CMI

Les CMI les plus faibles contre *S. aureus* ATCC25923 sont mesurées pour les miels *Fabaceae* de Skikda (H2) (26,35 %) et polyfloral de Sétif (H7) (40,53 %) tandis que les plus grandes CMI sont enregistrées par les échantillons *Apiaceae* de Tizi-Ouzou (H13) (113,16 %) et polyfloral de Tlemcen (H26) (107,42 %). La souche *S. aureus* FRI 6 montre des faibles CMI obtenus par les miels *Fabaceae* de Chlef (H22) (39,71 %) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (29,87). Cependant, les CMI les plus élevées sont enregistrées par les échantillons *Fabaceae* de Naama (H25) (126,99 %) et polyfloral de Tlemcen (H26) (124,44).

Les résultats des CMI obtenues contre *E. coli* varient de 51,76 (H12) à 121,67 (H15) % pour les miels monofloraux et de 38,62 (H7) à 249,02 % (H26) pour les miels polyfloraux. La souche bactérienne *S. typhi* est très sensible aux miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) avec des CMI respectives de 49,22 et 52,88 %. Cependant, cette souche est moins sensible aux miels *Fabaceae* de Naama (H25) et polyfloral de Tlemcen (H26) avec des CMI respectives de 197,81 et 257,08 %.

Les résultats obtenus montrent que les CMI de *S. aureus* sont plus élevés par rapport à celles rapportées par Patton *et al.* (2006) et Al-Habsi et Niranjana (2012) dans le miel de Manuka avec des valeurs de 6,3 et 13 %, respectivement. Cependant, Ahmed *et al.* (2012) ont obtenu des CMI similaires (30 à 70 %) dans des miels Algériens, tandis que Fahim *et al.* (2014) ont rapporté des CMI contre *S. typhi* (35 à 90 %) proches de celles de cette étude.

VII.2.3. Courbes dose-réponse des miels contre les souches bactériennes

Les courbes dose-réponse sont obtenues en traçant le pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction des concentrations du miel. L'objectif est d'établir le profil de réponse des souches bactériennes aux échantillons du miel étudiés à différentes concentrations. La gamme de concentrations du miel utilisée est de 50 à 0,1 % (p/v), ce qui s'est avéré être la gamme de concentration où l'inhibiteur pouvait être observé (Patton *et al.*, 2006).

Les souches de *S. typhi* et de *S. aureus* FRI S6 démontrent une relation presque linéaire entre les concentrations de miel monofloral et les pourcentages d'inhibition, tandis que les courbes de miel polyfloral sont linéaires. Il est bien clair que l'activité antibactérienne des miels étudiés est dose dépendante.

Tous les miels monofloraux (Figures 44 (a1 et b1), 45 (c1 et d1) et 46 (e1)) enregistrent des réponses contre *S. aureus* FRI S6 stables et proches de 100 % d'inhibition pour les dilutions : D1=50, D2=25 et D3=12,5%. Ensuite, les courbes révèlent une similitude de réponse qui a chuté significativement de D3=12,5 à D10=0,1 %. Les courbes de réponse de *S. typhi* pour les miels monofloraux montrent une diminution régulière du pourcentage d'inhibition à partir de D1 sauf pour les miels *Apiaceae* et *Myrtaceae* qui montrent une diminution significative à partir de D3 et D2, respectivement. Les miels polyfloraux présentent une meilleure inhibition de *S. aureus* FRI S6 par rapport à *S. typhi* (Figure 46 (f1)).

Les courbes des miels *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Ericaceae*, *Myrtaceae* et polyfloral (Figures 44 (a2 et b2), 45 (c2 et d2) et 46 (f2)) montrent une meilleure inhibition de *S. aureus* ATCC25923 par rapport à *E. coli*. Les miels *Apiaceae* révèlent une chute d'inhibition d'*E. coli* entre D1 et D3 ensuite une stabilisation de l'inhibition entre D3 et D4= 6,3 %, puis une diminution constante de pourcentage d'inhibition de D4 à D10. Cependant, la courbe diminue d'une manière considérable à partir de D2 pour la souche *S. aureus* ATCC25923. Les courbes relatives aux autres miels (*Fabaceae*, *Ericaceae*, *Myrtaceae* et polyfloral) montrent une inhibition stable entre D1 et D3 puis une diminution constante entre D3 et D10 de pourcentage d'inhibition de *S. aureus* ATCC25923 et *E. coli*. La figure 46 (e1) montre des courbes à deux phases des miels *Brassicaceae* : la première phase (D1 et D7=0,8 %) montre une meilleure inhibition de *S. aureus* ATCC25923 par rapport à *E. coli* et la seconde phase (D7 et D10) montre une plus grande inhibition d'*E. coli*. Les miels polyfloraux montrent un grand écart d'inhibition entre *S. typhi* et *S. aureus* FRI à D5=3,1 %. Cependant, à partir de D6=1,6 %, les deux courbes sont presque parallèles.

Les miels *Ericaceae* montrent des différences d'inhibition nettement visibles entre *S. typhi* et *S. aureus* FRI à D5, D6 et D7 tandis que les échantillons *Myrtaceae* révèlent des inhibitions très proches entre *S. aureus* ATCC25923 et *E. coli* aux concentrations D4, D5, D6, D7, D8, D9 et D10.

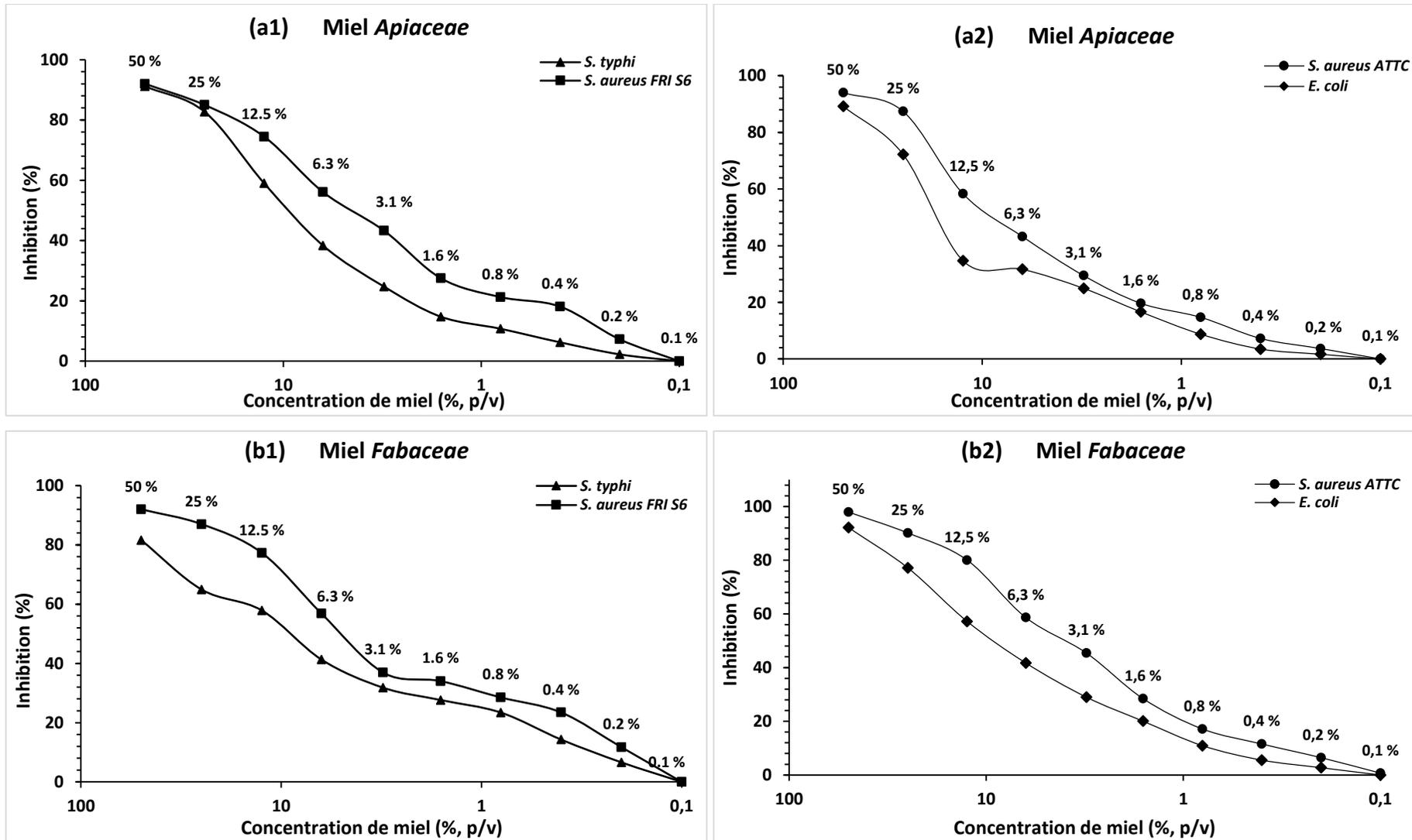


Figure 44 : Courbe dose-réponse des miels *Apiaceae* et *Fabaceae* contre les 4 souches bactériennes.

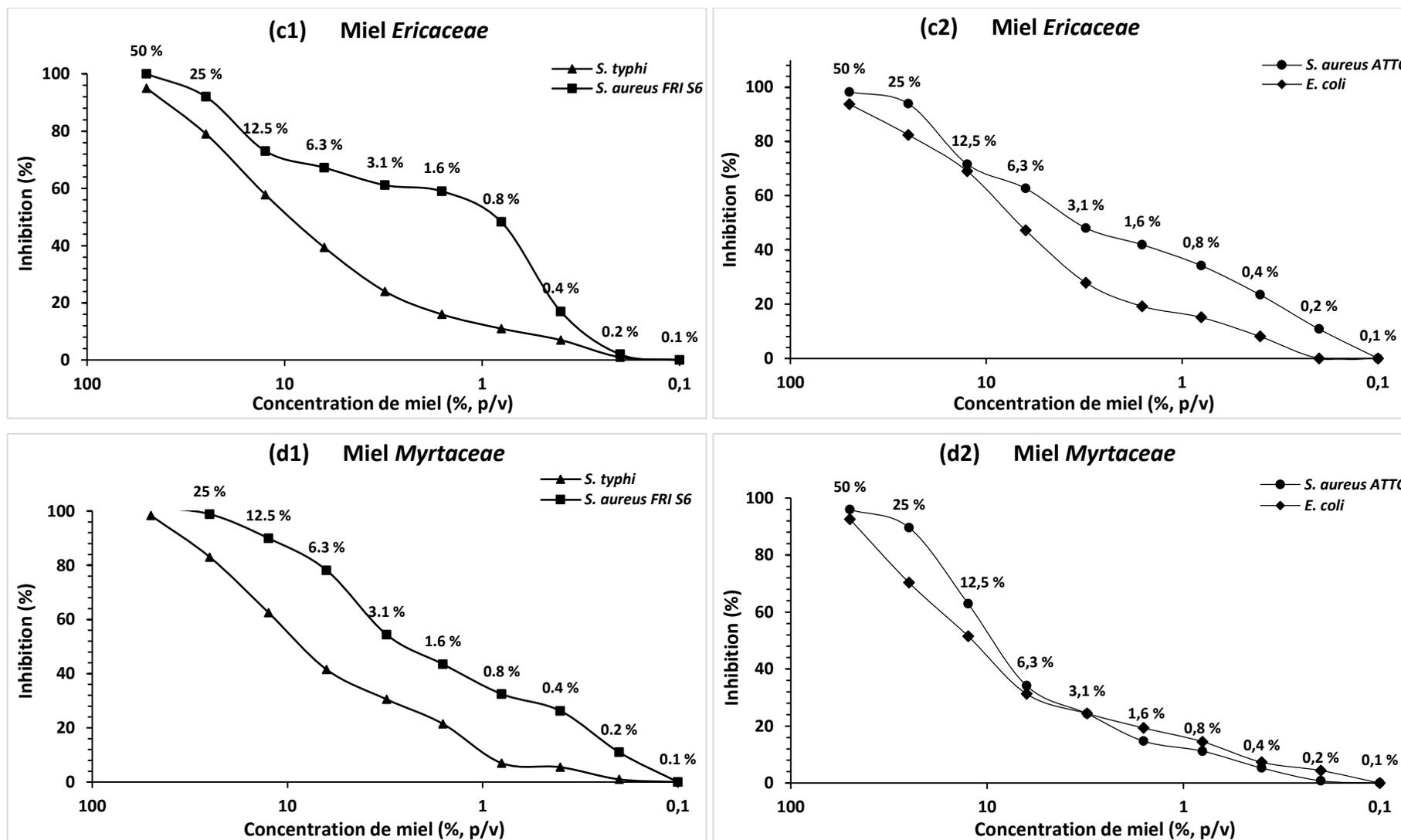


Figure 45 : Courbe dose-réponse des miels *Ericaceae* et *Myrtaceae* contre les 4 souches bactériennes.

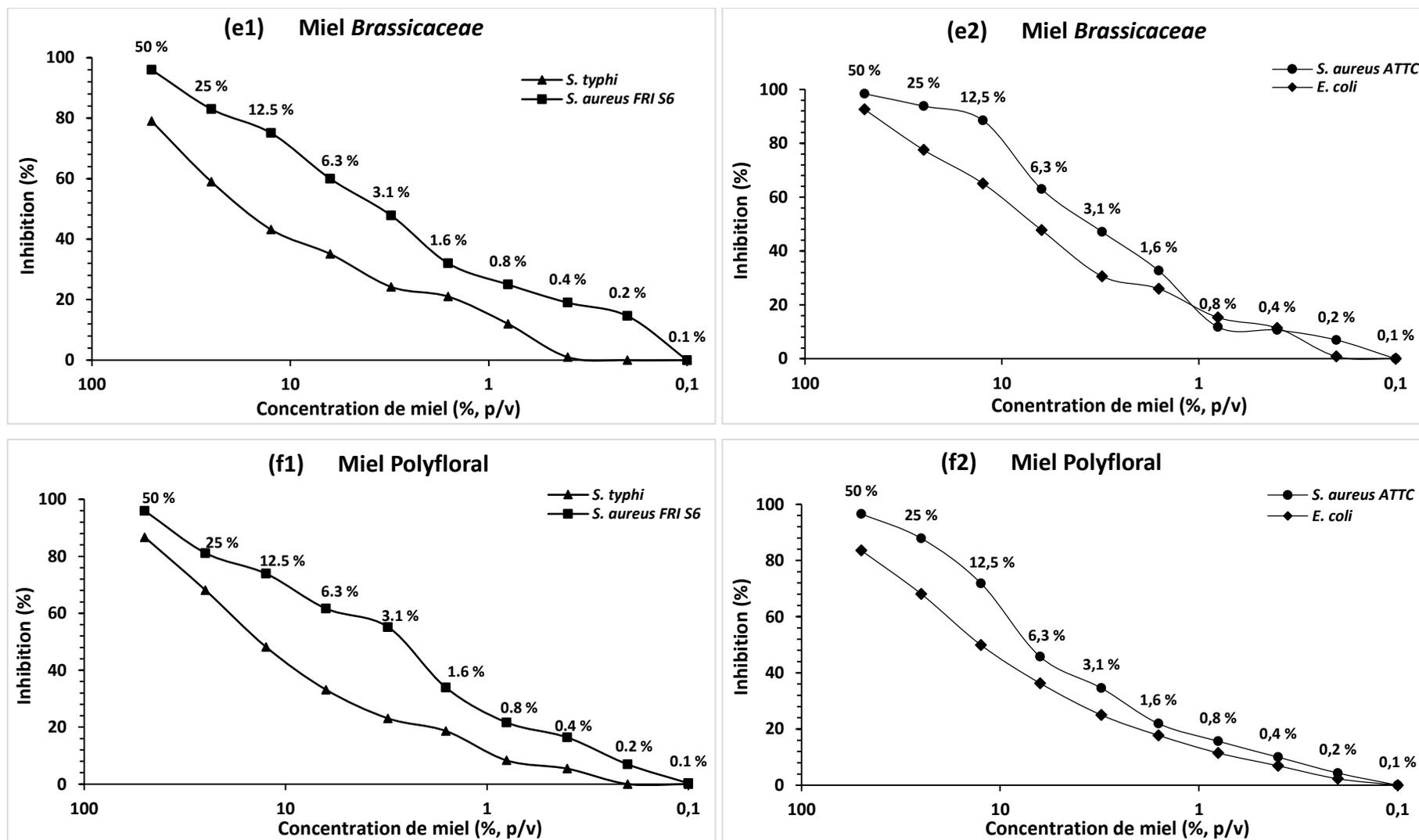


Figure 46 : Courbe dose-réponse des miels *Brassicaceae* et polyfloraux contre les 4 souches bactériennes.

Les résultats des courbes dose-réponse montrent d'une manière générale que l'activité antibactérienne du miel dépend de la concentration de celui-ci dans le milieu de culture. Les miels dilués ont de même montré un effet antibactérien, ce qui laisse à penser qu'il existe d'autres substances antibactériennes notamment des inhibines (peroxyde d'hydrogène, composés phénoliques, défensine-1 et MGO). La dilution du miel peut engendrer la diminution de l'effet inhibiteur de quelques agents antibactériens (faible activité de l'eau et osmolarité élevée). La différence de réponse de différentes souches bactériennes est due à la différence de compositions chimiques des miels et aux caractéristiques biologiques de souches étudiées (**Albaridi, 2019 ; Molan, 1999**).

La glucose-oxydase qui produit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) n'est pas active dans le miel pur, par contre, elle le devient dans le miel dilué. Elle atteint le niveau maximal de production de peroxyde d'hydrogène à partir d'une dilution de 30 à 50 %. Il semblerait que l'action des miels naturels sur les bactéries dépend de la structure de la paroi bactérienne et de la composition chimique de ce produit de la ruche. Par conséquent, le miel peut inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries sans que ces derniers ne puissent développer de résistance. Le mode d'action du miel comme agent antibactérien n'est pas bien élucidé. Cependant, il est actuellement reconnu que le caractère inhibiteur du miel est lié à ses propriétés physico-chimiques et à ses teneurs en composés bioactifs (**Belhaj *et al.*, 2016**).

VII.3. Activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines peut se produire dans les réactions inflammatoires comme dans la polyarthrite rhumatoïde et l'inhibition de cette dénaturation fait partie des modes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Kassim *et al.*, 2010).

Tous les échantillons montrent une capacité d'inhibition de la dénaturation de la BSA et les résultats obtenus sont représentés dans la figure 47. Le miel *Myrtaceae* de Jijel (H5) (5 mg ml⁻¹) et le miel polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) (4 mg ml⁻¹) ont les valeurs d'IC₅₀ les plus basses avec le meilleur effet inhibiteur sur la dénaturation des protéines. Cependant, les échantillons *Fabaceae* de Naâma (H25) (49 mg ml⁻¹) et polyfloral de Bejaia (H9) (34 mg ml⁻¹) sont les moins actifs avec l'IC₅₀ la plus élevée. La capacité anti-inflammatoire du miel est due à sa teneur en composés phénoliques (Saso *et al.*, 2001) ce qui explique la meilleure activité inhibitrice de la BSA pour les miels H5 et H11 possèdent le taux le plus élevé en phénols.

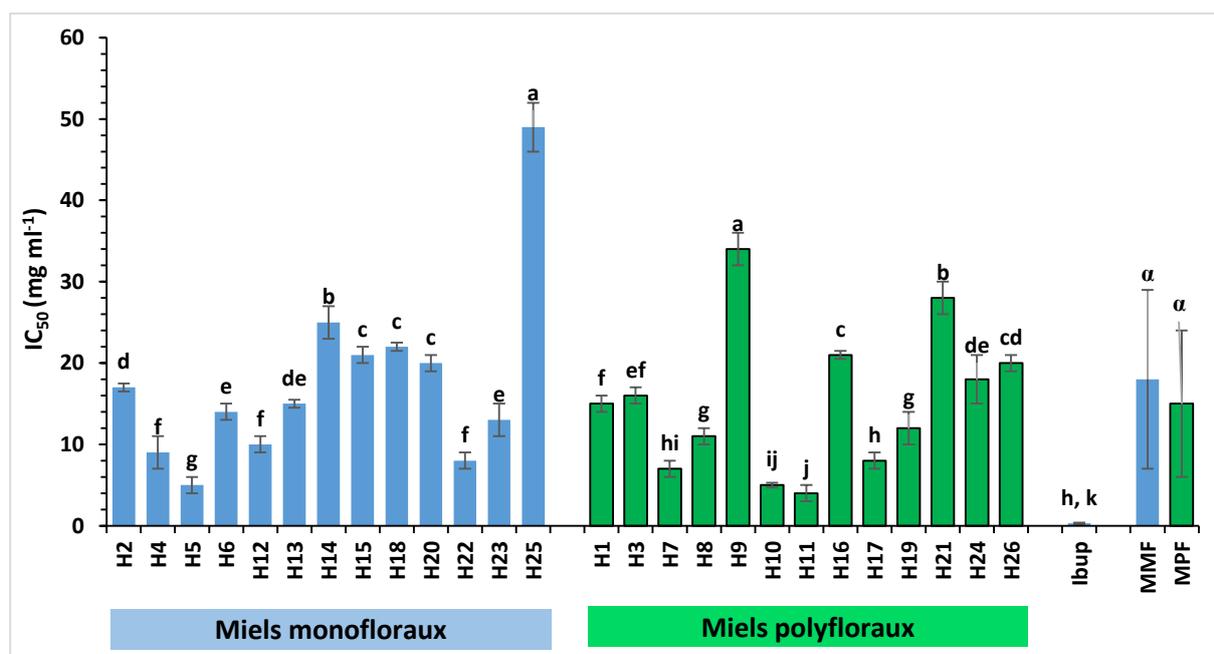


Figure 47 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la BSA.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. Ibup : ibuprofène. GMF : Groupe des Miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les résultats de cette étude indiquent des valeurs d'IC₅₀ supérieures à celles rapportées par Zaidi *et al.* (2019) dans 31 échantillons de miels Algériens avec des IC₅₀ allant de 0 à 7 mg ml⁻¹.

Les miels *Ericaceae* (H4) et *Myrtaceae* (H5) de Jijel, *Apiaceae* de Tizi-Ouzou (H12), *Fabaceae* de Chléf (H22) et polyfloraux de Sétif (H7), Bejaia (H10), Bordj Bouarreridj (H11) et Boumerdes (H17) montrent un meilleur effet inhibiteur de la dénaturation de la BSA avec des IC_{50} qui ne dépassent pas les 10 mg ml⁻¹. Ces résultats sont les plus proches de ceux de standard l'ibuprofène (0,3 mg ml⁻¹). Les miels *Fabaceae* de Skikda (H2), Tizi-Ouzou (H14) et Naama (H25) et l'échantillon polyfloral de Bejaia (H9) révèlent des grandes valeurs d' IC_{50} qui dépassent les 22 mg ml⁻¹. En revanche, les autres miels enregistrent des IC_{50} comprise entre 10 et 20 mg ml⁻¹.

L'analyse statistique montre 3 groupes homogènes dans les miels monofloraux (H4, H12 et H22), (H6 et H23) et (H15, H18 et H20) et un groupe homogène (H8 et H19) dans les miels polyfloraux concernant cette activité.

Le miel exerce un effet anti-inflammatoire par plusieurs mécanismes. Tous les composés bioactifs du miel peuvent agir en synergie pour contribuer à ses propriétés anti-inflammatoires globales. Le miel diminue la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que le NO, la prostaglandine E2 (PGE2), le TNF- α et l'IL-6. Il est impliqué également dans la suppression de la prolifération des cellules inflammatoires pour prévenir une réponse inflammatoire. Le miel peut aussi inhibé la dégradation de I κ B α avec une diminution ultérieure des médiateurs inflammatoires COX-2 et TNF- α (**Kamaruzzaman *et al.*, 2019**).

Les composés phénoliques du miel sont en grande partie responsables de son activité antiinflammatoire. L'acide ellagique, par exemple, diminue l'expression de médiateurs inflammatoires (TNF et NO), tandis que l'acide syringique module la prolifération des cellules inflammatoires (éosinophiles, neutrophiles, macrophage et lymphocyte) et la production de marqueurs inflammatoires (IL-4, IL-5, IL-13 et TNF- α) (**Kamaruzzaman *et al.*, 2019**; **Kassim *et al.*, 2010**).

Liu *et al.* (2013) ont rapporté que la différence dans la capacité des échantillons du miel à inhiber la dénaturation de la BSA peut s'expliquer par les différences de sources florales et les teneurs en composés bioactifs.

VII.4. Inhibitions enzymatiques

VII.4.1. Activité anti-acétylcholinestérase

L'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) favorise l'augmentation des niveaux de neurotransmetteurs cholinergiques dans le cerveau et diminue ainsi les dommages neurodégénératifs de la maladie d'Alzheimer (Anand *et al.*, 2012).

Les résultats de l'activité anti-AChE sont représentés dans la figure 48. Les extraits phénoliques des miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) ont le meilleur effet inhibiteur de l'AChE, avec des faibles IC₅₀ (343 et 382 µg ml⁻¹, respectivement). Cependant, les extraits phénoliques des échantillons *Fabaceae* de Naâma (H25) et polyfloral d'Aïn Defla (H21) sont moins actifs sur l'inhibition de l'AChE avec des valeurs d'IC₅₀ plus élevées (823 et 835 µg ml⁻¹, respectivement).

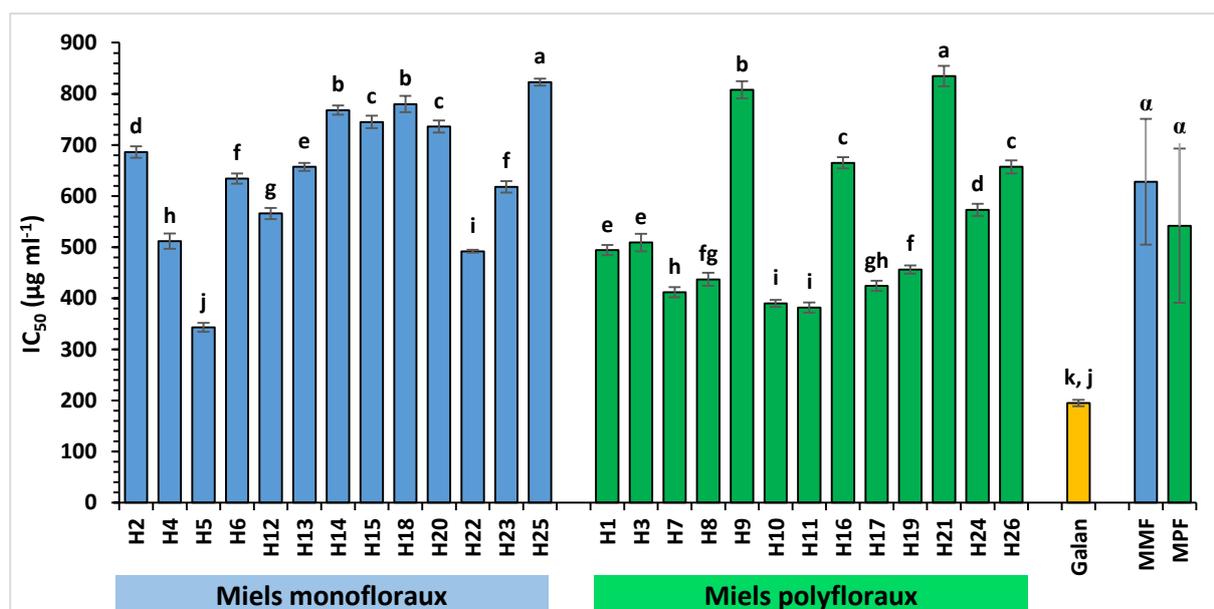


Figure 48 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber l'acétylcholinestérase.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne ± l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. Galan : Galanthamine. GMF. Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les IC₅₀ de l'activité anti- AChE obtenus dans la présente étude sont plus élevés que rapportés par Zaidi *et al.* (2019) avec des extraits phénoliques de miels Algériens (367 à 629 µg ml⁻¹).

Les miels de Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarreridj (H11) montrent des valeurs 2 fois plus élevées à celles obtenues avec l'inhibiteur de référence la galanthamine (195 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Les échantillons d'Aïn Defla (H21) et de Tlemcen (H26) sont 4 fois moins actifs que le standard.

Des études antérieures ont rapporté que l'inhibition de l'AChE est due essentiellement aux composés phénoliques de miels tels que les acides hydroxy-benzoïques et cinnamiques et la chrysin. La lutéoline, la myrcétine et le kaempférol sont également de puissants inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et il existe une interaction entre l'anneau hétérocyclique central de ces flavonoïdes et le site actif de cette enzyme (Muhammad *et al.*, 2015 ; Sz wajgier, 2014).

En effet, au moins un de ces composés est identifié par HPLC dans tous les miels analysés. Les miels qui marquent le meilleur effet inhibiteur de l'AChE montrent des teneurs élevées en composés phénoliques. Par exemple, le miel polyfloral de Sétif (H7) enregistre le taux le plus élevé en acide hydroxy-benzoïques (496 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), acide hydroxy-cinnamiques (667 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et chrysin (400 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), ensuite vient le miel *Ericaceae* de Jijel (H4) avec des teneurs de 257 et 538 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ en acides hydroxy-benzoïques et hydroxy-cinnamiques, respectivement. Le miel *Fabaceae* de Chlef (H22) montre la troisième meilleure teneur en chrysin.

Les miels *Brassicaceae* de Djelfa (H18) et polyfloral de Tizi-Ouzou (H16), Mostaganem (H24) et Tlemcen (H26) révèlent une faible capacité inhibitrice de l'AChE. L'analyse HPLC n'a pas détecté des acides hydroxy-benzoïques et de la chrysin dans les miels de Djelfa (H18) et Mostaganem (H24). Ces échantillons enregistrent un faibles taux en acides hydroxy-cinnamiques. Le miel de Tizi-Ouzou (H16) possède une faible concentration en acides hydroxy-benzoïques (5,5 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et hydroxy-cinnamiques (11,4 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) et le miel de Tlemcen montre l'absence des acides hydroxy-benzoïques.

L'ANOVA révèle 3 groupes homogènes (H6 et H23), (H14 et H18) et (H15 et H20) dans les miels monofloraux et 3 groupes homogènes (H1 et H3), (H10 et H11) et (H16 et H26) dans les miels polyfloraux qui ne sont pas significativement différents pour cette propriété biologique. Les autres miels sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

La méthylation au niveau de 4'-OH et les groupements glycosidiques de certains flavonoïdes augmentent leur capacité inhibitrice de l'AChE. Par exemple, la quercétine glycosylée inhibe mieux l'AChE que sa forme aglycone et la meilleure activité anti-AChE de la rutine revient à son groupement diglycoside en C-3.

Plusieurs études ont rapporté que la quercétine, l'isoquercétine et la rutine possèdent une meilleure inhibition de l'AChE que l'acide chlorogénique et cela peut être attribué au groupement quinique de ce dernier (Amessis-Ouchemoukh, 2014).

VII.4.2. Activité anti- α -glucosidase

Les résultats de l'activité anti- α -glucosidase sont donnés dans la figure 49. L'histogramme ci-dessous montre que les échantillons des miels *Myrtaceae* de Jijel (H5) et polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) montrent la meilleure capacité d'inhibition de l' α -glucosidase avec des valeurs d' IC_{50} de 69 et 64 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement. D'autre part, les miels *Fabaceae* de Naâma (H25) (324 $\mu\text{g ml}^{-1}$) et polyfloral d'Aïn Defla (H21) (343 $\mu\text{g ml}^{-1}$) montrent la plus faible capacité d'inhibition de cette enzyme.

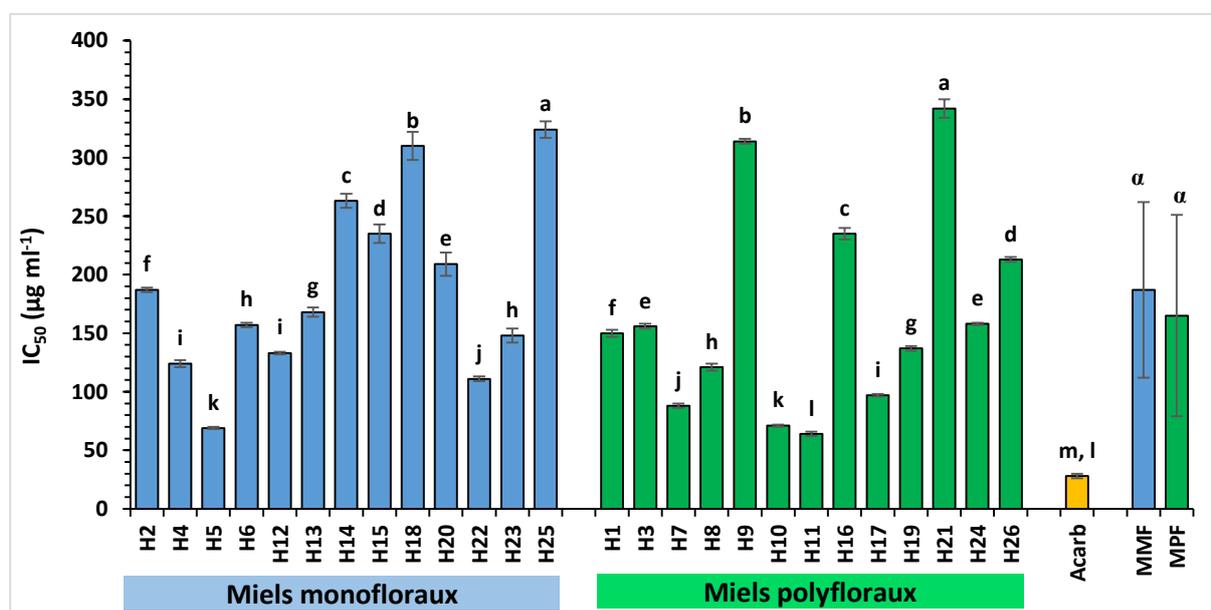


Figure 49 : Valeurs d' IC_{50} des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber l' α -glucosidase.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. Acarb : Acarbose. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les IC₅₀ moyennes de l' α -glucosidase pour les miels monofloraux et polyfloraux sont de 187 et 165 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Toutes les valeurs de la IC₅₀ obtenues dans cette étude sont supérieures à celles rapportées par **Zaidi et al. (2019)** dans les miels Algériens (52 à 153 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Les miels de Jijel (H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarreridj (H11) montrent des IC₅₀ deux fois supérieures à celui de l'inhibiteur de référence Acarbose (28 $\mu\text{g ml}^{-1}$).

Les miels *Ericaceae* (H4) et *Myrtaceae* (H5) de Jijel, *Apiaceae* de Tizi-Ouzou (H12), *Fabaceae* de Chlef (H22) et polyfloraux de Sétif (H7), Bejaia (H8 et H10), Bordj Bouarreridj (H11), Boumerdes (H17) et Médéa (H19) montrent la meilleure capacité à inhiber l' α -glucosidase avec des IC₅₀ inférieures à 150 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Les échantillons *Brassicaceae* de Djelfa (H18), *Fabaceae* de Naâma (H25) et polyfloraux de Bejaia (H9) et Ain Defla (H21) enregistrent des IC₅₀ qui dépassent les 300 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

L'analyse statistique de l'activité anti- α -glucosidase montre 2 groupes homogènes (H4 et H12) et (H6 et H23) dans les miels monofloraux et un groupe homogène (H3 et H24) dans les miels polyfloraux qui ne présentent pas de différences significatives. Cependant, les autres miels sont statistiquement différents.

L'inhibition de l' α -glucosidase par le miel est principalement attribuée aux polyphénols en général et aux flavonoïdes glycosylés en particulier qui inhibent l'interaction de la fraction glucidique et le site actif de l' α -glucosidase. Ils se lient d'une manière réversible à la région de la liaison des glucides à l' α -glucosidase et entrent ainsi en compétition avec la liaison des oligosaccharides et ils retardent leur clivage en monosaccharides. L'inhibition de l' α -glucosidase peut donc retarder l'absorption intestinale du glucose et atténuer l'hyperglycémie postprandiale. La réduction des niveaux de glucose postprandiaux peut atténuer la toxicité du glucose et augmenter la sensibilité à l'insuline (**Fontana-Pereira et al., 2011 ; Indrianingsih et al., 2015 ; Yen et al., 2021**).

VII.4.3. Activité anti-lipase

La figure 50 montre que la meilleure capacité d'inhibition de la lipase pancréatique est enregistrée par le miel *Myrtaceae* (H5) de Jijel ($440 \mu\text{g ml}^{-1}$) et les miels polyfloraux de Bejaia (H10) ($550 \mu\text{g ml}^{-1}$) et de Bordj Bouarreridj (H11) ($540 \mu\text{g ml}^{-1}$) avec des valeurs d'IC₅₀ proche à celle obtenue avec l'inhibiteur de référence l'Orlistat ($300 \mu\text{g ml}^{-1}$). Par contre, le miel *Fabaceae* (H25) ($2060 \mu\text{g ml}^{-1}$) et le miel polyfloral d'Aïn Defla (H21) ($1560 \mu\text{g ml}^{-1}$) montrent une faible inhibition de la lipase pancréatique.

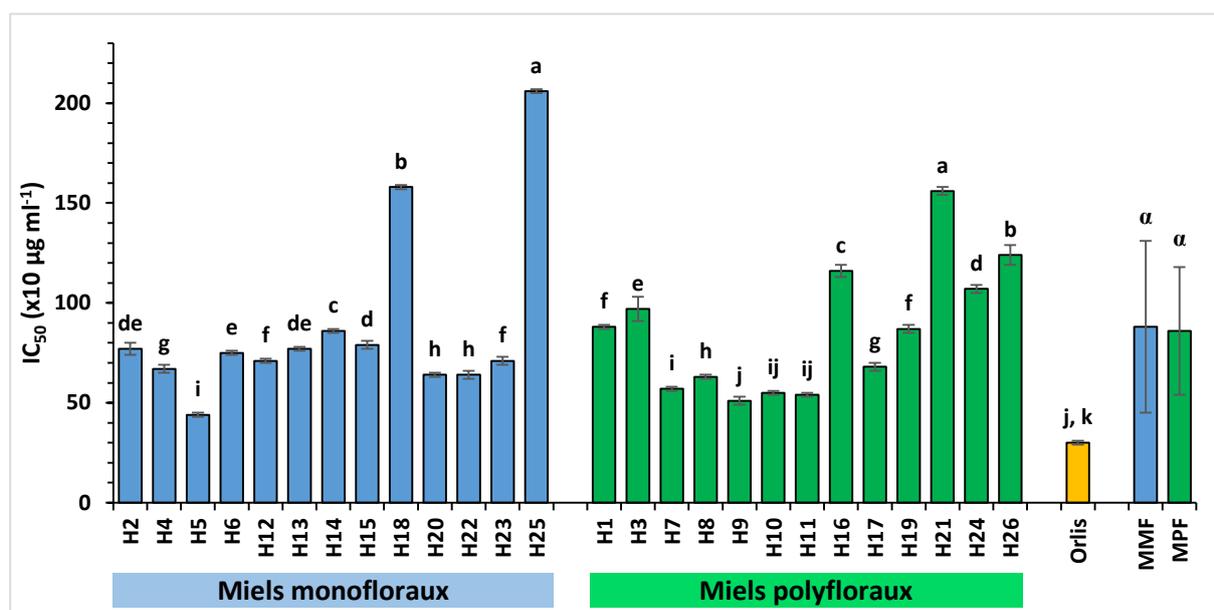


Figure 50 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la lipase pancréatique.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. GMF : Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux. Orlistat : Orlistat.

Habib et al. (2021) ont rapporté des pourcentages d'inhibition de la lipase pancréatique, qui varient de 18 à 52 % avec 11 miels monofloraux et 5 miels polyfloraux.

Les miels de la région subsaharienne qui proviennent de Djelfa (H18), Aïn Defla (H21) et Naama (H25) et l'échantillon de Tlemcen (H26) montrent une faible activité inhibitrice de la lipase. Cela est dû probablement à leur faible teneur en composés phénoliques. Cependant, les échantillons les plus riches en polyphénol et qui sont récoltés à Jijel (H5), Bejaia (H9 et H10) et Bordj Bouarreridj (H11) révèlent le meilleur pouvoir inhibiteur de la lipase. Les autres miels enregistrent des valeurs d'IC₅₀ qui oscillent entre 600 et $1200 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Trois groupes homogènes (H2 et H13), (H12 et H23) et (H20 et H22) de miels monofloraux et 2 groupes homogènes (H1 et H19) et (H10 et H11) de miels polyfloraux sont révélés par l'analyse de la variance de l'inhibition de la lipase pancréatique.

La lipase pancréatique est une enzyme clé pour l'hydrolyse des triglycérides dans le tractus gastro-intestinal. L'inhibition de son activité pourrait réduire l'absorption des lipides et améliorer efficacement le traitement de l'obésité. L'orlistat, un inhibiteur puissant de la lipase pancréatique, est utilisé comme médicament pour traiter l'obésité mais il peut provoquer certains effets secondaires tels que des taches grasses, des flatulences et des selles grasses (**Buchholz et Melzig, 2015 ; Huang *et al.*, 2020**).

Selon des études antérieures, de nombreux extraits riches en polyphénols ont montré *in vitro* l'efficacité à inhiber la lipase pancréatique. En outre, les substances phénoliques provenant d'extraits de plantes telles que les flavonols, ont également réduit l'obésité *in vivo* en même temps que l'inhibition de la lipase. Ces résultats suggèrent que les phénols peuvent être une alternative prometteuse pour diminuer l'absorption et l'accumulation des graisses alimentaires et par conséquent le traitement de l'obésité (**Yang *et al.*, 2014**).

VII.4.4. Activité anti-tyrosinase

La tyrosinase est une enzyme impliquée dans le processus de mélanogénèse et son inhibition par des composés phénoliques est l'une des stratégies thérapeutiques ciblées dans le traitement de l'hyperpigmentation (**Bouyahya *et al.*, 2020**).

Les résultats de l'activité anti-tyrosinase représentés dans la figure 51 montrent que tous les miels analysés inhibent la tyrosinase mais les IC₅₀ obtenus varient considérablement selon les échantillons. Le miel *Myrtaceae* de Jijel (H5) (231 µg ml⁻¹) et les miels polyfloraux de Sétif (H7) (219 µg ml⁻¹), de Bejaia (H10) (217 µg ml⁻¹) et de Bordj Bouarreridj (H11) (213 µg ml⁻¹) présentent les valeurs d'IC₅₀ les plus faibles donc la meilleure activité inhibitrice de la tyrosinase. Cependant, le miel *Fabaceae* Naâma (H25) (578 µg ml⁻¹) et le miel polyfloral d'Aïn Defla (H21) (575 µg ml⁻¹) ont les plus grandes valeurs d'IC₅₀, donc une faible activité inhibitrice de cette enzyme.

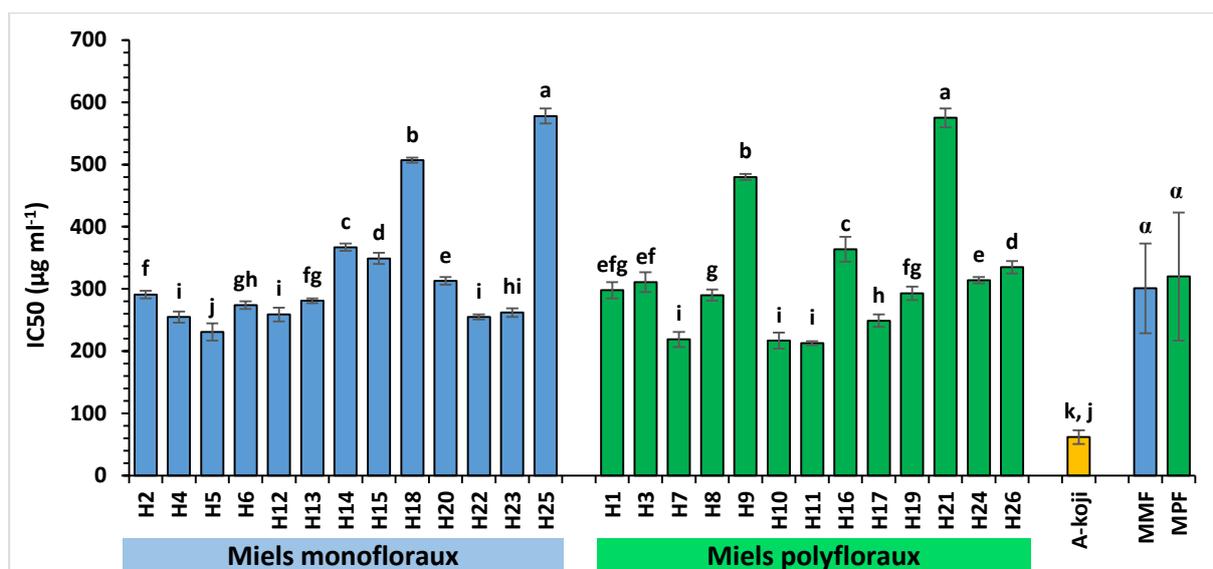


Figure 51 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits phénoliques des miels analysés pour inhiber la tyrosinase.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes. A-koji : Acide α -kojique. GMF. Groupe des miels MonoFloraux. GPF : Groupe des miels PolyFloraux.

Les IC₅₀ moyennes des miels monofloraux et polyfloraux sont respectivement de 301 et 320 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Les valeurs IC₅₀ des miels étudiés sont plus élevées que celles obtenues avec l'inhibiteur de référence l'acide α -kojique (62 $\mu\text{g ml}^{-1}$) à l'exception des échantillons récoltés à Jijel (H4 et H5), Bejaia (H10) et Bordj Bouarrerdj qui ont monté des valeurs plus proches. **Habib et al. (2021)** ont rapporté l'activité inhibitrice de la tyrosinase de 16 miels avec des valeurs exprimées en pourcentage d'inhibition et qui sont comprises entre 51 et 90 %.

L'analyse statistique des IC₅₀ de l'activité anti-tyrosinase des miels analysés montre un groupe homogène (H4, H12 et H22) dans les miels monofloraux et un groupe homogène (H7, H10 et H11) dans les miels polyfloraux qui ne présentent pas de différence significative.

Certains composés phénoliques tels que l'acide ellagique, l'acide tannique et la quercétine agissent comme de puissants inhibiteurs de la tyrosinase. Ces phénols présents dans le miel sont des ortho-dihydroxyphénols et ils partagent la caractéristique structurale avec la L-DOPA. Les effets inhibiteurs des composés phénoliques sont dûs à la liaison avec le cuivre qui est le métal au centre du site actif de la tyrosinase. Les inhibiteurs de cette enzyme sont importants dans les applications cosmétiques pour le blanchiment de la peau et également dans le traitement de l'hyperpigmentation épidermique qui est à l'origine de divers troubles dermatologiques, tels que le mélasma et les taches de rousseur et de vieillesse (**Maisuthisakul et Gordon, 2009**).

VIII. Test-*t* de comparaison et corrélations

VIII.1. Test-*t* de comparaison

Le test-*t* de comparaison des moyennes de deux échantillons indépendants ($p < 0,05$) ne montre pas de différences significatives pour les paramètres physicochimiques entre les deux groupes de miels (monofloraux et polyfloraux), sauf pour l'acidité totale avec la plus grande valeur pour les miels polyfloraux (34 meq kg^{-1}) et la teneur en HMF qui est plus élevée dans les miels monofloraux (32 mg kg^{-1}). Le test ne révèle pas de différence significative pour la teneur en composés bioactifs et l'activité antioxydante, à l'exception des tests DPPH et FRAP avec des moyennes plus élevées obtenues par les miels polyfloraux.

La comparaison des deux groupes de miels pour l'activité antibactérienne ne montre aucun effet statistique, sauf pour la souche bactérienne *E. coli* avec un grand diamètre de zone d'inhibition (6,59 mm) et une petite CMI (80,64 %) des miels monofloraux. Les activités d'inhibition de la dénaturation de la BSA et d'inhibition enzymatique ne sont pas significativement différentes entre les miels monofloraux et polyfloraux. Les résultats obtenus permettent de conclure d'une manière générale que l'origine monoflorale ou polyflorale n'influence pas les paramètres physicochimiques, les teneurs en composés bioactifs et les activités biologiques des miels analysés.

VIII.2. Corrélations

VIII.2.1. Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne

Le test statistique (Tableau XII) révèle une corrélation négative entre le brix et l'humidité, le pH et l'acidité libre et la conductivité électrique et la teneur en cendres. La matrice de corrélation montre un lien entre la couleur et l'HMF ; la conductivité électrique et la teneur en cendres. Une corrélation significative est également observée entre l'HMF et le brix. Le pH et la conductivité électrique montrent une corrélation négative avec l'HMF. Une corrélation est notée entre les protéines et l'acidité libre d'une part et les protéines et le pH d'autre part. La conductivité électrique est corrélée à la teneur en cendres ($r = 0,88$) et le diagramme de dispersion (annexe 13) révèle une relation linéaire entre ces deux paramètres avec une équation de ligne de régression ($CE = 1,54 \text{ cendres} + 0,17$). La matrice de corrélation montre une corrélation significative entre le brix, les diamètres des zones d'inhibition et les CMI des souches bactériennes. Un lien inversement proportionnel est observé entre la teneur en eau et l'activité antibactérienne. Des corrélations hautement significatives sont également observées entre les valeurs de pH, l'acidité, la teneur en protéines et l'activité antibactérienne.

Tableau XII : Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne.

Variable	Brix	Hum	CE	TC	pH	AL	ALI	AT	HMF	Prot	Prol	DZI ST	DZI ST FRI	DZI EC	DZI SA	CMI ST	CMI SA FRI	CMI EC	CMI SA	
Brix	1,00																			
Hum	-1,00***	1,00																		
CE	-0,23*	0,21	1,00																	
TC	-0,18	0,16	0,88***	1,00																
PH	-0,49*	0,49*	0,51*	0,34*	1,00															
AL	0,52*	-0,52*	0,64**	0,54*	-0,25	1,00														
L	0,45*	-0,45*	-0,51*	-0,32*	-0,21	0,51*	1,00													
AT	0,47*	-0,47*	0,43*	0,33*	-0,24	0,85***	0,54*	1,00												
HMF	0,45*	-0,45*	-0,32*	-0,18	-0,63**	-0,05	0,13	0,02	1,00											
Prot	0,30*	-0,31*	0,27*	0,25*	0,26*	0,29*	0,18	0,25*	-0,17	1,00										
Prol	0,31*	-0,31*	0,33*	0,41*	-0,04	0,45*	0,32*	0,39*	0,07	0,48*	1,00									
TS ST	0,69**	-0,68**	0,45*	0,15	-0,49*	0,40*	0,37*	0,40*	-0,18	0,31*	0,07	1,00								
TSSA FRI	0,51*	-0,52*	0,68**	0,50*	-0,51*	0,60**	0,45*	0,54*	-0,07	0,38*	0,21	0,73***	1,00							
TSEC	0,53*	-0,52*	0,38*	-0,35*	-0,55*	0,36*	0,40*	0,34*	0,39*	0,31*	0,22*	0,42*	0,43*	1,00						
TSSA	0,33*	-0,34*	-0,14	-0,00	-0,29*	0,48*	0,32*	0,42*	0,26*	0,30*	0,13	0,41*	0,37*	0,31*	1,00					
CMI ST	-0,50*	0,48*	-0,52*	-0,34*	0,38*	-0,55*	-0,40*	-0,68**	0,15	-0,39*	-0,27*	-0,65**	-0,73***	-0,38*	-0,30*	1,00				
CMI SA FRI	-0,36*	0,35*	-0,74***	-0,61*	0,48*	-0,52*	-0,34*	-0,51*	0,32*	-0,38*	-0,29*	-0,58*	-0,83***	-0,34*	-0,38*	0,78***	1,00			
CMI EC	-0,39*	0,37*	-0,37*	-0,29*	0,37*	-0,38*	-0,39*	-0,33*	0,08	-0,35*	-0,24*	-0,47*	-0,40*	-0,45*	-0,40*	0,58*	0,51*	1,00		
CMI SA	-0,41*	0,40*	0,13	-0,04	0,34*	-0,40*	-0,37*	-0,36*	0,03	-0,31*	-0,01	-0,49*	-0,53*	-0,43*	-0,71***	0,34*	0,41*	0,47*	1,00	

Hum : Humidité. **CE** : Conductivité Electrique. **TC** : Teneurs en cendre. **AL** : Acidité libre. **ALI** : Acidité Liée. **AT** : Acidité Totale. **HMF** : Hydroxy Méthyl Furfural. **Prot** : Protéines. **Pro** : Proline. **DZI** : Diamètre de Zone d'Inhibition. **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice. **ST** : *Salmonella typhi*. **ST FRI** : *Staphylococcus aureus* **FRI EC** : *Escherichia coli*. **SA** : *Staphylococcus aureus*.

VIII.2.2. Corrélations couleurs, composés bioactifs et activités biologiques

L'analyse statistique des résultats (Tableau XIII) indique des corrélations hautement significatives entre les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et les flavonol. Des résultats proches sont rapportés par **Džugan *et al.* (2020)** entre les composés phénoliques totaux et flavonoïdes ($r=0,83$). **Imtara *et al.* (2018)** ont rapporté des corrélations hautement significatives entre les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes et entre les flavonoïdes et les flavonols avec des coefficients de corrélation de 0,95 et de 0,92, respectivement. Les teneurs en composés bioactifs montrent des corrélations hautement significatives avec la couleur. Des résultats similaires sur la relation entre les composés phénoliques totaux et la couleur sont rapportés par **Bertoncelj *et al.* (2007)** pour les miels Italiens avec $r=0,84$ et **Moniruzzaman *et al.* (2013)** pour les miels Malaisiens avec $r=0,93$.

La matrice de corrélations (Tableau XIV) révèle des corrélations hautement significatives entre les composés phénoliques des différents échantillons de miel et l'activité antioxydante. Les coefficients de corrélations les plus élevés sont mesurés avec les tests de DPPH, l'ABTS, le pouvoir réducteur et le blanchiment du β -carotène. Ces coefficients sont similaires à ceux obtenus par **Ferreira *et al.* (2009)** pour le pouvoir réducteur ($r=0,84$) et **Aljadi et Kamaruddin (2004)** pour l'activité anti-radicalaire ($r=0,86$). **Ibrahimi et Hajdari (2020)** ont obtenu des corrélations très significatives entre les flavonoïdes totaux et le DPPH ($r=0,81$) et **Nascimento *et al.* (2018)** ont rapporté une corrélation entre les flavonoïdes et le FRAP ($r=0,84$). Les résultats montrent également une bonne corrélation entre les teneurs en caroténoïdes et en vitamine C et le pouvoir antioxydant des miels analysés.

Les résultats révèlent des corrélations significatives entre l'activité antibactérienne, les composés bioactifs et l'activité antioxydante. Une relation significative est observée également entre les composés phénoliques totaux et l'inhibition de la dénaturation de la BSA. La matrice de corrélation montre un lien hautement significatif entre les teneurs en composés phénoliques des miels et les inhibitions enzymatiques et les coefficients de corrélation les plus élevés sont obtenus avec l'AChE, l' α -glucosidase et la tyrosinase. Ces coefficients sont similaires à ceux obtenus par **Zaidi *et al.* (2019)** pour les composés phénoliques totaux et l'AChE ($r=-0,89$), les composés phénoliques totaux et l' α -glucosidase ($r=-0,83$), les flavonoïdes totaux et l'AChE ($-0,55$) et entre les flavonoïdes et l' α -glucosidase ($r=-0,68$). Les résultats révèlent également des corrélations significatives entre les activités biologiques (Tableaux XV et XVI). Les miels H4, H5, H10 et H11 illustrent bien les corrélations obtenues dans cette étude. Ces échantillons ont montré les teneurs les plus élevées en antioxydants et les meilleures activités biologiques.

Tableau XIII : Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes.

Variable	ABS ₄₅₀	Pfund	CPT	F	FL	CT	Vitam C	DPPH	ABTS	FRAP	PR	TF	NORS	AAR
ABS ₄₅₀	1,00													
Pfund	0,76***	1,00												
CPT	0,88***	0,62**	1,00											
FT	0,93***	0,73***	0,80***	1,00										
FLT	0,91***	0,75***	0,74***	0,87***	1,00									
CT	0,80***	0,66**	0,85***	0,77***	0,71***	1,00								
Vitam C	0,84***	0,64**	0,90***	0,75***	0,69**	0,73***	1,00							
DPPH	0,72***	0,75***	0,76***	0,58*	0,97***	0,70***	0,78***	1,00						
ABTS	0,83***	0,53*	0,89***	0,80***	0,58*	0,81***	0,92***	0,81***	1,00					
FRAP	0,64**	0,55*	0,58*	0,56*	0,57*	0,57*	0,55*	0,60**	0,81***	1,00				
PR	0,83***	0,51*	0,89***	0,74**	0,47*	0,85***	0,86***	0,77***	0,89***	0,85***	1,00			
ACF	0,35*	0,68**	0,48*	0,30*	0,70***	0,45*	0,44*	0,50*	0,52*	0,61**	0,52*	1,00		
NORS	-0,58*	-0,38*	-0,55*	-0,59*	0,59*	-0,45*	-0,46*	-0,46*	-0,36*	-0,34*	-0,48*	-0,36*	1,00	
BBC	0,70***	0,65***	0,81***	0,65**	0,48*	0,69**	0,72***	0,59*	0,71***	0,52*	0,66**	0,26*	-0,60**	1,00

CPT : Composés Phénoliques totaux. **F :** Flavonoïdes. **FL :** Flavonols. **CT :** Caroténoïdes Totaux. **Vitam C :** Vitamine C. **DPPH :** 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl. **ABTS :** Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique. **FRAP :** Ferric Reducing Antioxydant Power. **PR :** Pouvoir Réducteur. **FT :** Test à la Ferrozine. **NORS :** Nitric Oxide Radical Scavenging. **AAR :** Activité Antioxydante Relative.

Tableau XIV : Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne.

Variable	ABS ₄₅₀	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	DZI ST	TSSA FRI	TS EC	DZI SA	CMI ST	CMI SA FRI	CMI ECOLI	CMI SA
ABS ₄₅₀	1,00														
Pfund	0,76***	1,00													
CPT	0,88***	0,62**	1,00												
FT	0,93***	0,73***	0,80***	1,00											
FLT	0,91***	0,75***	0,74***	0,87***	1,00										
CT	0,80***	0,66**	0,85***	0,77***	0,71***	1,00									
Vitam C	0,84***	0,64**	0,90***	0,75***	0,69**	0,73***	1,00								
TS ST	0,60**	0,40*	0,73***	0,57*	0,57*	0,51*	0,61**	1,00							
TS SA F	0,70***	0,51*	0,79***	0,61**	0,63**	0,66**	0,70***	0,73***	1,00						
TS EC	0,82***	0,61**	0,65**	0,52*	0,50*	0,52*	-0,38*	0,42*	0,43*	1,00					
TS SA	0,68**	0,53*	0,42*	0,64**	0,56*	0,58*	-0,50*	0,41*	0,37*	0,31*	1,00				
CMI ST	-0,57*	-0,43*	-0,62**	-0,54*	-0,54*	-0,53*	-0,52*	-0,65**	-0,73***	-0,38*	-0,30*	1,00			
CMI SA F	-0,70***	-0,57*	-0,83***	-0,68**	-0,64**	-0,77***	-0,73***	-0,58*	-0,83***	-0,34*	-0,38*	0,78***	1,00		
CMI EC	-0,43*	-0,50*	-0,42*	-0,46*	-0,30*	-0,35*	-0,32*	-0,47*	-0,40*	-0,45*	-0,40*	0,58*	0,51*	1,00	
CMI SA	-0,54*	-0,41*	-0,31*	0,39*	-0,47*	-0,42*	-0,46*	-0,49*	-0,53*	-0,43*	-0,71***	0,34*	0,41*	0,47*	1,00

Tableau XV : Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique.

Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	BSA	AChE	A-glu	LP	Tyrosinase
ABS450	1,00											
Pfund	0,76***	1,00										
CPT	0,88***	0,62**	1,00									
FT	0,93***	0,73***	0,80***	1,00								
FLT	0,91***	0,75***	0,74***	0,87***	1,00							
CT	0,80***	0,66**	0,85***	0,77***	0,71***	1,00						
Vitam C	0,84***	0,64**	0,90***	0,75***	0,69***	0,73***	1,00					
BSA	-0,63**	-0,61**	-0,58*	-0,47*	-0,37*	-0,41*	-0,18	1,00				
AChE	-0,60**	-0,74***	-0,43*	-0,63**	-0,58*	-0,44*	-0,46*	0,71***	1,00			
A-glu	-0,48*	-0,70***	-0,34*	-0,56*	-0,52*	-0,41*	-0,33*	0,90***	0,89***	1,00		
LP	-0,56*	-0,46*	-0,40*	-0,43*	-0,32*	-0,46*	-0,35*	0,73***	0,45*	0,71***	1,00	
Tyrosinase	-0,45*	-0,57*	-0,53*	-0,47*	-0,48*	-0,57*	-0,32*	0,58**	0,79***	0,83***	0,49*	1,00

BSA : Serum Albumin Bovin. AChE : Acétylcholinestérase. A-glu : α -glucosidase. LP : Lipase pancréatique.

Tableau XVI : Corrélations activités antioxydantes et antibactériennes et inhibition enzymatique.

Variable	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC	TS ST	TS SA FRI	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA FRI	CM I EC	CM I SA	BSA	AChE	A-glu	LP	Tyr
DPPH	1,00																			
ABTS	0,81***	1,00																		
FRAP	0,60**	0,81***	1,00																	
PR	0,77***	0,89***	0,85***	1,00																
ACF	0,50*	0,52*	0,61**	0,52*	1,00															
NORS	-0,46*	-0,36*	-0,34*	-0,48*	-0,36*	1,00														
BBC	0,59*	0,71***	0,52*	0,66**	0,26*	-0,60**	1,00													
TS ST	0,58*	0,53*	0,39*	0,33*	0,58*	-0,32*	0,35*	1,00												
TS SA FRI	0,64**	0,62**	0,55*	0,47*	0,72***	-0,54*	0,58*	0,73***	1,00											
TS EC	0,40*	0,36*	0,41*	0,35*	0,30*	-0,25*	0,39*	0,42*	0,43*	1,00										
TS SA	0,30*	0,25	0,49*	0,30*	0,39*	-0,17	0,47*	0,41*	0,37*	0,31*	1,00									
CMI ST	-0,57*	-0,43*	-0,50*	-0,37*	-0,47*	0,33*	-0,32*	-0,65**	-	-0,38*	-0,30*	1,00								
CMI SA FRI	-0,67**	-0,59*	-0,53*	-0,45*	-0,73***	0,55*	-0,38*	-0,58*	0,73***	-0,34*	-0,38*	0,78***	1,00							
CMI ECOLI	-0,52*	-0,43*	-0,37*	-0,25*	-0,27*	0,45*	-0,30*	-0,47*	-0,40*	-0,45*	-0,40*	0,58*	0,51*	1,00						
CMI SA	-0,36*	-0,18	-0,59*	-0,35*	-0,12	0,13	-0,28*	-0,49*	-0,53*	-0,43*	-0,71***	0,34*	0,41*	0,47*	1,00					
IDBSA	-0,36*	-0,52*	-0,33*	-0,38*	-0,41*	0,36*	-0,22	-0,34*	-0,46*	-0,31*	-0,44*	0,22	0,29*	0,30*	0,35*	1,00				
AChE	-0,58*	-0,45*	-0,65**	-0,47*	-0,54*	0,29*	-0,36*	-0,30*	-0,37*	-0,29*	-0,31*	0,39*	0,31*	0,32*	0,31*	0,71***	1,00			
A-glu	-0,51*	-0,30*	-0,53*	-0,30*	-0,51*	0,17	-0,41*	-0,42*	-0,35*	-0,25*	-0,29*	0,31*	0,30*	0,36*	0,38*	0,90***	0,89***	1,00		
LP	-0,34*	-0,45*	-0,25*	-0,19	-0,53*	0,49*	-0,43*	-0,42*	-0,37*	-0,33*	-0,36*	0,36*	0,46*	0,35*	0,34*	0,73***	0,45*	0,71***	1,00	
Tyrosinase	-0,49*	-0,33*	-0,58*	-0,40*	-0,44*	0,32*	-0,37*	-0,24	-0,33*	-0,36*	-0,32*	0,30*	0,18	0,46*	0,25*	0,58**	0,79***	0,83***	0,49*	1,00

IX. Analyses multi-variées

IX.1. ACP des paramètres physicochimiques, composés bioactifs et activités biologiques

L'analyse exploratoire ACP est réalisée pour déterminer les similitudes entre les différents miels et pour montrer les relations entre les variables étudiées dans un espace bidimensionnel. La représentation graphique des valeurs propres montre une ligne droite après la deuxième composante principale, ce qui conduit à la conclusion que seules les PC1 et PC2 qui représentent 53,61 % de la variation totale peut être utilisées pour une explication adéquate des données.

La figure 52 (a et b) montrent que PC1 explique 41,41 % des données et représente la couleur, la conductivité électrique, l'acidité libre, l'acidité totale, la teneur en cendres, les protéines, la proline, les teneurs en composés bioactifs, les activités antioxydantes (sauf le NORS) et les diamètres de zones d'inhibition de *S. aureus* et *S. typhi* dans la partie positive. Cependant, les CMI de *S. aureus* FRI S6, *E. coli* et *S. typhi*, l'AChE, l' α -glucosidase, la lipase, la tyrosinase et l'inhibition de la dénaturation du BSA sont présentés dans la partie négative. PC2 explique 12,1 % des données et représente le brix, l'HMF, l'acidité lactone et les diamètres de zones d'inhibition de *S. aureus* ATCC et d'*E. coli* dans la partie positive et le pH, l'humidité et la CMI de *S. aureus* ATCC dans la partie négative. Sur la base des variables étudiées, une discrimination de l'origine monoflorale et polyflorale des miels est réalisée.

La discrimination par PC1 montre trois groupes d'échantillons. Le premier groupe se trouve dans la partie droite de la figure 52 (a) et contient les miels H4, H5, H7, H10, H11 et H22 qui sont caractérisés par leur similarité en termes de paramètres étudiés. Ce groupe se distingue par la teneur élevée en composés bioactifs, les meilleures activités biologiques. Le deuxième groupe est au milieu et qui contient le plus grand nombre d'échantillons (H1, H2, H3, H6, H8, H9, H12, H13, H15, H16, H17, H20, H23 et H24) montre des valeurs moyennes en paramètres physicochimiques, en composés bioactifs et en activités biologiques. Cependant, le troisième groupe (H14, H18, H19, H21, H25 et H26) se trouve à l'opposé du graphique et il est moins riche en composés bioactifs et il est moins actif en termes d'activités biologiques. L'ACP n'a montré aucun effet significatif de l'origine monoflorale et polyflorale sur les paramètres physicochimiques, la teneur en composés bioactifs et les activités biologiques des miels. Chacun des trois groupes principaux est un mélange d'échantillons monofloraux et polyfloraux. La figure 52 (b) confirme les corrélations obtenues à l'aide de la matrice de corrélation.

IX.2. ACP des intensités des pics caractéristiques des miels purs et adultérés détectés par FTIR-ATR

Les trois premières composantes principales ont des valeurs propres >1 et représentent 79,8 % de la variation totale. Le tracé des valeurs propres indique qu'après la deuxième composante principale, les valeurs propres commencent à former une ligne droite, ce qui permet de conclure que seules les PC1 (67,28 %) et PC2 (19,89 %), qui représentent 87,17 % de la variation totale, peuvent être utilisés pour une explication adéquate des données.

PC1 représente les pics relatifs R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 et R11 dans la partie positive. Cependant, PC2 représente les pics relatifs R1 et R3 dans la partie positive et $R\alpha$ dans la partie négative. La discrimination par PC1 montre 2 groupes de miel (figure 53). Le premier groupe se trouve dans la partie droite de graphique et contient les miels purs. Ce groupe est caractérisé par les mêmes vibrations d'étirement et de déformation des différents groupements dans les 6 régions (I, II, III, IV, V et VI) de spectre FTIR-ATR.

Le deuxième groupe de miels qui se trouve dans la partie gauche de graphique et qui contient les échantillons falsifiés est scindé par PC2 en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe, localisé en haut, est caractérisé par des intensités d'absorbance plus élevées pour les vibrations d'étirement et de déformation de groupement O-H des molécules d'eau. Le deuxième sous-groupe, localisé en bas, est caractérisé par l'apparition de pic $R\alpha$ qui correspond aux vibrations d'étirement des groupes CO de l'unité glucosyle et de l'unité fructosyle de saccharose.

La combinaison de la discrimination par PC1 et PC2 permet de reconnaître les miels purs, les miels dilués avec de l'eau et les miels adultérés avec de saccharose après leur récolte. Les résultats de l'ACP permettent de conclure que l'Analyse par FTIR-ATR peut différencier les miels purs des miels falsifiés.

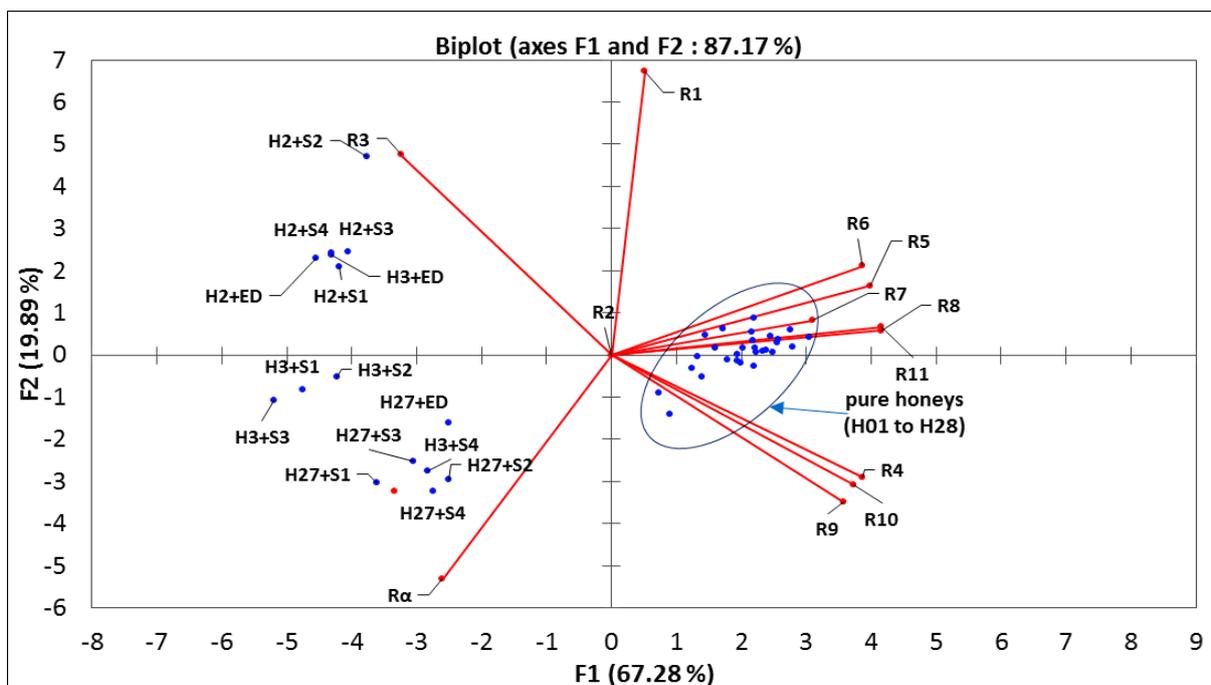
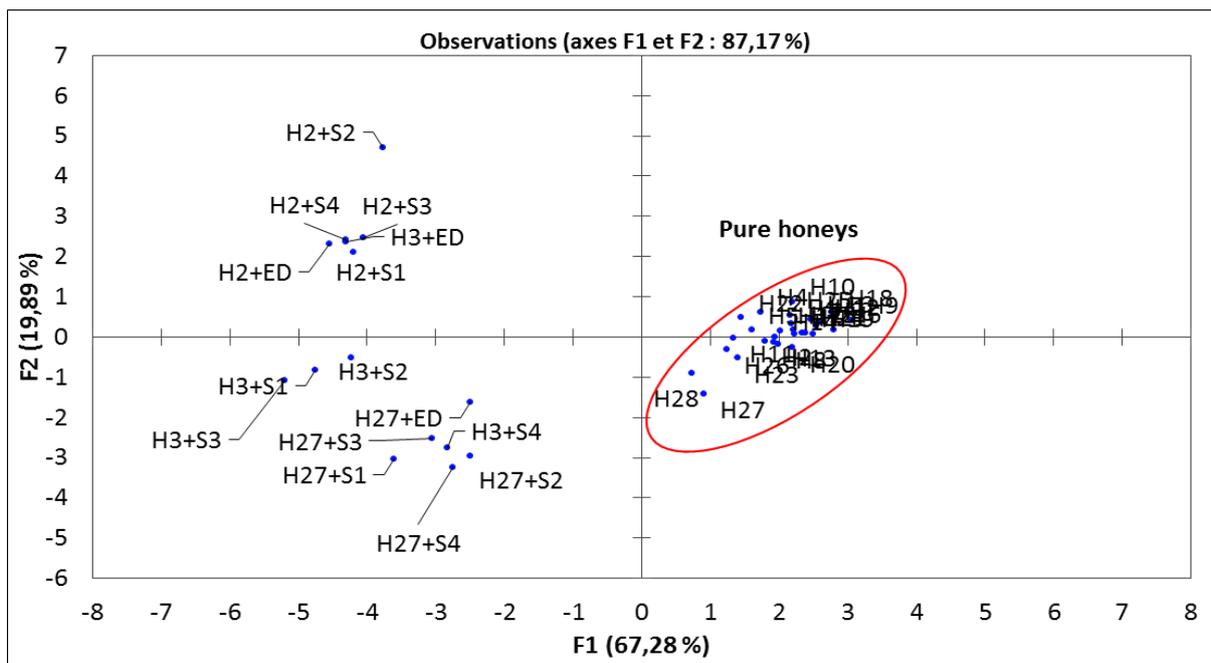


Figure 53 : ACP des intensités des pics relatifs des miels purs et falsifiés.

X. Classement des échantillons de miels par la méthode des scores

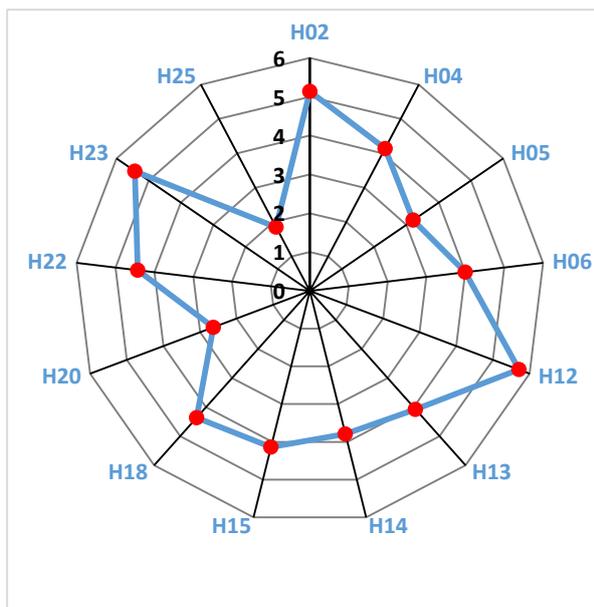
La méthode des scores permet de classer les échantillons du miel selon les paramètres physicochimiques, les teneurs en composés bioactifs et les propriétés biologiques. Elle révèle également le meilleur échantillon par rapport aux résultats obtenus pour chaque miel.

Les résultats de la méthode des scores pour les paramètres physicochimiques (Figure 54, a et b) révèlent que le miel *Apiaceae* (H12) et le miel polyfloral de Bordj Bouarreridj (H11) ont obtenu les meilleures scores avec des moyennes de 5,71 et 6,57, respectivement. Cependant, les scores faibles sont obtenus par le miel *Fabaceae* (H25) et polyfloral de Aïn Defla (H21) avec des valeurs de 1,86 et 2,29, respectivement. Selon les résultats obtenus, les miels monofloraux sont classés comme suit: H12>H23>H2>H22>H18>H4=H15>H13>H6>H14>H5>H20>H25 et les miels polyfloraux sont classés comme suit: H11>H10>H3>H7>H9>H8>H17>H19>H1=H16>H24>H26>H21.

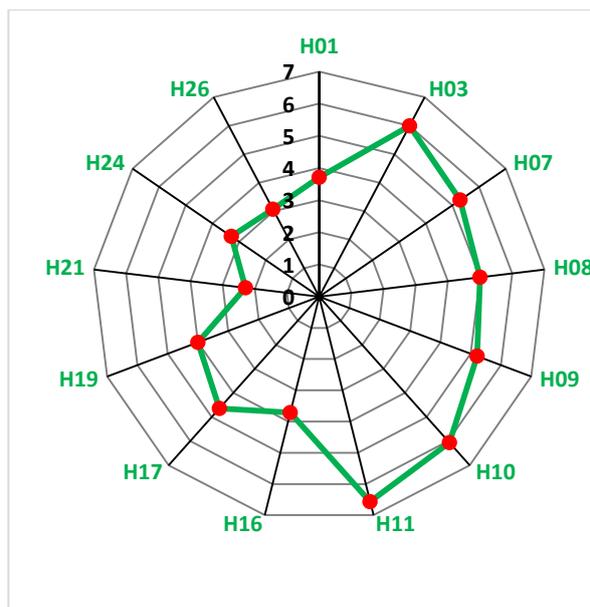
Le classement suivant les scores des concentrations en composés bioactifs (Figure 55, a et b) montre que les miels *Ericaceae* (H4), (6,8) et *Myrtaceae* (H5) (6,7) et les miels polyfloraux de Bejaia (H10) (8,2) et de Bordj Bouarreridj (H11) (8,8) ont obtenu les meilleurs scores, tandis que le miel *Fabaceae* (H25) (1,1) et le miel polyfloral de Tlemcen (H26) (1,6) ont obtenu le score le plus faible. Le classement des miels monofloraux est : H4>H5>H22>H20>H12>H23>H18>H2>H6>H13>H15>H14>H25 et les miels polyfloraux sont classés comme suit: H11>H10>H9>H8>H17>H7>H16>H1>H3>H24>H21>H19>H26.

Le classement montre également que les meilleures scores des activités biologiques (Figure 56, a et b) sont enregistrés par le miel *Myrtaceae* (H5) (6,85) et le miel polyfloral de Bordj Bouarreridj H11 (7,38). Cependant, le miel *Fabaceae* H25 (1,81) et le miel polyfloral de Tlemcen (H26) (1,65) ont obtenu les plus petits scores. Les résultats des activités biologiques classent les miels monofloraux comme suit : H5>H4>H22>H23>H12>H2>H20>H13>H6>H14>H15>H18>H25 et les miels polyfloraux comme suit : H11>H7>H10>H8>H9>H1>H17>H3>H16>H24>H19>H21>H26.

Le classement total des paramètres physicochimiques, composés bioactifs et activités biologiques (Figure 57, a et b) montre que les miels *Ericaceae* (H4) (5,71) et *Myrtaceae* (H5) (5,59) et les miels polyfloraux de Bejaia (H10) (6,96) et Bordj Bouarreridj (H11) (7,58) enregistrent les plus grands scores.

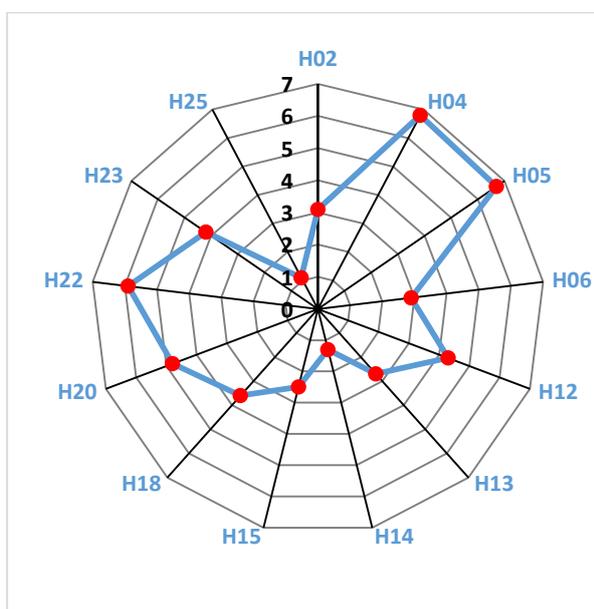


a : Les résultats des scores des paramètres physicochimiques pour les miels monofloraux.

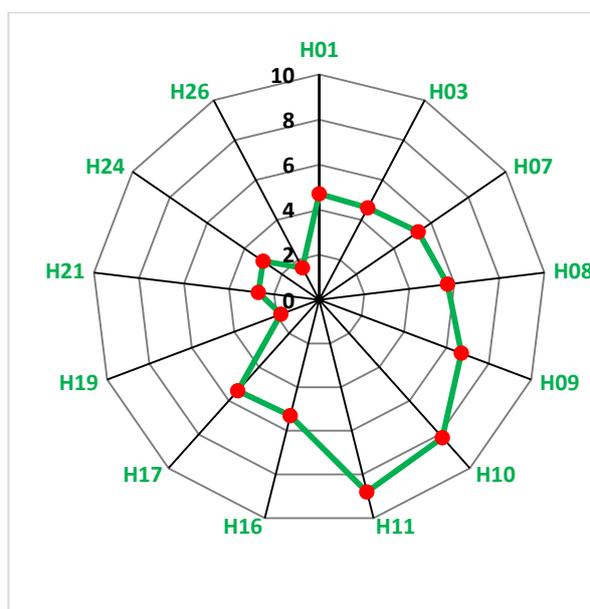


b : Les résultats des scores des paramètres physicochimiques pour les miels polyfloraux.

Figure 54 : Graphiques en radars des scores des paramètres physicochimiques obtenus par les miels analysés.

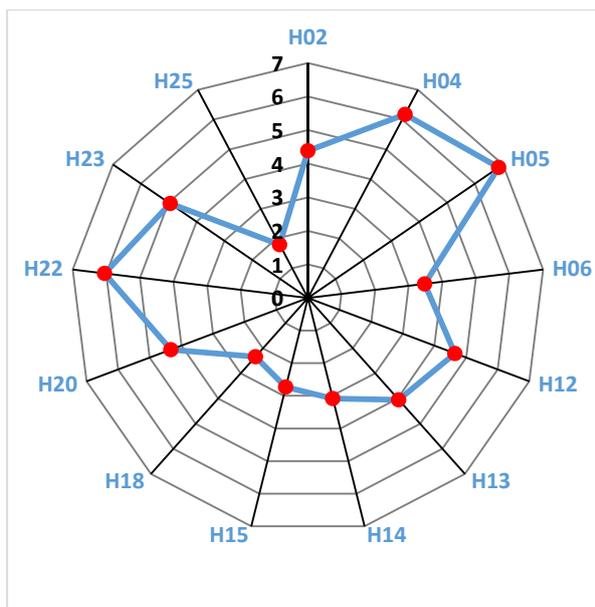


a : Les résultats des scores des teneurs en antioxydants pour les miels monofloraux.

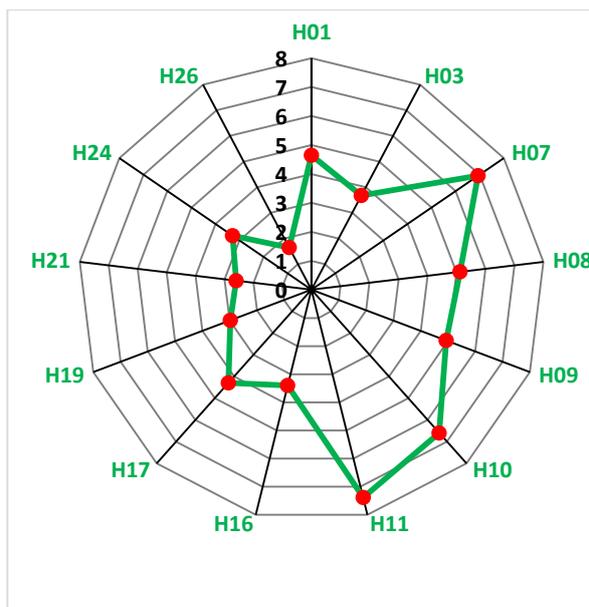


b : Les résultats des scores des teneurs en antioxydants pour les miels polyfloraux.

Figure 55 : Graphiques en radars des scores des teneurs en antioxydants obtenus par les miels analysés.

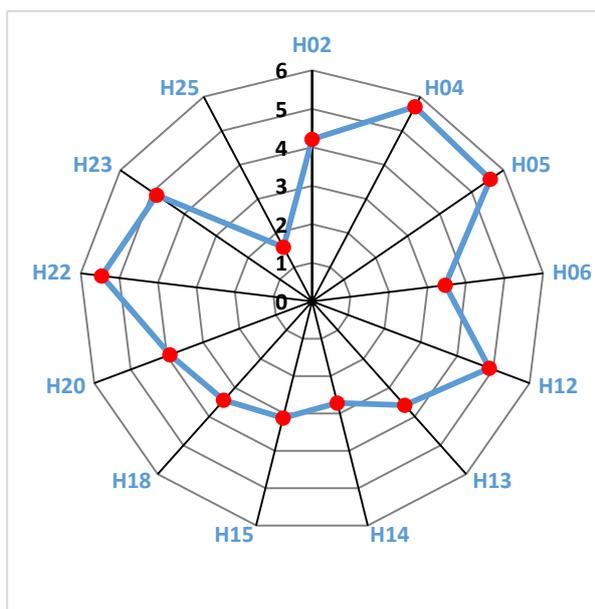


a : Les résultats des scores des activités biologiques pour les miels monofloraux.

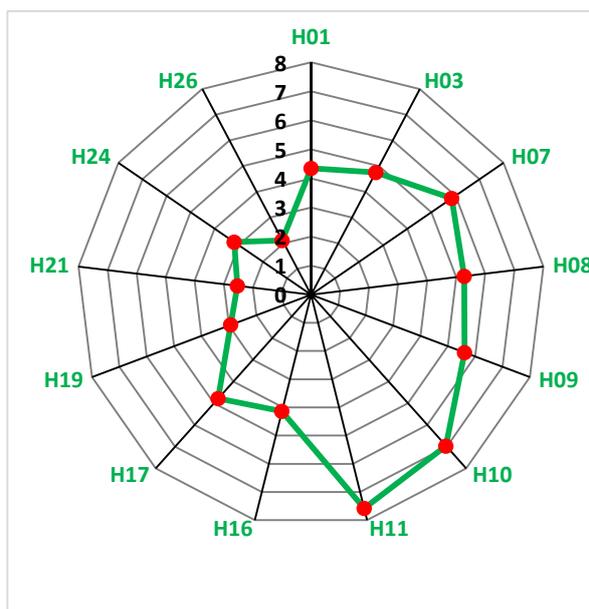


b : Les résultats des scores des activités biologiques pour les miels polyfloraux.

Figure 56 : Graphiques en radars des scores des activités biologiques obtenus par les miels analysés.



a : Les résultats des scores des paramètres étudiés pour les miels monofloraux.



b : Les résultats des scores des paramètres étudiés pour les miels polyfloraux.

Figure 57 : Graphiques en radars des scores des paramètres étudiés obtenus par les miels analysés.

Les miels *Fabaceae* (H14) (2,72) et H25 (1,59) et les miels polyfloraux d'Aïn Defla (H21) (2,53) et de Tlemcen (H26) (2,11) enregistrent les plus petits scores.

Selon les résultats obtenus les miels monofloraux sont alignés comme suit: H4>H5>H22> H12>H23>H2 >H20>H13>H6>H18>H15 >H14<H25 et les miels polyfloraux sont classé comme suit: H11> H10>H7>H9>H8>H17>H3>H1>H16>H24>H19>H21<H26.

Les résultats obtenus montrent que les meilleurs miels de point de vue qualité des paramètres physicochimiques, le taux des composés bioactifs et des propriétés biologiques sont les deux miels monofloraux d'*Ericaceae* (H4) et de *Myrtaceae* (H5) de la région de Jijel et les deux miels polyfloraux de de Bejaia (H10) et de Bordj Bouarreridj (H11). Ces miels se distinguent par leurs qualité (brix, humidité, conductivité électriques, acidité, couleur, HMF, proline et protéines), leurs taux élevés en composés antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, caroténoïdes et vitamine C) et meilleures activités pharmacologiques (activités antioxydantes, antibactériennes, antiinflammatoires et inhibitions enzymatiques).

Les miels *Fabaceae* de Tizi-Ouzou (H14) et de Naâma (H25) et les miels polyfloraux d'Aïn Defla (H21) et de Tlemcen (H26) présentent moins de qualité, une faible teneur en antioxydants et des faibles propriétés biologiques par rapport autres miels étudiés. Cependant, les autres miels montrent des valeurs moyennes par rapport aux deux groupes de miels performants et moins performants déjà mentionnés.

Ce classement ne permet pas une discrimination des origines florale et géographiques des miels analysés, par défaut de nombres d'échantillons représentant chaque région et chaque origine florale. Cependant, il donne le classement des échantillons selon les paramètres étudiés.

Conclusion

Conclusion

L'analyse pollinique des 26 échantillons du miel révèle 13 miels monofloraux avec 5 pollens dominants (*Apiaceae*, *Fabaceae*, *Myrtaceae*, *Ericaceae* et *Brassicaceae*) et 13 miels polyfloraux avec 10 pollens secondaires (*Apiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Cistaceae*, *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae*, *Rhamnaceae*, *Rosaceae*). La répartition du pollen par région géographique montre la richesse botanique des régions côtières par rapport aux régions subsahariennes de l'Algérie.

Les résultats des paramètres physico-chimiques montrent l'authenticité, la maturité et la fraîcheur des miels analysés. Le brix et l'humidité des miels varient respectivement de 78,43 à 83,52 % et de 14,65 à 19,92 %. La conductivité électrique des miels (0,12 à 1,21 mS cm⁻¹) est inférieure à la limite maximale des miels de nectar, excepté pour le miel H11. Les teneurs en centres des miels varient entre 0,01 et 0,61 % et la plupart d'entre eux sont frais avec des teneurs en HMF conformes à la législation (1,85 à 73,25 mg kg⁻¹). Cependant, les échantillons H2, H13, H15, H16, H17, H24 et H25 montrent des concentrations en HMF supérieures à la norme internationale. Tous les miels sont acides avec un pH qui oscille entre 3,46 et 4,87. La couleur des miels varie de blanc à l'ambre foncé avec des valeurs de 352 à 1513 mAU et de 33 à 619 mm Pfund estimés par les méthodes ABS₄₅₀ et Pfund, respectivement. Les échantillons du miel montrent des teneurs en protéines et en proline qui varient respectivement de 46,71 à 134,38 mg EBSA 100 g⁻¹ et de 398 à 1260 mg kg⁻¹.

L'analyse par spectroscopie ATR-FTIR des miels purs et adultérés montre six bandes caractéristiques principales :

- Bandes 1 et 3 : absorption maximale de 3311 cm⁻¹ et 1646 cm⁻¹ et qui correspondent respectivement aux vibrations d'étirement et de déformation de (O-H) dans H₂O.
- Bande 2 : absorption maximale à 2936 cm⁻¹ et qui correspond aux vibrations d'étirement de (C-H) des acides carboxyliques et aux vibrations d'étirement de (NH₃) des acides aminés libres.
- Bandes 4, 5 et 6 : absorption entre 1500 et 750 cm⁻¹, correspondant à la région d'absorption la plus importante des sucres et des acides organiques présents dans le miel.

Les spectres FTIR révèlent une augmentation significative de l'intensité de la bande à 1646 cm^{-1} dans les miels adultérés avec de l'eau distillée et la solution de saccharose à 50 % (p/v). Cependant, les spectres des miels adultérés avec des solutions de saccharose de 100, 150 et 200 % (p/v) montrent l'apparition du pic à 987 cm^{-1} , qui est un marqueur du D-(+)-saccharose. L'analyse par spectroscopie ATR-FTIR permet de différencier les miels purs des miels adultérés avec du sirop de saccharose après la récolte.

Les taux de polyphénols, flavonoïdes et flavonols des miels varient de 64 à 200 mg EAG 100 g^{-1} , de 3 à 28 mg EQ 100 g^{-1} et de 1 à 12 mg EQ 100 g^{-1} , respectivement, et leur concentration en caroténoïdes et vitamine C oscille entre 0,5 et 5,6 mg E β carot kg^{-1} . Huit acides phénoliques (les acides *p*-OH benzoïque, caféique, CAPE, férulique, *p*-coumarique, *t*-cinnamique, protocatéchuique et syringique) et 8 flavonoïdes (catéchine, chryisine, daidzéine, hespérétine, lutéoline, myérécétine, rutine et pinocembrine) sont quantifiés par HPLC-UV dans les 26 échantillons de miels.

Tous les miels montrent une capacité de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS avec des valeurs qui varient de 6 à 47 % et de 8 à 75 %, respectivement. Les miels montrent également une capacité réductrice estimée par le FRAP (6,47 à 59,67 mg EAG 100 g^{-1}) et le pouvoir réducteur (39,58 à 149,56 mg EAG 100 g^{-1}). Le test ferrozine, l'essai NORS et le blanchiment du β -carotène varient de 1 à 96 %, de 35,71 à 141 mg ml^{-1} et de 30,25 à 87,65 %, respectivement.

Les résultats de l'activité antibactérienne révèlent que la souche bactérienne *S. aureus* ATCC25923 est sensible aux miels avec des diamètres de zones d'inhibition qui varient de 0 à 13,67 mm et des CMI qui oscillent de 26,35 à 126,99 %. Les miels montrent également un effet inhibiteur de la croissance de *S. aureus* FRI 6 avec des diamètres d'inhibition et des CMI de 0 à 21,33 mm et de 29,87 à 126,99 %, respectivement. Les diamètres de zones d'inhibition d'*E. coli* et *S. typhi* varient respectivement de 0 à 12,33 mm et de 0 à 15,67 mm, tandis que leurs CMI varient de 38,62 à 249,02 % et de 49,22 à 257,08 %, respectivement. Les courbes dose-réponse montrent des profils d'inhibition de *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* FRI 6, *E. coli* et *S. typhi* qui varient en fonction de l'origine botanique des miels.

Les résultats de l'activité antiinflammatoire montrent que les miels présentent une activité inhibitrice significative de la dénaturation de la BSA induite par la chaleur et les IC_{50} varient de 4 à 49 mg ml^{-1} .

Les extraits phénoliques des miels analysés montrent une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et de l' α -glucosidase avec des valeurs d' IC_{50} qui varient de 343 à 835 $\mu\text{g ml}^{-1}$ et de 64 à 343 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement. Les extraits révèlent également une capacité d'inhibition de la lipase pancréatique et de la tyrosinase avec des IC_{50} de 440 à 2060 $\mu\text{g ml}^{-1}$ et de 213 à 578 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement.

L'analyse statistique révèle des corrélations significatives entre la couleur, les teneurs en antioxydants et les activités biologiques. Les miels de couleur foncée semblent être les plus riches en composés bioactifs et montrent également les meilleures activités antioxydantes, antibactériennes, antiacétylcholinestérase, anti- α -glucosidase, anti-lipase et anti-tyrosinase. La discrimination des miels en utilisant l'ACP ne montre aucun effet significatif de l'origine monoflorale ou polyflorale des miels sur les paramètres étudiés. L'ACP des pics relatifs des spectres obtenus par l'analyse FTIR-ATR confirme que cette méthode peut être utilisée pour différencier les miels purs et adultérés.

Le classement des miels par la méthode des scores montre que les miels H4, H5, H10 et H11 possèdent les meilleurs paramètres physicochimiques, les plus grandes teneurs en composés bioactifs et les meilleures activités biologiques par rapport aux autres miels analysés.

L'ensemble des travaux réalisés nous a permis de dégager les perspectives suivantes :

- L'étude des activités anticancéreuses et cicatrisantes des miels Algériens.
- L'étude sur des modèles animaux des activités antioxydantes, antiacétylcholinestérase, antidiabétique, antiobésité et dermato-protectrice des miels Algériens.
- La détection par FTIR-ATR de l'adultération des miels avant la récolte.
- L'identification et la quantification d'autres composés phénoliques des miels Algériens.
- L'étude de l'effet de miels Algériens sur le pied diabétique.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., & Miguel, M.G. (2014).** Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(4), 449–457.
- Ahmed, M., Djebli, N., Hammoudi, S.M., 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*, 5(10), 773–776.
- Aguiar, R., Duarte, F.C., Mendes, A., Bartolomé, B., & Barbosa, M.P. (2017).** Anaphylaxis caused by honey: A case report. *Asia Pacific Allergy*, 7(1), 48-50.
- Ahrari-Roodi, P., Moosavi, Z., Afkhami Goli, A., Azizzadeh, M., & Hosseinzadeh, H. (2018).** Histopathological study of protective effects of honey on subacute toxicity of acrylamide-induced tissue lesions in rats brain and liver. *Iranian Journal of Toxicology*, 12(3), 1–8.
- Akbari, B., Gharanfoli, F., Khayyat, M. H., Khashyarmanesh, Z., Rezaee, R., & Karimi, G. (2012).** Determination of heavy metals in different honey brands from Iranian markets. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 5(2), 105–111.
- Akyuz, E., Sahin, H., Islamoglu, F., Kolayli, S., & Sandra, P. (2014).** Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra Subsp. caucasica* by HPLC-UV and HPLC-UV-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 17, 331–343.
- Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009).** Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867.
- Alavi, M., & Karimi, N. (2017).** Characterization, antibacterial, total antioxidant, scavenging, reducing power and ion chelating activities of green synthesized silver, copper and titanium dioxide nanoparticles using *Artemisia haussknechtii* leaf extract. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(8), 1–16.
- Albaridi, N. A. (2019).** Antibacterial potency of honey. *International Journal of Microbiology*, 2019, 1-10.

- Al-Habsi, N.A., & Niranjana, K. (2012).** Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food Chemistry*, 135(3), 1448–1454.
- Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., & Al-Belushi, S. (2018).** Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*, 4(10), 1-14.
- Ali, H., Abu Bakar, M. F., Majid, M., Muhammad, N., & Lim, S. Y. (2020).** *In vitro* anti-diabetic activity of stingless bee honey from different botanical origins. *Food Research*, 4(5), 1421–1426.
- Alisi, C. (2012).** Antioxidant content and free radical scavenging activity of honeys of *Apis mellifera* of Obudu cattle ranch. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2(4), 164–175.
- Aljadi, A.M., & Kamaruddin, M.Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518.
- Al-Mamary, M., Al-Meerri, A., & Al-Habori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22(9), 1041–1047.
- Alqarni, A.S., Owayss, A.A. & Mahmoud, A.A. (2016).** Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1), 114-120.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., & Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2490–2499.
- Alvarez-Suarez, Jose M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2009).** Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15–23.
- Al-Waili, N., Al Ghamdi, A., Ansari, M.J., Al-Attal, Y., Al-Mubarak, A., & Salom, K. (2013).** Differences in composition of honey samples and their impact on the antimicrobial activities against drug multiresistant bacteria and pathogenic fungi. *Archives of Medical Research*, 44(4), 307–316.

- Amessis-Ouchemoukh, N. (2014).** Caractérisation phytochimique par UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS de quelques extraits de plantes médicinales et la détermination de leurs propriétés biologiques : anti-inflammatoire, anti-acétylcholinestérase et antioxydante. Thèse Doctorat en Sciences Alimentaires. *Université Abderrahmane Mira-Bejaia*, p. 230.
- Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L. V., Serralheiro, M. L., & Araújo, M. E. M. (2014).** Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, *53*, 6–15.
- Anand, P., Singh, B., & Singh, N. (2012).** A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *20*(3), 1175–1180.
- Anjos, O., Santos, A. J. A., Paixão, V., & Estevinho, L. M. (2018).** Physicochemical characterization of *Lavandula spp.* honey with FT-Raman spectroscopy. *Talanta*, *178*, 43–48.
- Anjos, O., Campos, M. G., Ruiz, P. C., & Antunes, P. (2015).** Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food Chemistry*, *169*, 218–223.
- Arrowitz, C., Schoelermann, A. M., Mann, T., Jiang, L. I., Weber, T., & Kolbe, L. (2019).** Effective tyrosinase inhibition by Thiamidol results in significant improvement of mild to moderate Melasma. *Journal of Investigative Dermatology*, *139*(8), 1691-1698.
- Aruoma, O.I., Bahorun, T., & Jen, L.S. (2003).** Neuroprotection by bioactive components in medicinal and Food plant extracts. *Mutation Research*, *544*, 203-215.
- Assie. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat. *Université de Limoges*, 22-67.
- Auger, C., Al-Awwadi, N., Bornet, A., Rouanet, J.-M., Gasc, F., Cros, G., & Teissedre, P.-L. (2004).** Catechins and procyanidins in Mediterranean diets. *Food Research International*, *37*(3), 233–245.
- Ávila, S., Hornung, P. S., Teixeira, G. L., Malunga, L. N., Apea-Bah, F. B., Beux, M. R., Beta, T., Ribani, R. H. (2019).** Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. *Food Research International*, *123*, 1–10.

- Azeredo, L. da C., Azeredo, M. A. A., de Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80(2), 249–254.
- Azonwade, F. E., Paraíso, A., Dossa, C. P. A., Dougnon, V. T., N'tcha, C., Mousse, W., & Baba-Moussa, L. (2018).** Physicochemical characteristics and microbiological quality of honey produced in Benin. *Journal of Food Quality*, 2018, 1-13.
- Balasundram, N., Sundrum, K., & Sammam, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99, 191-203.
- Baloš, M. M. Ž., Jakšić, S. N., Popov, N. S., & Polaček, A. V. (2021).** Characterization of Serbian sunflower honeys by their physicochemical characteristics. *Food and Feed Research*, 48(1), 1-8.
- Barbara R. (2009).** Le chemin du miel. Agridea. Lausanne 6, Suisse. p 23.
- Bean, A. (2012).** Investigating the anti-inflammatory activity of honey. PhD Thesis, Biological Sciences. *The University of Waikato*, p 353.
- Belhaj, O., Oumato, J., & Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels Marocains. *Revue Marocaine Des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 3(3), 71–75.
- Belhaj, O., El Abbadi, I., & Ouchbani, T. (2016).** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine Marocaine. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(3), 12-22.
- Bensignor, E., & Viaud, S. (2016).** Peptides antimicrobiens. *La dépêche technique*, 144, 1-11.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185–191.
- Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822–828.

- Biluca, F. C., da Silva, B., Caon, T., Mohr, E. T. B., Vieira, G. N., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Micke, G., Fett, R., Dalmarco, E. M., & Costa, A. C. O. (2020).** Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (*Meliponinae*). *Food Research International*, *129*, 108756.
- Bogdanov, S., Bieri, K., Figar, M., Figueiredo, V., Iff, D., Känzig, A., Stöckli, H. & Zürche, K. (1995).** Miel: définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. Centre Suisse de Recherches Apicoles, 1-26.
- Bogdanov, S., Marttin, P., Lüllman, C., Borneck, R., Morlot, M., Heritier, J., Vorwohl, G., Russmann, H., Persano-Oddo, L., Sabatini, A. G., Maecazzan, G. L., Marioleas, P., Tsigouri, A., KerKvliet, J., Ortiz, A. & Ivanov, T. (1997).** Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie*. (extra issue), 1-59.
- Bogdanov, S., Lüllman, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Persano-Oddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., Heritier, J., Borneck, R., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A., Ivanov, T., D'Arcy, B., Mossel, B. & Vit, P. (1999).** Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, *80*(2), 61–69.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano, O.L. (2004).** Physico- chemical methods for characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, *35* (1), 4–17.
- Bonté, F., and Desmoulière, A. (2013).** Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*, *52*, 18–21.
- Borchers, A. T., Keen, C. L., Stern, J. S., & Gershwin, M. E. (2000).** Inflammation and native American medicine: The role of botanicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *72*(2), 339–347.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., & Ruberto, G. (2013).** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, *148*(2), 395–402.
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2018).** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, *11*(2), 265–274.

- Bouyahya, A., Lagrouh, F., El Omari, N., Bourais, I., El Jemli, M., Marmouzi, I., Salhi, N., Faouzi, M. E. A., Belmehdi, O., Dakka, N., & Bakri, Y. (2020).** Essential oils of *Mentha viridis* rich phenolic compounds show important antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective, antidermatophyte and antibacterial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *23*, 1-7.
- Braun, A. E., & González, A. G. (1997).** Coumarins. *Natural Product Reports*, *14*, 465-475.
- Bruneau, E., Barbier, E., Gallez, L. M., Declerck, C. G. (2000).** La roue des arômes des miels. *Abeilles*, *77*(4), 16-23.
- Bruneton, J. (2008).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Edition 5, Lavoisier Tec et Doc, 199–339.
- Bruni, R., Barreca, D., Protti, M., Brighenti, V., Righetti, L., Anceschi, L., Mercolini, L., Benvenuti, S., Gattuso, G., & Pellati, F. (2019).** Botanical sources, chemistry, analysis, and biological activity of furanocoumarins of pharmaceutical interest. *Molecules*, *24*(11), 1-25.
- Buchholz, T., & Melzig, M. (2015).** Polyphenolic compounds as pancreatic lipase inhibitors. *Planta Medica*, *81*(10), 771–783.
- Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Bohmer, B.W., Chaves, F.C., Silva, W.P. da, Zanusso, J.T., & Dutra, I. (2016).** Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT - Food Science and Technology*, *65*, 333–340.
- Bureau, M. S. Reich, B. Gouble, C.M.G.C. Renard, D. Bertrand, D. Ruiz, J.M. Audergon, & A. Lecomte. (2010).** Determination of apricot fruit quality using fourier transform infrared spectroscopy. *Acta Horticulturae*, *862*, 565–572.
- Burlando B, Cornara L (2013).** Honey in dermatology and skin care: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *12*(4), 306-13.
- Cabañero, A.I., Recio, J.L. & Rupérez, M. (2006).** Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry: A new perspective on honey adulteration detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 9719-9727.
- Campone, L., Piccinelli, A. L., Pagano, I., Carabetta, S., Di Sanzo, R., Russo, M., & Rastrelli, L. (2014).** Determination of phenolic compounds in honey using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, *1334*, 9–15.

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

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

Centre d'Études Techniques Apicoles de Moselle, France.

Chan, B. K., Haron, H., Talib, R. A., & Subramaniam, P. (2017). Physical properties, antioxidant content and anti-oxidative activities of Malaysian stingless *Kelulut (Trigona spp.)* honey. *Journal of Agricultural Science*, 9(13), 32-40.

Chintong, S., Phatvej, W., Rerk-Am, U., Waiprib, Y., & Klaypradit, W. (2019). *In vitro* antioxidant, antityrosinase and cytotoxic activities of *Astaxanthin* from shrimp waste. *Antioxidants*, 8(5), 1-11.

Choi, S.-H., & Nam, M. S. (2020). Classification of honeydew and blossom honeys by principal component analysis of physicochemical parameters. *Korean Journal of Agricultural Science*, 47(1), 67–81.

Chua, L. S., Rahaman, N. L. A., Adnan, N. A., & Eddie Tan, T. T. (2013). Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2013, 1–8.

CiAnciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P., Zhang, J., Bravo Lamas, L., Martínez Flórez, S., Agudo Toyos, P., Quiles, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 2322.

Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., Spano, N., & Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3), 924–929.

Clement, H. (2002). *Guide des miels*. Paris, Rustica, p. 64.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 12th Edition, document M02 A1.

- Codex Alimentarius (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12: 1-7
- Commission Européenne (2002).** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 10 : 47-52.
- Conti, M.E., Finoia, M.G., Fontana, L. Mele, G., Botrè, F. & Iavicoli, I. (2014).** Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(44), 2-10.
- Cotte, J.F. (2004).** Analyse des miels. I- Vers de nouvelles méthodes d'investigation des adultérations. *Bulletin Technique Apicole*, 31(1), 15-24.
- Cozzolino, D., Cynkar, W. U., Shah, N., & Smith, P. (2011).** Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality. *Exotic Fruits: Their Composition, Nutraceutical and Agroindustrial Potential*, 44(7), 1888–1896.
- Cozzolino, D. (2009).** Near Infrared Spectroscopy in Natural Products Analysis. *Planta Medica*, 75(07), 746–756.
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites. Blackwell Publishing Ltd, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, US.
- Danihlík, J., Aronstein, K., & Petřivalský, M. (2016).** Antimicrobial peptides: a key component of honeybee innate immunity: Physiology, biochemistry and chemical ecology. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 123–136.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323.
- del Río, L. A., Javier Corpas, F., & Barroso, J. B. (2004).** Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry*, 65(7), 783–792.
- Diez, M.J., Andres, C., & Terrab A. (2004).** Parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 167–176.
- Dor, G.O.L.M., & Mahomoodally, M.F. (2014).** Chemical profile and *in vitro* bioactivity of tropical honey from Mauritius. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 1002-1013.
- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., & Hacini, Z. (2014).** Physicochemical and phytochemical study of some types of Algerian honeys. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37-49.

- Dutau, G., & Lavaud, F. (2019).** Le miel et les produits de la ruche. Des « produits naturels » auxquels on peut être allergique !. *Revue Française d'Allergologie*, 59(7), 459-462.
- Dżugan, M., Grabek-Lejko, D., Swacha, S., Tomczyk, M., Bednarska, S., & Kapusta, I. (2020).** Physicochemical quality parameters, antibacterial properties and cellular antioxidant activity of Polish buckwheat honey. *Food Bioscience*, 34, 100538.
- Ebrahimzadeh, M.A., Fereshteh, P. & Hafezi, S. (2007).** Antioxidant activities of Iranian Corn Silk. *Turkish Journal of Biology*, 32, 43-49.
- El Khawand, T., Courtois, A., Valls, J., Richard, T., & Krisa, S. (2018).** A review of dietary stilbenes: Sources and bioavailability. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1007–1029.
- El-Seedi, H. R., El-Said, A. M. A., Khalifa, S. A. M., Göransson, U., Bohlin, L., Borg-Karlson, A. K., & Verpoorte, R. (2012).** Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10877-10895.
- Emmanuelle, H., Julie, C. & Laurent, G. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. *Science et Médecine*, 4, 1-7.
- Erejuwa, O., Sulaiman, S., & Wahab, M. (2014).** Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules*, 19(2), 2497–2522.
- Fahim, H., Dasti, J.I., Ali, I., Ahmed, S., & Nadeem, M. (2014).** Physico-chemical analysis and antimicrobial potential of *Apis dorsata*, *Apis mellifera* and *Ziziphus jujube* honey samples from Pakistan. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(8), 633–641.
- Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta, V., & Botella, M. A. (2019).** Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 9(2006), 1-21.
- Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., & Estevinho, L.M. (2009).** Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4), 1438–1443.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M., & Araújo, M. E. M. (2006).** The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1), 31–37.

- Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., Soler, C., García-Viguera, C., Ortiz, A., & Tomás-Lorente, F. (1994).** A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie*, 25, 21–30.
- Fontana-Pereira, D., Cazarolli, L.H., Lavado C., Mengatto, V., Figueiredo, M.S.R.B., Guedes, A., Pizzolatti, M.G., & Silva, F.R.M.B. (2011).** Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: potential targets for glucose homeostasis. *Nutrition*, 27, 1161–1167.
- Francis, M.A., & Andrew, W.V. (2010).** Antioxidant activity, nitric oxide scavenging activity and phenolic contents of *Ocimum gratissimum* leaf extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2479–2487.
- Galhardo, D., Garcia, R. C., Schneider, C. R., Braga, G. C., Chambó, E. D., França, D. L. B. de, & Ströher, S. M. (2021).** Physicochemical, bioactive properties and antioxidant of *Apis mellifera* L. honey from western Paraná, Southern Brazil. *Food Science and Technology*, 41(1), 247–253.
- Garcia, N. (2016).** Prix de miel, l'effondrement. *Abeilles & Cie*, 174, 31-36
- Gardenal, M.** Le miel de Manuka, ce miel qui soigne. Deliver Ed. 2013, p.130.
- Ghramh, H.A., Khan, K.A., & Alshehri, A.M.A. (2019).** Antibacterial potential of some Saudi honeys from Asir region against selected pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1278–1284.
- Godyn, J., Jonczyk, J., Panek, D., & Malawska, B. (2016).** Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials. *Pharmacological Reports*, 68, 127–138.
- Goodarzi, B. & Khosravi, A. (2013).** The Effects of simultaneous 8 weeks *Astragalus* sp/ *Euphorbia cheriradenia* honey supplementation and endurance training on membrane lipid peroxidation of erythrocytes after a bout acute Exhaustive treadmill exercise in rats. *European Academic Research*, 1(2), 2286- 4822.
- Gül, A., & Pehlivan, T. (2018).** Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), 1056-1065.
- Gülçin, İ., Alici, H. A., & Cesur, M. (2005).** Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 281-285.

- Gulçin, I., Oktay, M., Kirreççi, E. & Kufreviöglu, O. I. (2003).** Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-381.
- Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U. D., & Ibrahim, W. H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153, 35-43.
- Habib, H. M., Kheadr, E., & Ibrahim, W. H. (2021).** Inhibitory effects of honey from arid land on some enzymes and protein damage. *Food Chemistry*, 364, 130415.
- Hadagali, M.D., Chua, L. S. (2014).** The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. *European Food Research Technology*, 239, 1003-1014.
- Hadi, H., Omar, S. S. S., & Awadh, A. I. (2016).** Honey, a gift from nature to health and beauty: A review. *British Journal of Pharmacy*, 9(1), 46-54.
- Hegazi, A.G., Al Guthami, F.M., Al Gethami, A.F.M., Allah, F.M.A., Saleh, A.A., & Fouad, E.A. (2017).** Potential antibacterial activity of some Saudi Arabia honey. *Veterinary World*, 10(2), 233-237.
- Henstridge, C. M., Pickett, E., and Spires-Jones, T. L. (2016).** Synaptic pathology: A shared mechanism in neurological disease. *Ageing Research Reviews*, 28, 72-84.
- Hochet C. (2002).** Le miel. In « le Traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 360-364.
- Hossen, Md. S., Ali, Md. Y., Jahurul, M. H. A., Abdel-Daim, M. M., Gan, S. H., & Khalil, Md. I. (2017).** Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: A review. *Pharmacological Reports*, 69(6), 1194-1205.
- Hoyet, C. (2005).** Le miel : De la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie. *Université Henri Poincaré - Nancy-I*, p. 16-32.
- Huang, R., Zhang, Y., Shen, S., Zhi, Z., Cheng, H., Chen, S., & Ye, X. (2020).** Antioxidant and pancreatic lipase inhibitory effects of flavonoids from different *citrus* peel extracts: An *in vitro* study. *Food Chemistry*, 326, 126785.
- Huchet, E., Julie, C. & Laurent, G. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. *Science et Médecine*, 4, 1-7.

- Ibrahimi, H., & Hajdari, A. (2020).** Phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of honey from Kosovo. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 452–457.
- Imtara, H., Elamine, Y., & Lyoussi, B. (2018).** Honey antibacterial effect boosting using *Origanum vulgare* L. essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–14.
- Indrianingsih, A. W., Tachibana, S., & Itoh, K. (2015).** *In vitro* evaluation of antioxidant and α -glucosidase inhibitory assay of several tropical and subtropical plants. *Procedia Environmental Sciences*, 28, 639–648.
- Isla, M.I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V., & Maldonado, L. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1922–1930.
- Izzah, N. I., Kadir, M. R. A., Zulkifli, R. M., & Mohamed, M. (2021).** Antioxidant profiles between Malaysian *Apis* And *Trigona* honeys. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 25(2), 243-256.
- Jaganathan, S. K., & Mandal, M. (2009).** Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: A review. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 1–13.
- Jéanne, F. (2004).** Le miel de miellat (origine, nature et composition). *Bulletin Technique Apicole*, 31(2), 87-92.
- Jean-Prost, P., Médori, P., & Leconte, Y. (2005).** Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher. Edition TEC et Doc, 7^e édition, 1-698.
- Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., & Afolayan, A. J. (2010).** Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 964–971.
- Kähköen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T. S. & Heinonen M. (1999).** Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kamaruzzaman, M. A., Chin, K.-Y., & Mohd Ramli, E. S. (2019).** A Review of potential beneficial effects of honey on bone health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–10.

- Karri, S., Sharma, S., Hatware, K., & Patil, K. (2019).** Natural anti-obesity agents and their therapeutic role in management of obesity: A future trend perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *110*, 224–238.
- Kaškonienė, V., Maruška, A., Kornyšova, O., Charczun, N., Ligor, M., & Buszewski, B. (2009).** Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminé Technologija*, *3(52)*, 74-80.
- Kassim, M., Achoui, M., Mansor, M., & Yusoff, K. M. (2010).** The inhibitory effects of Gelam honey and its extracts on noucheitric oxide and prostaglandin E2 in inflammatory tissues. *Fitoterapia*, *81(8)*, 1196–1201.
- Kwakman, P. H. S., te Velde, A. A., de Boer, L., Speijer, D., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. & Zaat, A.J. (2010).** How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*, *24*, 2576- 2582.
- Kayacier, A., & Karaman, S. (2008).** Rheological and some physicochemical characteristics of selected Turkish honeys. *Journal of Texture Studies*, *39*, 17–27.
- Keke, A., & Cinkmanis, I. (2019).** Determination of organic acids in honey samples from Latvian market by high-performance liquid chromatography. *Research For Rural Development*, *1*, 229-233.
- Kelly, J.D., Petisco, C. & Downey, G. (2006).** Potential of near infrared transfectance spectroscopy to detect adulteration of Irish honey by beet invert syrup and high fructose corn syrup. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, *14*, 139-146.
- Kerkvliet, J.D., Shrestha, M., Tuladhar, K., & Manandhar, H. (1995).** Microscopique detection of adulteration of Honey with cane sugar and cane sugar products. *Apidologie*, *26*, 131-139.
- Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S., & Salama, O. (2020).** *Ammi visnaga* L., a potential medicinal plant: A review. *Molecules*, *25(2)*, 1-18.
- Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M.A., Islam, M.N., & Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, *17(9)*, 11199–11215.
- Khanbabaee, K., & Ree, T. V. (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*, *18*, 641–649.

- Kıvrak, Ş., & Kıvrak, I. (2017).** Assessment of phenolic profile of Turkish honeys. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 864-876.
- Kivima, E., Tanilas, K., Martverk, K., Rosenvald, S., Timberg, L., & Laos, K. (2021).** The composition, physicochemical properties, antioxidant activity, and sensory properties of Estonian honeys. *Foods*, 10(3), 1-14.
- Klein, B. P., & Perry, A. K. (1982).** Ascorbic acid and vitamin a activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47, 941-945.
- Koechler, S. (2015).** Le miel dans la cicatrisation des plaies : Un nouveau médicament ?. Thèse Doctorat, Pharmacie. *Université de Lorraine*, p. 130.
- Kostova, I., Bhatia, S., Grigorov, P., Balkansky, S., S. Parmar, V., K. Prasad, A., & Saso, L. (2011).** Coumarins as antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, 18(25), 3929–3951.
- Kostova, I. (2005).** Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5(1), 29–46.
- Kraus, T. E. C., Dahlgren, R. A., & Zasoski, R. J. (2003).** Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems-A review. *Plant and Soil*, 256(1), 41–66.
- Kubrak, T., Podgórski, R., & Stompor, M. (2017).** Natural and synthetic coumarins and their pharmacological activity. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 15(2), 169–175.
- Kubo, I., & Kinst-Hori, I. (1998).** Tyrosinase inhibitors from cumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 5338-5341.
- Kumar, A., Gill, J. P. S., Bedi, J. S., Manav, M., Ansari, Mohd. J., & Walia, G. S. (2018).** Sensorial and physicochemical analysis of Indian honeys for assessment of quality and floral origins. *Food Research International*, 108, 571–583.
- Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaaïd, D., & Lyoussi, B. (2020).** Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of *Bupleurum spinosum* Gouan honey from the middle Atlas in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–12.

- Lachman, J., Kolihová, D., Miholová, D., Košata, J., Titěra, D., & Kult, K. (2007).** Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, 101(3), 973–979.
- Laguerre, M., Javier López-Giraldo, L., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 14(5), 278–292.
- Lakshmana Senthil, S., Chandrasekaran¹, R., Arjun, H.A., & Anantharaman, P. (2019).** *In vitro* and *in silico* inhibition properties of fucoidan against α -amylase and α -D-glucosidase with relevance to type 2 diabetes mellitus. *Carbohydrate Polymers*, 209, 350–355.
- Langi, P., Kiokias, S., Varzakas, T., & Proestos, C. (2018).** Carotenoids: From plants to food and feed industries. *Microbial Carotenoids*, 1852, 57–71.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Bacandritsos, N., & Sabatini, A. G. (2004).** Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, 64(1), 9–21.
- Le conte, Y. (2002).** La vie sociale de la colonie. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, p. 54-83.
- Lestari, K., Babikian, H., Babikyan, Y., Davtyan, T.K., Jha, R. K., Manukyan, G., Diantini, A., & Febriyanti, M. (2020).** Anti-oxidant and anti-free radical activities of natural oil blend formulation: Implication for immune regulation and potential adjuvant treatment in infectious diseases. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 10(2), 152–158.
- Lequet, L. (2010).** Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur, Thèse doctorat en sciences vétérinaires. *Université Claude-Bernard-Lyon*, p. 112.
- Lewoyehu, M., & Amare, M. (2019).** Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activities of honey: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2019(5), 1-24.
- Li, C., & Lin, E. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of *Areca catechu* seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), 7831–7836.

- Lima, M.C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. D., & de Souza, E. L. (2019).** A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, *130*, 259–270.
- Liu, J., Ye, Y., Lin, T., Wang, Y., & Peng, C. (2013).** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, *139*(1-4), 938–943.
- Loubreau-Callen, D., Clement, M.C. & Marmion, V. (2000).** Les miels in « techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire », 1-20.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, *59*, 139–157.
- Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K. V., & Bíró, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, *47*(1-4), 119-125.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Allemand, C. J.** Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 2005.
- Majewska, E., Drużyńska, B., & Wołosiak, R. (2019).** Determination of the botanical origin of honeybee honeys based on the analysis of their selected physicochemical parameters coupled with chemometric assays. *Food Science and Biotechnology*, *28*(5), 1307–1314.
- Makhloufi, C., Ait Abderrahim, L., & Taibi, K. (2021).** Characterization of some Algerian honeys belonging to different botanical origins based on their physicochemical properties. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A, Science*, *45*, 189–199.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J., & Schweitzer, P. (2015).** Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, *54*(2), 156–166.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. D., D'albore, G. R., Choukri, A., & Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, *41*(5), 509–521.
- Makhloufi, C., Schweitzer, P., Azouzi, B., Persano, Oddo L., Choukri, A., Laaredj, H. & D'Albore, G.R. (2007).** Some properties of Algerian honeys. *Apiacta*, *42*, 73–80.
- Marchenay, P., & Bernard, L. (2007).** L'homme, l'abeille et le miel. Paris, De Borée. 223-225.

- Martín, I. G., Macías, E. M., Sánchez, J. S., & Rivera, B. G. (1998).** Detection of honey adulteration with beet sugar using stable isotope methodology. *Food Chemistry*, *61*(3), 281–286.
- Matysek, M. K., Stryjecka, M., Teter, A., Skalecki, P., Domaradzki, P., & Florek, M. (2021).** Relationships between the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of Polish honey varieties as a tool for botanical discrimination. *Molecules*, *26*(6), 1-12.
- Mau, J., Tsai, S., Tseng, Y., & Huang, S. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, *93*(4), 641–649.
- Mbogning, E., Tchoumboue, J., Damesse, F., Sobze, M. S., & Canini, A. (2011).** Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l’Ouest et de l’Adamaoua Cameroun. *Tropicicultura*, *29*(3), 168-175.
- McDougall, G. J., Kulkarni, N. N., & Stewart, D. (2009).** Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry*, *115*(1), 193–199.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O.G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, *91*(3), 571–577.
- Mehryar, L., & Esmaili, M. (2011).** Honey & honey adulteration detection: A review. *International Congress on Engineering and Food, 2011*, 1713-1715.
- Michałowicz, J., & Duda, W. (2007).** Phenols-sources and toxicity. *Polish Journal of Environmental Studies*, *3*(16), 347-362.
- Milek, M., Bocian, A., Kleczyńska, E., Sowa, P., & Dżugan, M. (2021).** The comparison of physicochemical parameters, antioxidant activity and proteins for the raw local Polish honeys and imported honey blends. *Molecules*, *26*(9), 2423.
- Miller, N., Diplock, A. T., & Rice-Evans, C. (1995).** Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*, 1794-1801.
- Mokaya, H. O., Bargul, J. L., Irungu, J. W., & Lattorff, H. M. G. (2020).** Bioactive constituents, *in vitro* radical scavenging and antibacterial activities of selected *Apis mellifera* honey from Kenya. *International Journal of Food Science & Technology*, *55*(3), 1246–1254.

- Molan, P. C. (1999).** Why honey is effective as a medicine. 1 Its use in modern medicine. *Bee World*, 80(2), 80-92.
- Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P.V., Hawlader, M.N.I., Azlan, S.A.B.M., Sulaiman, S.A., & Gan, S. H. (2014).** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *BioMed Research International*, 2014, 1–11.
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S., Khalil, M., & Gan, S. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 138.
- Molina, F. O., Alizadeh, K., Bucarey, S. A., Castaneza Zúñiga, E., & Vásquez-Quitral, P. (2020).** Analysis of organic molecules, physicochemical parameters, and pollen as indicators for authenticity, botanical origin, type and quality of honey samples examined. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 2242–2256.
- Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A., & Estevinho, L. (2008).** Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3482–3485.
- Mosihuzzman, M., Naheed, S., Hareem, S., Talib, S., Abbas, G., & Israr, M. (2013).** Studies on α -glucosidase inhibition and anti-glycation potential of *Iris loczyi* and *Iris unguicularis*. *Life Sciences*, 92, 187-192.
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016).** Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85–90.
- Muhammad, A., Odunola, O. A., Gbadegesin, M. A., Sallau, A. B., Ndidi, U. S., & Ibrahim, M. A. (2015).** Inhibitory effects of sodium arsenite and *Acacia* honey on acetylcholinesterase in rats. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2015, 1–7.
- Nafea, E.A., Zidan, E.W., Asmaa, M.F., & Sehata, I.A.A. (2013).** Determination of organic acids in Saudian Bee honey types. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 5(2), 117-120.
- Naithani, V., Nair, S., & Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39(2), 176–181.

- Nakajima, Y., Nakano, Y., Fuwano, S., Hayashi, N., Hiratoko, Y., Kinoshita, A., Miyahara, M., Mochizuki, T., Nishino, K., Tsuruhara, Y., Yokokawa, Y., Iuchi, T., Kon, Y., Mukai, K., Kitayama, Y., Murakado, N., Okuwa, M., & Nakatani, T. (2013).** Effects of three types of Japanese honey on full-thickness wound in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-11.
- Nascimento, K. S. do, Gasparotto Sattler, J. A., Lauer Macedo, L. F., Serna González, C. V., Pereira de Melo, I. L., da Silva Araújo, E., Granato, D., Sattler, A., & de Almeida-Muradian, L. B. (2018).** Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT - Food Science and Technology*, 91, 85–94.
- Nayik, G. A., & Nanda, V. (2016).** A chemometric approach to evaluate the phenolic compounds, antioxidant activity and mineral content of different unifloral honey types from Kashmir, India. *LWT - Food Science Technology*, 74, 504–513.
- Nazarian, H., Taghavizad, R., & Majd, A. (2010).** Origin of honey proteins and method for its quality control. *Pakistan Journal of Botany*, 42(5), 3221-3228.
- Nonotte-Varly, C. (2019).** Les pollens à potentiel allergénique des miels du monde. Intérêt d'un nouveau procédé : l'allergomélissopalynologie. *Revue Française Allergologie*, 59(7), 493-499.
- Noufou, O., Wantinga, S. R., André, T., Christine, B., Marius, L., Emmanuelle, H. A., Jean, K., Marie-Geneviève, D., & Pierre, G. I. (2012).** Pharmacological properties and related constituents of stem bark of *Pterocarpus erinaceus* Poir. (*Fabaceae*). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(1), 46–51.
- Nwaichi, E.O., Chuku, L.C., & Oyibo, N.J. (2015).** Profile of ascorbic acid, beta-carotene and lycopene in guava, tomatoes, honey and red wine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, 39-43.
- Olas, B. (2020).** Honey and its phenolic compounds as an effective natural medicine for cardiovascular diseases in humans?. *Nutrients*, 12(2), 1-14.
- Oliveira, A., Ribeiro, H. G., Silva, A. C., Silva, M. D., Sousa, J. C., Rodrigues, C. F., & Sillankorva, S. (2017).** Synergistic antimicrobial interaction between honey and phage against *Escherichia coli* biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–18.

- Oryan, A., Alemzadeh, E., & Moshiri, A. (2016).** Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability*, 25(2), 98–118.
- Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Gómez-Romero, M., Aboud, F., Giuseppe, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017).** Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 460–469.
- Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse Doctorat en Biochimie. *Université Abderrahmane Mira-Bejaia*, p. 162.
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52–58.
- Ozturk, A., Demirsoy, L., Demirsoy, H., & Ozturk, S. (2015).** Quality characteristics and phenolic compounds of European pear cultivars. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(5), 63.
- Pacher, P., Beckman, J.S., & Liaudet, L. (2007).** Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87, 315–424.
- Páczay, G. B. (2018).** Vrai miel pour les consommateurs Européens. *Journal of Agricultural and Environmental Law*, 13(25), 213–243.
- Pai, S., Shivappa, C., & Surendra, A. (2018).** Anti-obesity and anti-hyperlipidemic activity of processed honey-A randomised, open labeled, controlled clinical study. *Journal of Research in Traditional Medicine*, 4(2), 40–48.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
- Paradkar, M.M., & Irudayaraj, J. (2001).** Discrimination and classification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 76, 231–239.
- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., & Moran, N. (2006).** Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(1), 84–95.

- Pauliuc, D., Dranca, F., & Oroian, M. (2020).** Antioxidant activity, total phenolic content, individual phenolics and physicochemical parameters suitability for Romanian honey authentication. *Foods*, 9(3),1-22.
- Peng, X.-M., L.V. Damu, G., & He Zhou, C.-. (2013).** Current developments of coumarin compounds in medicinal chemistry. *Current Pharmaceutical Design*, 19(21), 3884–3930.
- Percival, M. (1998).** Antioxidants. *Advanced Nutrition Publications*, NUT031 1/96 Rev. 10/98.
- Petretto, G. L., Tuberoso, C. I. G., Fenu, M. A., Rourke, J. P., Belhaj, O., & Pintore, G. (2017).** Antioxidant activity, color chromaticity coordinates, and chemical characterization of monofloral honeys from Morocco. *International Journal of Food Properties*, 20(9), 2016–2027.
- Pita-Calvo, C., & Vázquez, M. (2017).** Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 79–87.
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684.
- Pyrzynska, K., & Biesaga, M. (2009).** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893–902.
- Queiroz, D.K., Ferreira, A.G., Lima, A.S., Lima, E.S., & Lima, M.D.P. (2013).** Isolation and identification of α -glucosidase, α -amylase and lipase inhibitors from *Hortia longifolia*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 336–339.
- Rahman, M. M., Gan, S. H., & Khalil, Md. I. (2014).** Neurological effects of honey: Current and future prospects. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–13.
- Rao, P. V., Krishnan, K. T., Salleh, N., & Gan, S. H. (2016).** Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(5), 657–664.
- Raynaud, A., Ghezali, L., Gloaguen, V., Liagre, B., Quero, F., & Petit, J.M. (2013).** Honey-induced macrophage stimulation: AP-1 and NF-kB activation and cytokine production are unrelated to LPS content of honey. *International Immunopharmacology*, 17(3), 874-879.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Ribeiro, R. de O. R., Mársico, E. T., Carneiro, C. da S., Monteiro, M. L. G., Conte Júnior, C. A., Mano, S., & de Jesus, E. F. O. (2014).** Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF 1H NMR). *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 90–95.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P. (1982).** Composés phénoliques. In « traité d’oenologie, science et technique du vin ». *Edition Dunod*, 477-499.
- Riswahyuli, Y., Rohman, A., Setyabudi, Francis. M. C. S., & Raharjo, S. (2020).** Indonesian wild honey authenticity analysis using attenuated total reflectance-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy combined with multivariate statistical techniques. *Heliyon*, 6(4), 1-7.
- Rocha, L. D., Monteiro, M. C., & Teodoro, A. J. (2012).** Anticancer properties of hydroxycinnamic acids -A review. *Cancer and Clinical Oncology*, 1(2), 109-121.
- Rossant A. (2011).** Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenante. Thèse de Doctorat en Pharmacie. *Université de Limoges*, p 136.
- Ruiz-Matute, A.I., Brokl, M., Soria, A.C., Sanz, M.L., & Martinez-Castro, I. (2010).** Gas chromatographic-mass spectrometry characterisation of tri and tetrasaccharides in honey. *Food Chemistry*, 120, 637-642.
- Sagdic, O., Silici, S., & Ekici, L. (2013).** Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *International Journal of Food Properties*, 16(3), 658–666.
- Sajid, M., Yamin, M., Asad, F., Yaqub, S., Ahmad, S., Mubarik, M. A. M. S., Ahmad, B., Ahmad, W., & Qamer, S. (2020).** Comparative study of physio-chemical analysis of fresh and branded honeys from Pakistan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 173–176.
- Sakač, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Pezo, L. L., Kevrešan, Ž. S., Novaković, A. R., & Nedeljković, N. M. (2019).** Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food Chemistry*, 276, 15–21.

- Salaheen, S., Jaiswal, E., Joo, J., Peng, M., Ho, R., OConnor, D., Adlerz, K., Aranda Espinoza, J.H., & Biswas, D. (2016).** Bioactive extracts from berry byproducts on the pathogenicity of *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 128-135.
- Santos, T. C. dos, Gomes, T. M., Pinto, B. A. S., Camara, A. L., & Paes, A. M. A. (2018).** Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 1192(9), 1-14.
- Santos, J. S., Alvarenga Brizola, V. R., & Granato, D. (2017).** High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application. *Food Chemistry*, 214, 515–522.
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Kim, J. K., & Park, S. U. (2020).** An update on biosynthesis and regulation of carotenoids in plants. *South African Journal of Botany*, 2020, 1-13.
- Saso, L. Valentini, G., Casini, M.L., Grippa, E., Gatto, M.T., Leone, M.G., & Silvestrini, B. (2001).** Inhibition of heat-induced denaturation of albumin by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Pharmacological implications, *Archives of Pharmacal Research*, 24,150–158.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., & Toth-Markus, M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8–9), 1023–1029.
- Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010).** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2), 391–397.
- Seraglio, S.K.T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L.V., Fett, R., & Costa, A.C.O. (2019).** An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food Research International*, 119, 44–66.
- Serrano, S., Espejo, R., Villarejo, M. & Jodral, M. L. (2007).** Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 76-79.

- Sesta, G., Piana, M.L., Oddo, L.P., Lusco, L. & Belligoli, P. (2008).** Methyl anthranilate in citrus honey. Analytical method and suitability as a chemical marker. *Apidologie*, 39, 344-342.
- Shen, S., Wang, J., Chen, X., Liu, T., Zhuo, Q., & Zhang, S. (2019).** Evaluation of cellular antioxidant components of honeys using UPLC-MS/MS and HPLC-FLD based on the quantitative composition-activity relationship. *Food Chemistry*, 293, 169–177.
- Shamsudin, S., Selamat, J., Sanny, M., Abd. Razak, S.-B., Jambari, N.N., Mian, Z., & Khatib, A. (2019).** Influence of origins and bee species on physicochemical, antioxidant properties and botanical discrimination of stingless bee honey. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 239–264.
- Shapla, U. M., Solayman, Md., Alam, N., Khalil, Md. I., & Gan, S. H. (2018).** 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 35.
- Silva, T.M.S., dos Santos, F.P., Evangelista-Rodrigues, A., da Silva, E.M.S., da Silva, G.S., de Novais, J.S., Dos Santos, F.A.R., & Camara, C.A. (2013).** Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(1), 10–18.
- Sivakesava, S., & Irudayaraj, J. (2001).** Prediction of inverted cane sugar adulteration of honey by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Food Science*, 66(7), 972–978.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191–198.
- Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996).** Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1), 1–26.
- Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005).** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research*, 579, 200–213.
- Sousa, J. M., de Souza, E. L., Marques, G., Meireles, B., de Magalhães Cordeiro, Â. T., Gullón, B., & Magnani, M. (2016).** Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Meliponini in the Brazilian semiarid region. *Food Research International*, 84, 61–68.

- Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., & Castilho, P. C. (2020).** Inhibition of α -amylase, α -glucosidase and pancreatic lipase by phenolic compounds of *Rumex maderensis* (*Madeira sorrel*). Influence of simulated gastrointestinal digestion on hyperglycaemia-related damage linked with aldose reductase activity and protein glycation. *LWT - Food Science and Technology*, *118*, 108727.
- Stahl W. & Sies H. (2004).** Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1740*, 101-107.
- Sun, N.-N., Wu, T.-Y., Chau, C.-F. (2016).** Natural dietary and herbal products in antiobesity treatment, *Molecules*. *21*, 1351.
- Sungthong, B., & Phadungkit, M. (2015).** Anti-tyrosinase and DPPH radical scavenging activities of selected Thai herbal extracts traditionally used as skin toner. *Pharmacognosy Journal*, *7*(2), 97–101.
- Szwajgier, D. (2014).** Anticholinesterase activities of selected polyphenols—A short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *64*(1), 59–64.
- Tahir, H.E., Zou, X., Li, Z., Shi, J., Zhai, X., Wang, S., & Mariod, A.A. (2017).** Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry*, *226*, 202–211.
- Temizer, I.K., Güder, A., Temel, F.A., & Cüce H. (2018).** Antioxidant activities and heavy metal contents of *Castanea sativa* honey. *Global NEST Journal*, *20*(3), 541-550.
- Terrab, A., & Heredia, F. J. (2004).** Characterisation of avocado (*Persea americana* Mill) honeys by their physicochemical characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(13), 1801–1805.
- Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, *79*(3), 373–379.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., & Sokmen, A. (2006).** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, *95*(2), 200–204.
- Teyssier P. (2005).** Le miel : objectif qualité. *Fruits & Abeilles*, 275-277.

- Tewari, J., & Irudayaraj, J. (2004).** Quantification of saccharides in multiple floral honeys using Fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3237-3243.
- Tiwari, R., & Rana, C. S. (2015).** Plant secondary metabolites: A review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661-670.
- Tumin, N., Halim, N.A.A., Shahjahan, M., Sattar, M.A., Khan, A.H., & Mohsin, S.S.J. (2005).** Antibacterial activity of local Malaysian honey. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 1-10.
- Uchida, R., Ishikawa, S., & Tomoda, H. (2014).** Inhibition of tyrosinase activity and melanine pigmentation by 2-hydroxytyrosol. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(2), 141-145.
- Velázquez, T. G., Revilla, G. O., Loa, M. Z., & Espinoza, Y. R. (2009).** Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys. *Food Research International*, 42, 313-318.
- Voidarou, C., Alexopoulos, A., Plessas, S., Karapanou, A., Mantzourani, I., Stavropoulou, E., Fotou, K., Tzora, A., Skoufos, I., & Bezirtzoglou, E. (2011).** Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Anaerobe*, 17(6), 375-379.
- Volvolà, L., & Celechovska, O. (2002).** Activity of enzymes and trace element content in bee honey. *Acta Veterinaria Brno*, 71, 375-378.
- Waheed, M., Hussain, M. B., Javed, A., Mushtaq, Z., Hassan, S., Shariati, M. A., Khan, M. U., Majeed, M., Nigam, M., Mishra, A. P., & Heydari, M. (2019).** Honey and cancer: A mechanistic review. *Clinical Nutrition*, 38(6), 2499-2503.
- Wali, A. F., Jabnoun, S., Razmpoor, M., Akbar, I., Al-Dhaheri, Y., Khan, A., Alshahrani, S., Alhazmi, H. A., & Imtiyaz, Z. (2020).** Chrysin, an important active ingredient of honey: Beneficial pharmacological activities and molecular mechanism of action. *Therapeutic Applications of honey and its phytochemicals*, 2020, 409-432.
- Wang, H., Gao, X., Zhou, G., Cai, L., & Yao, W. (2008).** *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106(3), 888-895.

- Wiercigroch, E., Szafraniec, E., Czamara, K., Pacia, M. Z., Majzner, K., Kochan, K., Kaczor, A., Baranska, M., & Malek, K. (2017).** Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *185*, 317–335.
- Wilczyńska, A. (2010).** Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *60*(4), 309-313.
- Williams, L.A.D., O'Connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., & Kraus, W. (2008).** The *in vitro* anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process, *West Indian Medicine Journal*, *57*, 327–331.
- Wollenweber E., Wehde R., Dorr M., Lang G. & Stevens J.F. (2000).** C-methyl-flavonoids from the leaf waxes of some *Myrtaceae*. *Phytochemistry*, *55*, 965–970.
- Wong, S. P., Leong, L. P., & William Koh, J. H. (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, *99*, 775-783.
- Xie, L., Su, H., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018).** Recent advances in understanding the anti-obesity activity of anthocyanins and their biosynthesis in microorganisms. *Trends in Food Science & Technology*, *72*, 13–24.
- Yang, M. H., Chin, Y. W., Yoon, K. D., & Kim, J. (2014).** Phenolic compounds with pancreatic lipase inhibitory activity from Korean yam (*Dioscorea opposita*). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *29*(1), 1-6.
- Yen, F.-S., Wei, J. C.-C., Lin, M.-C., Hsu, C.-C., & Hwu, C.-M. (2021).** Long-term outcomes of adding alpha-glucosidase inhibitors in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *BMC Endocrine Disorders*, *21*(1), 1-10.
- Zaidi, H., Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Debbache, N., Pacheco, R., Serralheiro, M.L., & Araujo, M.E. (2019).** Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys-The inhibition of acetylcholinesterase and α -glucosidase activities. *European Journal of Integrative Medicine*, *25*, 77–84.

Zam, W., Harfouch, R., Mais, A. D., & Rand, K. (2018). Anti-*Staphylococcus aureus* efficacy of six natural honey samples originated from Syria. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 23.

Sites internet

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistic) :

<https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Données de 2019).

ITEV (Institut Technique des Élevages) :

<http://www.itelv.dz/index.php/elevages.html> (Données de 2020).

Productions scientifiques

Productions scientifiques

Publications scientifiques

Amar Otmani, Nadia Amessis-Ouchemoukh, Ceren Birinci, Sonia Yahiaoui, Sevgi Kolayli, Maria Shantal Rodríguez-Flores, Olga Escuredo, Maria Carmen Seijo and Salim Ouchemoukh. (2021). Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys. *Food Bioscience*, 42, 101070.

Amessis-Ouchemoukh Nadia, Maouche Nacera, **Otmani Amar**, Terrab Anass, Madani Khodir, Ouchemoukh Salim. (2021). Evaluation of Algerian's Honey in Terms of Quality and Authenticity Based on the Melissopalynology and Physicochemical Analysis and Their Antioxidant Powers. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 14(3), 305-324.

Communications

Communications internationales

Otmani A., Salim Ouchemoukh, Maria Eduarda Araújo. Phenolic compounds of propolis : optimization of extraction by response surface methodology recovery. 27th meeting of the Portuguese Chemical Society, Braga, Portugal. July 14-16, 2021.

Otmani A., Salim Ouchemoukh, Maria Eduarda Araújo. Detection of the adulteration of honey with sucrose solutions by FTIR spectroscopy. 10th Congress of analytical chemistry of the Portuguese Chemical Society, Lisbon, Portugal. October 26-28, 2020.

Otmani A., Zaidi H., Amessis-ouchemoukh N., Ouchemoukh S. Chemical composition, authentication parameters and biological properties of some Algerian honeys. 5^{ème} Congrès International de la Biodiversité Végétale et de la Biotechnologie, Marrakech, Maroc. April 26-28, 2018.

Amessis-ouchemoukh N., Ouchemoukh S., Ayad R., **Otmani A.**, Bedjih F., Zaidi H., Madani K. Caractéristiques physicochimiques et propriétés antioxydantes de quelques miels d'Algérie. 5^{ème} Congrès International de la Biodiversité Végétale et de la Biotechnologie, Marrakech, Maroc. April 26-28, 2018.

Ouchemoukh S., Amessis N., Zaidi H., **Otmani A.**, Bedjih F. Pollen and chemical analysis of some Algerian honey. Conférence Internationale « Les Produits Du Terroir : Un Outil du Développement de l'Agriculture de Montagnes », Chemini (Bejaia), Algérie. 15 et 16 Décembre 2018.

Otmani A., Ouchmoukh S., Yahiaoui S. Pollen analysis and antibacterial activity of some Algerian honeys. Séminaire International des Sciences Alimentaires, Constantine, Algeria. October 15 and 16, 2018.

Yahiaoui S., Kati D., **Otmani A.**, Optimization of phenolic compound Recovery and antioxydant activity of roots of fig tree (*Ficus carica L.*). Séminaire International des Sciences Alimentaires, Constantine, Algeria. October 15 and 16, 2018.

Communications nationales

Otmani A et Ouchmoukh S. Propriétés Biologiques des Miels Algériens. Journées Doctoriales sur l'Innovation et le Transfère de technologie. Université A. Mira de Bejaia, Bejaia, Algérie. 15 et 16 Juillet 2019.

Ouchmoukh S., Bedjih F., Amessis-ouchemoukh N., **Otmani A.**, Zaidi H. Abeilles mellifères et composition du miel. 4^{èmes} Journées d'Etude Nationale sur la Zoologie Appliquée et l'Ecophysiologie Animale. Université A. Mira de Bejaia, Bejaia, Algérie. 23 et 24 Octobre 2018.

Otmani A., Ouchmoukh S., Yahiaoui S. Analyse pollinique et pouvoir antimicrobien de quelques miels de centre d'Algérie. 4^{ème} journées SNV. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Bejaia, Algérie. 03 et 04 Octobre 2018.

Otmani A., Ouchmoukh S., Yahiaoui S. Etude comparative du pouvoir antioxydant de quelques miels algériens et d'importation. Séminaire National sur la nutrition et la santé publique. Université de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie. 20 et 21 Septembre 2018.

Yahiaoui S., Kati D., **Otmani A.** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques et l'activité antioxydante des racines de figuier (*Ficus carica L.*) par la méthode de surface de repense. Séminaire National sur la nutrition et la santé publique. Université de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie. 20 et 21 Septembre 2018.

Otmani A., Ouchmoukh S., Yahiaoui S. Etude comparative de quelques miels Algériens et d'importation. Séminaire national de Biochimie et Doctoriales de Biologie et santé. Université Saad Dahalb de Blida, Blida, Algérie. 19 et 20 Juin 2018.

Yahiaoui S., **Otmani A.**, Abedrahim S. Evaluation de la toxicité aigüe des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sur des souris *albinos wistar*. Séminaire national de Biochimie et Doctoriales de Biologie et santé. Université Saad Dahalb de Blida, Blida, Algérie. 19 et 20 Juin 2018.

Otmani A., Ouchemoukh S. Analyse physicochimique et détermination de la teneur en protéines et proline de quelques miels Algériens. Séminaire nationale : Durabilité au Service de notre Alimentation, Santé et Environnement. Université A. Mira de Bejaia. 15 et 16 Janvier 2018.

Otmani A., Ouchemoukh S. Teneur en antioxydant et activité antioxydante de quelques miels Algériens. Séminaire Nationale : Nutrition et Santé Publique (1^{ère} Edition). Université de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie. 20 et 21 Décembre 2017.



Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys

Amar Otmani^{a,*}, Nadia Amessis-Ouchemoukh^b, Ceren Birinci^c, Sonia Yahiaoui^a,
Sevgi Kolayli^c, Maria Shantal Rodríguez-Flores^d, Olga Escuredo^d, Maria Carmen Seijo^d,
Salim Ouchemoukh^{a,**}

^a Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences de La Nature et de La Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria

^b Laboratoire de Biomathématique, Biochimie, Biophysique et Scientométrie, Faculté des Sciences de La Nature et de La Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria

^c Department of Chemistry, Faculty of Science, Karadeniz Technical University, Trabzon, 61080, Turkey

^d Department of Vegetal Biology and Soil Sciences, Faculty of Sciences, University of Vigo, Ourense, 32004, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Algerian honey
Bioactive compounds
Antioxidant activity
Antibacterial activity
Apis mellifera

ABSTRACT

Twenty-six samples of Algerian honeys were analyzed to determine their color intensity, content of bioactive compounds using colorimetric methods and phenolic profile using a high-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) analysis. The antioxidant activities of the samples were estimated using 6 methods (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid free radicals scavenging, reducing power, chelating ferrous activity, nitric oxide radical scavenging assay and β -carotene bleaching) and the antibacterial power was determined *in vitro* using agar diffusion tests and measuring minimal inhibitory concentration. The color of honeys ranged from light yellow to dark amber with an intensity ranging from 350 to 1510 mAU. The highest content of total polyphenols, flavonoids, carotenoids and vitamin C and the best antioxidant activity was obtained from dark honeys. Sixteen phenolic compounds (8 phenolic acids and 8 flavonoids) were quantified. The antibacterial tests showed that *Staphylococcus aureus* was the most sensitive strain compared to *Salmonella typhi*. The results allowed establishing a quantitative phenolic profile of Algerian honeys. The bioactive compounds, the antioxidant and antibacterial activities, of honey did not depend on its monofloral or polyfloral nature, but rather on the type of flowers foraged by the bees and its geographical origin. The dark color of honey is a good indicator of a higher antioxidant content and the best biological properties.

1. Introduction

Honey is a nutritional complex that contains >200 substances. It is mainly composed of sugars and many minor components such as organic acids, proteins, enzymes, amino acids, volatile compounds and minerals (Da Silva et al., 2016; Seraglio et al., 2019). Honey is also a source of several bioactive components, including phenolic compounds, vitamins and carotenoids. More than 5000 phenolic compounds have been reported in honey and most of these compounds are in the form of flavonoids, the major ones being: apigenin, pinocembrin and quercetin. There are also phenolic acids such as caffeic, ferulic, coumaric and benzoic acids (Canadanović-Brunet et al., 2014; Liu et al., 2013; Zaidi et al., 2019). Honey is not only a sweet food but also a medicinal product

because it has several biological properties (antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, healing and anti-cancer activities) (Nguyen et al., 2018; Oryan et al., 2016). The components of honey, particularly flavonoids and phenolic acids, contribute significantly to its pharmacological properties, many of them working together to provide a combined effect. In general, darker colored honey contains higher concentrations of these compounds and has more and stronger biological properties (Bodó et al., 2020; Gheldof et al., 2002). Numerous studies have shown that the content of phenolic compounds in honey correlates with antioxidant and antibacterial activities (Can et al., 2015; Doukani et al., 2014). Honey is a natural source of antioxidants and it provides the human body with exogenous molecules capable of preventing auto-oxidation reactions and neutralizing free radicals by

* Corresponding author. Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, Route de Targa Ouzemmour 06000 Bejaia, Algeria.

** Corresponding author.

E-mail addresses: amar.otmani@univ-bejaia.dz (A. Otmani), salim.ouchemoukh@univ-bejaia.dz (S. Ouchemoukh).

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101070>

Received 24 March 2020; Received in revised form 11 March 2021; Accepted 12 March 2021

Available online 2 June 2021

2212-4292/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Table 1
Harvest regions and results of color intensity and antibacterial activity of honeys studied.

Sample	Botanical origin		Geographic origin	Altitude (m)	Crop year	Sensory characteristics		Color intensity ABS ₄₅₀ (x 10 mAU)	Antibacterial activity					
	Dominant pollen	Region				Color	Consistency		<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028			<i>Staphylococcus aureus</i> FRI S6		
			IZD (mm)	SS	MIC (% w/v)			IZD (mm)	SS	MIC (% w/v)				
H02	Monofloral	<i>Fabaceae</i>	Skikda	140	2017	Pale yellow	Liquid	66 ± 0 ^f	–	NS	68 ± 1 ^d	14 ± 1 ^{de}	S	53 ± 3 ^f
H04		<i>Ericaceae</i>	Jijel	200	2017	Dark brown	Liquid	148 ± 1 ^a	14 ± 1 ^b	S	56 ± 2 ^{ef}	19 ± 1 ^b	VS	49 ± 2 ^f
H05		<i>Myrtaceae</i>	Jijel	40	2016	Dark brown	Liquid	148 ± 2 ^a	16 ± 1 ^a	VS	49 ± 2 ^f	21 ± 1 ^a	ES	47 ± 3 ^{fg}
H06		<i>Fabaceae</i>	Sétif	800	2017	Yellow	Liquid	61 ± 1 ^g	10 ± 2 ^e	S	76 ± 1 ^d	9 ± 1 ^f	S	94 ± 5 ^b
H12		<i>Apiaceae</i>	Tizi-Ouzou	200	2016	Light brown	Liquid	93 ± 1 ^d	12 ± 1 ^{cd}	S	74 ± 0 ^d	15 ± 1 ^{cd}	VS	70 ± 8 ^e
H13		<i>Apiaceae</i>	Tizi-Ouzou	160	2016	Pale yellow	Solid	46 ± 2 ^j	12 ± 1 ^{cd}	S	94 ± 5 ^c	13 ± 1 ^e	S	73 ± 5 ^e
H14		<i>Fabaceae</i>	Tizi-Ouzou	200	2017	Pale yellow	Solid	43 ± 2 ^k	–	NS	110 ± 10 ^b	2 ^f	S	88 ± 1 ^{bed}
H15		<i>Apiaceae</i>	Tizi-Ouzou	480	2017	Yellow	Liquid	58 ± 1 ^h	11 ± 1 ^{de}	S	96 ± 2 ^c	14 ± 1 ^{de}	S	91 ± 3 ^{bc}
H18		<i>Brassicaceae</i>	Djelfa	1200	2017	Yellow	Solid	55 ± 1 ⁱ	–	NS	130 ± 10 ^b	–	NS	83 ± 2 ^d
H20		<i>Myrtaceae</i>	Ain Defla	400	2017	Yellow	Solid	69 ± 2 ^e	13 ± 1 ^{bc}	S	58 ± 0 ^e	15 ± 1 ^{cd}	VS	52 ± 3 ^f
H22		<i>Fabaceae</i>	Chlef	200	2017	Brown	Liquid	116 ± 3 ^b	12 ± 1 ^{cd}	S	56 ± 0 ^{ef}	19 ± 1 ^b	VS	40 ± 3 ^g
H23		<i>Apiaceae</i>	El Bayadh	1320	2017	Brown	Liquid	101 ± 4 ^c	13 ± 1 ^{bc}	S	59 ± 2 ^e	16 ± 1 ^c	VS	86 ± 10 ^{cd}
H25		<i>Fabaceae</i>	Naâma	1200	2017	Pale yellow	Solid	35 ± 0 ^l	–	NS	190 ± 10 ^a	–	NS	127 ± 2 ^a
						Mean ± SD		80 ± 37^α	9 ± 6^α		83 ± 40^α	13 ± 6^α		73 ± 25^α
H01	Polyfloral		Skikda	160	2017	Light brown	Liquid	76 ± 1 ^f	12 ± 2 ^b	S	86 ± 2 ^d	11 ± 1 ^e	S	86 ± 1 ^d
H03			Batna	1100	2016	Brown	Liquid	102 ± 2 ^c	8 ± 1 ^d	S	91 ± 4 ^{cd}	–	NS	95 ± 1 ^c
H07			Sétif	960	2017	Light brown	Liquid	76 ± 0 ^f	14 ± 1 ^a	S	55 ± 1 ^h	15 ± 1 ^c	VS	42 ± 2 ^h
H08			Bejaia	300	2016	Light brown	Liquid	90 ± 1 ^d	8 ± 1 ^d	S	73 ± 0 ^f	12 ± 1 ^{de}	S	53 ± 3 ^g
H09			Bejaia	1000	2016	Brown	Liquid	104 ± 1 ^c	10 ± 1 ^c	S	71 ± 4 ^f	16 ± 1 ^c	VS	37 ± 2 ⁱ
H10			Bejaia	100	2016	Dark brown	Liquid	137 ± 4 ^b	–	NS	63 ± 3 ^g	19 ± 1 ^b	VS	36 ± 2 ⁱ
H11			Bordj Bouarreridj	1000	2017	Dark amber	Liquid	151 ± 1 ^a	14 ± 1 ^a	S	53 ± 1 ^h	21 ± 2 ^a	ES	30 ± 1 ^j
H16			Tizi-Ouzou	700	2017	Light brown	Liquid	75 ± 1 ^f	12 ± 1 ^b	S	87 ± 3 ^d	13 ± 1 ^d	S	74 ± 4 ^f
H17			Boumerdès	180	2017	Light brown	Liquid	87 ± 2 ^e	8 ± 1 ^d	NS	89 ± 3 ^{cd}	11 ± 1 ^e	S	76 ± 4 ^{ef}
H19			Médéa	800	2016	Pale yellow	Solid	38 ± 1 ⁱ	–	NS	94 ± 1 ^{bc}	–	NS	100 ± 1 ^b
H21			Ain Defla	600	2017	Pale yellow	Liquid	40 ± 1 ⁱ	13 ± 1 ^{ab}	S	80 ± 2 ^e	11 ± 1 ^e	S	73 ± 4 ^f
H24			Mostaganem	200	2017	Yellow	Solid	70 ± 0 ^g	–	NS	97 ± 6 ^b	11 ± 1 ^e	S	79 ± 3 ^e
H26			Tlemcen	740	2016	Pale yellow	Liquid	44 ± 0 ^h	–	NS	260 ± 10 ^a	–	NS	124 ± 3 ^a
						Mean ± SD		84 ± 33^α	9 ± 5^α		92 ± 50^α	11 ± 7^α		70 ± 28^α

mAU: milli absorbance units; IZD: inhibition zones diameter; MIC: minimal inhibitory concentration; SS: scale of sensitivity; ES: extremely sensitive; VS: very sensitive; S: sensitive; NS: non-sensitive.

various mechanisms. The enzymatic (catalase, glucose oxidase and peroxidase) and non-enzymatic (ascorbic acid, flavonoids, carotenoids and phenolic acids) antioxidants in honey have the capacity to inhibit chain oxidation reactions that are responsible for several pathologies such as atherosclerosis, cancer, cardiovascular diseases, cataracts, muscle degeneration, impaired wound healing and gastrointestinal inflammatory diseases (Al et al., 2009; Aljadi & Kamaruddin, 2004).

Honey also has a broad spectrum of antibacterial activity and inhibits about 60 Gram-positive and Gram-negative bacterial species (Ghramh et al., 2019). Several studies have reported antibacterial properties of honey against *Aspergillus nidulans*, *Salmonella typhimurum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* (Al-Waili et al., 2013; Hegazi et al., 2017). The antibacterial activity is due to both

physicochemical parameters (acidity, high osmotic pressure and low water activity) and hydrogen peroxide, which is generated by the oxidation of glucose by the glucose oxidase in honey. However, the most important antibacterial factor in honey remains the non-peroxide inhibitors including phenolic acids (cinnamic acids and their esters) and flavonoids (hesperetin and rutin) (Cheng et al., 2017; Moreira et al., 2008). The main objectives of this study were the evaluation of antioxidant and antibacterial powers, the quantification of some bioactive compounds (phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and vitamin C) using colorimetric methods and the characterization using reversed phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC) of phenolic acids and flavonoids of honey samples from different regions of Algeria.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and standards

Folin-Ciocalteu reagent, sodium carbonate, sodium nitrite, aluminum chloride and sodium hydroxide, disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) were supplied by Biochem Chemopharm Co. (Nièvre, France). Dichlorophenol-indophenol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), potassium hexacyanoferrate, trichloroacetate, ferric chloride, iron (II) chloride, ferrozine, sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride, linoleic acid, butylated hydroxytoluene (BHT), sodium nitroprussiate and β -carotene (β -carot) were obtained from Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

Organic solvents such as methanol and ethanol were supplied by Merck KGaA Co. (Darmstadt, Germany). Hexane, acetone, oxalic acid, chloroform, diethyl ether and ethyl acetate came from Panreac Co. (Barcelona, Spain). Acetonitrile, acetic acid, phosphoric acid and Tween 40 were supplied by Sigma Aldrich. Chemical standards were pure HPLC grade (phenolic acids: caffeic, caffeic acid phenethyl ester (CAPE), ferulic, *p*-coumaric, *p*-OH benzoic, protocatechuic, syringic and *t*-cinnamic acids; flavonoids: catechin, chrysin, daidzein, epicatechin, hesperetin, luteolin, myricetin, pinocembrin and rutin) were obtained from Sigma Aldrich Co. (Munich, Germany). The HPLC syringes filters (regenerated cellulose (RC) membrane, 0.45 μm) were purchased from Sartorius (Model Minisart RC 15, Sartorius Co., Goettingen, Germany). Gallic acid (GA) quercetin (Q) and ascorbic acid (AA) were obtained from Sigma Aldrich.

2.2. Samples

Twenty-six honey samples were collected by beekeepers from different regions of Algeria and stored in the laboratory at 20 ± 2 °C in the dark until analysis a maximum of 6 months. The regions and year of harvest as well as the botanical origin of the different samples are shown in Table 1.

2.3. Pollen analysis

Pollen analysis was done using the method of Louveaux et al. (1978). Aliquots of 12 mL 30% (w/v) aqueous honey solution were centrifuged at $1800 \times g$ (4500 rpm in a BRK5406 rotor, Model K2015R, Centurion Scientific Co., Chichester, UK) for 10 min at 4 °C. The pellet was recovered and 10 mL of distilled water was added, then a second centrifugation was carried out using the same conditions. A slide (Model 5916000, Bresser Co., Rhede, Germany) containing 100 μL of the solution was prepared. The results were obtained by observation with an optical microscopy (Model DM-15, Optika Co., Bergamo, Italy).

2.4. Color intensity (ABS_{450})

Color intensity was determined using the method of Beretta et al.

(2005). A 50% (w/v) honey solution was prepared with lukewarm water between 45 and 50 °C. After filtration using a filter paper (No. 1, Whatman Co., Maidstone, UK), the absorbance was measured using a spectrophotometer (Model Genesys 50 UV-Vis, Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, MA, USA). The net absorbance was determined as the difference between the absorbance at 450 and 720 nm and the results were expressed in milli absorbance units (mAU).

2.5. Antioxidant contents

2.5.1. Total phenolic compounds (TPC)

The TPC contents was determined using the method of Naithani et al. (2006). Aliquots of 100 μL 10% (w/v) aqueous honey solution were mixed with 100 μL 50% (v/v) Folin-Ciocalteu reagent and 2 mL 2% (w/v) sodium carbonate. After 30 min of incubation, the absorbance was measured at 750 nm. The results were expressed as mg GA equivalents (E)/100 g of honey using the GA calibration curve ($y = 2.79x + 0.02$; $R^2 = 0.998$).

2.5.2. Total flavonoids (TF)

Using the protocol described by Al et al. (2009), p. 1 mL 12.5% (w/v) aqueous honey solution was mixed with 0.3 mL 5% (w/v) sodium nitrite. After 5 min, 0.3 mL 10% (w/v) aluminum chloride was added. Six min later, 2 mL 4% (w/v) sodium hydroxide were added. The absorbance was measured at 510 nm and the results were expressed in mg Q E/100 g of honey using the Q calibration curve ($y = 1.58x + 0.02$; $R^2 = 0.999$).

2.5.3. Total carotenoids (TC)

Using the protocol described by Sass-Kiss et al. (2005), p. 4 g of honey was dissolved in 10 mL of a mixture of hexane, acetone and ethanol with a ratio of 2:1:1. The preparation was centrifuged at $3200 \times g$ (5500 rpm) for 15 min at 4 °C. The absorbance of the supernatant was measured at 430 nm and the results were expressed in μg β -carot E/kg of honey using the β -carot calibration curve ($y = 62.42x + 0.002$; $R^2 = 0.999$).

2.5.4. Vitamin C

The AA content was determined using the method of Mau et al. (2005). Honey (2 g) was dissolved in 20 mL 1% (w/v) of the oxalic acid solution and after stirring for 10 min, the mixture was filtered through filter paper (Whatman). Then 0.5 mL of filtrate was mixed with 2.5 mL 0.004% (w/v) of the dichlorophenol-indophenol solution and the absorbance was measured at 515 nm. The results were expressed as μg AA E/100 g honey using the AA calibration curve ($y = 4080x - 1.38$; $R^2 = 0.999$).

2.6. Antioxidant activities

2.6.1. DPPH radical scavenging assay

The DPPH radical test was determined using the method described by Meda et al. (2005). Honey solution (0.5 mL 2.5% (w/v)) was mixed with 1 mL 0.06 mM DPPH methanolic solution. After 15 min of incubation, the absorbance of the solution was measured at 517 nm and the percentage of inhibition was calculated as:

$$\text{Percent inhibition (\%)} = \left(\frac{A_C - A_S}{A_C} \right) \times 100$$

Where A_C : absorbance of control and A_S : absorbance of the sample.

2.6.2. ABTS radical scavenging assay

The ABTS radical assay was determined using the protocol described by Re et al. (1999). Aliquots of 0.1 mL 2.5% (w/v) honey solution were mixed with 1 mL 7 mM ABTS methanolic solution. The absorbance was measured at 734 nm after 7 min of incubation. The percentage of radical inhibition was calculated as:

$$\text{Percent inhibition (\%)} = \frac{[A_C - A_S]}{A_C} \times 100$$

Where A_C : absorbance of control and A_S : absorbance of the sample.

2.6.3. Reducing power

The evaluation of the reducing power of honeys was carried out using the method of Li and Lin (2010). Aliquots of 500 μL 5% (w/v) honey solution were mixed with 500 μL 0.2 M phosphate buffer (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , pH 6.6) and 500 μL 1% potassium hexacyanoferrate. After incubation for 20 min in a water bath at 50 °C, 500 μL 10% trichloroacetate was added to the mixture and 500 μL was diluted in 800 μL of distilled water. Then 100 μL 0.1% ferric chloride were added and after 10 min, the absorbance was measured at 700 nm. The results were expressed as the antioxidant activity: mg GA antioxidant (A) E/100 g of honey using the GA calibration curve ($y = 28.92x + 0.001$; $R^2 = 0.999$).

2.6.4. Chelating ferrous activity

The Fe^{2+} chelation of honey samples was estimated using the method described by Wang et al. (2008). Honey solution (500 μL 25% (w/v)) was mixed with 50 μL 2 mM iron (II) chloride and 1.6 mL distilled water. After 5 min, 100 μL 5 mM ferrozine methanolic solution was added. After 5 min of incubation, the absorbance was measured at 562 nm. The chelating activity of honey samples was calculated as:

$$\text{Chelating activity (\%)} = \frac{1 - [A_1 - A_2]}{A_0} \times 100$$

Where A_0 : control absorbance (without honey sample), A_1 : absorbance in the presence of honey sample and A_2 : absorbance without ferrozine.

2.6.5. Nitric oxide radical using a scavenging assay (NORS)

The NORS test was done using a 96-well microplate using the protocol of Francis and Andrew (2010), with minor modifications. Aliquots of 100 μL 5 mM sodium nitroprussiate solution prepared in a saline phosphate buffer (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , pH 7.3) were added to 100 μL of each honey dilution (50, 25, 12.5, 6.25 and 3.12%). Then, the mixtures were incubated under polychromatic visible light (25 W tungsten lamp, Philips Co., Paris, France) for 180 min at 25 °C and 100 μL of Griess reagent (1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid and 0.1% N-1-naphthylene diamine dihydrochloride) was added. After 20 min of incubation, the absorbance was measured at 546 nm using a microplate reader (Model Synergy HTX Multi-mode Reader, Bio Tek® Co., Winooski, VT, USA). The results of the NORS test were as half maximal inhibitory concentration expressed (IC_{50}). The percentage of inhibition was calculated as:

$$\text{Percent inhibition (\%)} = \frac{[A_C - A_S]}{A_C} \times 100$$

Where A_C : absorbance of control and A_S : absorbance of the sample.

The IC_{50} was determined by linear regression analysis of the percentage inhibition versus concentration curve.

2.6.6. B-carot bleaching assay

The test was done using the method of Tepe et al. (2006). The emulsion was prepared by dissolving 2 mg of β -carot in 1 mL of chloroform. The resulting solution was subsequently introduced into a flask containing 2 mg of linoleic acid and 200 mg of Tween 40. After evaporation at 40 °C of the chloroform using a rotary evaporator (Model Hei-VAP, Precision (HL), Heidolph Co., Schwabach, Germany), 100 mL of oxygen saturated distilled water was added with vigorous agitation. Solution (2.5 mL) was added to 350 μL 50% (w/v) honey solution or BHT solution (2 mg mL^{-1}). A tube containing 2.5 mL of emulsion and 350 μL of distilled water was used as a negative control. Absorbance was measured at 470 nm using the spectrophotometer at different time intervals (0, 2, 4, 6, 12 and 48 h). The relative anti-oxidant activity after 48 h was calculated as:

$$\text{AAR (\%)} = \frac{A_E}{A_{\text{BHT}}} \times 100$$

Where AAR: relative antioxidant activity, A_E : absorbance of the sample after 48 h and A_{BHT} : absorbance of BHT after 48 h.

2.7. Determination of phenolic compounds using HPLC-UV

2.7.1. Extraction of phenolic compounds

Liquid-liquid extraction of the phenolic compounds was carried out using the protocol described by Akyuz et al. (2014). Honey (3 g) was dissolved in 30 mL of ethanol (70%) then the solution was agitated for 24 h. After filtration using Whatman No. 1, 15 mL of filtrate was collected and the solvent was evaporated using a rotary evaporator (Heidolph) at 40 °C. Then, 10 mL of distilled water (pH 2) was added and the solution was homogenized in the ultrasonic water bath (Model AL04-45, Advantage-Lab Co., Menen, Belgium) for 1 min, with frequency of 40 KHz, power of 50% and temperature of 45 °C. Then, 15 mL of diethyl ether was added. After stirring for 15–20 min, the organic phase was recovered and 15 mL of ethyl acetate was added to the aqueous phase, then it was homogenized for 15–20 min and the organic phases were combined. The solvent was evaporated with the rotary evaporator and the dry residue was redissolved in methanol (2 mL).

2.7.2. HPLC-UV analysis

The HPLC-UV analysis was done on a HPLC (Elite LaChrom Hitachi L-2300, Hitachi Co., Tokyo, Japan), with a UV-Vis detector. The analyses were carried out using a reverse phase C18 column (4.6 \times 150 mm; particle size: 5 μm ; Fortis Co., Neston, UK). Elution of the mobile phase was done with 2% v/v acetic acid (solvent A) and 30–70% v/v acetonitrile (solvent B) and the following linear gradient was applied: 0–3 min, 5% B; 8 min, 15% B and 10 min, 20% B. Sample and standard injections volumes were adjusted to 25 μL , mobile phase flow rate was adjusted to 1.2 mL min^{-1} and column temperature was adjusted to 30 °C (Ozturk et al., 2015). Phenolic compounds in honey were identified by matching their UV spectra with those of the standards and were quantified using a calibration curve established with 7 dilutions of each standard at concentrations of 0.31, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, and 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The detection wavelength was 250 for isoflavone (daidzein), 280 nm for flavanones (hesperetin and pinocembrin) and flavanols (catechin and epicatechin), 315 nm for hydroxycinnamic acid derivatives (t-cinnamic, p-coumaric, caffeic and caffeic phenethyl ester acids) and flavones (luteolin and chrysin), 350 for flavonols (myricetin and rutin) and 360 nm for hydroxybenzoic acid derivatives (p-OH benzoic, protocatechuic and syringic acids).

2.8. Antibacterial activity

2.8.1. Bacterial strains

Two reference bacterial strains were used for measuring the *in vitro* antibacterial activity of honey samples, a Gram positive strain (*S. aureus* FRI S6) and a Gram negative strain (*S. typhi* ATCC 14028) obtained from the Pasteur Institute Co. (Algiers, Algeria).

2.8.2. Sensitivity test

The agar diffusion method described by Prakasita et al. (2019) was used to study the antibacterial activity. The bacterial strains were seeded on the agar surface using 0.5 McFarland turbidity inoculum ($\sim 10^8$ CFU mL^{-1}), prepared using the Vitek Densichek calibrated instrument (bioMérieux Co., Lyon, France) and the Vitek Densichek McFarland Reference Kit. The petri dishes were then left at room temperature for 15 min. Sterile absorbent discs (diameter: 6 mm, model WHA2017006, Whatman) were placed in each honey solution before being applied to the surface of the inoculated petri dishes, then these were incubated for 24 h at 37 °C. The diameter of each inhibition zone was given in mm. The honey samples were classified according to the scale of antimicrobial activity estimated (Ponce et al., 2003): non-sensitive (<8 mm), sensitive

Table 2
Results of antioxidant content and antioxidant activity.

Sample	Antioxidant content				antioxidant activity						
	TPC (mg GA E 100 g ⁻¹)	Flavonoids (mg Q E 100 g ⁻¹)	Carotenoids (x 10 µg β-carot E kg ⁻¹)	Vitamine C (x 10 µg AA E 100 g ⁻¹)	DPPH (%)	ABTS (%)	Reducing power (mg GAA E 100 g ⁻¹)	Iron chelating activity (%)	NORS IC ₅₀ (x 10 mg mL ⁻¹)	β-carotene bleaching AAR (%)	
Monofloral honey (MFH)	H02	90 ± 3 _g	9 ± 1 _{fg}	220 ± 10 _{de}	50 ± 6 _d	12 ± 1 _{fg}	17 ± 1 _f	59 ± 1 _{ef}	34 ± 3 _{de}	8 ± 0 _{ef}	67 ± 1 _e
	H04	181 ± 1 _b	28 ± 0 _a	410 ± 10 _b	220 ± 10 _a	36 ± 2 _a	54 ± 3 _a	98 ± 0 _c	28 ± 4 _f	4 ± 0 _i	86 ± 1 _{ab}
	H05	200 ± 4 _a	25 ± 1 _b	460 ± 60 _a	230 ± 10 _a	34 ± 0 _b	51 ± 1 _b	150 ± 10 _a	79 ± 3 _b	5 ± 1 _{hi}	85 ± 2 _b
	H06	90 ± 2 _g	11 ± 1 _e	110 ± 30 _{fg}	43 ± 3 _d	17 ± 1 _d	18 ± 2 _f	62 ± 2 _{de}	7 ± 1 _i	13 ± 1 _d	68 ± 2 _e
	H12	100 ± 2 _f	21 ± 1 _c	190 ± 2 _e	71 ± 3 _c	6 ± 0 _i	25 ± 1 _d	57 ± 1 _{fg}	51 ± 1 _c	29 ± 0 _b	51 ± 2 _h
	H13	85 ± 3 _{hi}	8 ± 0 _g	170 ± 10 _{ef}	49 ± 3 _d	16 ± 1 _d	24 ± 1 _{de}	58 ± 1 _{ef}	81 ± 5 _b	7 ± 1 _{fg}	62 ± 1 _f
	H14	74 ± 1 _j	5 ± 0 _h	62 ± 2 _{gh}	50 ± 8 _d	13 ± 0 _{ef}	22 ± 2 _e	53 ± 2 _{gh}	96 ± 1 _a	29 ± 0 _b	55 ± 0 _g
	H15	84 ± 2 _i	10 ± 1 _{ef}	170 ± 10 _{ef}	50 ± 6 _d	14 ± 1 _e	19 ± 1 _f	60 ± 1 _{ef}	30 ± 5 _{ef}	12 ± 1 _d	60 ± 2 _f
	H18	90 ± 2 _g	14 ± 0 _d	273 ± 2 _c	60 ± 9 _{cd}	11 ± 1 _{gh}	22 ± 2 _e	51 ± 1 _h	19 ± 2 _g	23 ± 1 _c	69 ± 1 _e
	H20	134 ± 1 _d	13 ± 0 _d	265 ± 1 _c	170 ± 30 _b	21 ± 0 _c	49 ± 0 _b	100 ± 1 _c	37 ± 2 _d	9 ± 0 _e	78 ± 1 _c
	H22	150 ± 2 _c	24 ± 2 _b	250 ± 2 _{cd}	230 ± 10 _a	12 ± 1 _{fg}	56 ± 1 _a	106 ± 2 _b	34 ± 2 _{de}	7 ± 0 _{fg}	88 ± 2 _a
	H23	112 ± 1 _e	14 ± 0 _d	110 ± 20 _{fg}	170 ± 10 _b	33 ± 0 _b	38 ± 1 _c	65 ± 0 _d	12 ± 3 _h	6 ± 0 _{gh}	72 ± 1 _d
H25	64 ± 1 _k	6 ± 1 _h	50 ± 5 _h	60 ± 8 _{cd}	10 ± 1 _h	23 ± 1 _{de}	54 ± 0 _{gh}	19 ± 0 _g	98 ± 1 _a	30 ± 0 _i	
Mean ± SD	110 ± 40^α	15 ± 7^α	210 ± 90^α	110 ± 80^α	18 ± 10^β	32 ± 15^α	75 ± 28^α	41 ± 28^α	19 ± 25^α	67 ± 16^α	
Polyfloral honey (PFH)	H01	112 ± 2 _g	14 ± 1 _e	160 ± 10 _f	150 ± 10 _b	37 ± 1 _b	39 ± 0 _e	78 ± 2 _e	51 ± 3 _e	5 ± 0 _{gh}	73 ± 2 _{fg}
	H03	98 ± 2 _i	18 ± 2 _d	120 ± 3 _g	70 ± 13 _{cd}	11 ± 0 _i	26 ± 0 _h	58 ± 0 _h	11 ± 3 _h	6 ± 0 _{fg}	75 ± 2 _{ef}
	H07	142 ± 1 _d	15 ± 1 _e	260 ± 5 _e	150 ± 10 _b	28 ± 1 _d	46 ± 1 _d	93 ± 1 _d	56 ± 3 _d	8 ± 1 _{ef}	81 ± 2 _b
	H08	130 ± 1 _e	17 ± 2 _d	170 ± 10 _f	160 ± 5 _b	25 ± 0 _e	36 ± 2 _f	73 ± 2 _f	27 ± 1 _f	9 ± 0 _{de}	78 ± 1 _{cd}
	H09	160 ± 2 _c	17 ± 1 _d	350 ± 10 _c	210 ± 10 _a	33 ± 1 _c	54 ± 1 _c	99 ± 1 _c	83 ± 0 _a	6 ± 1 _{fg}	82 ± 1 _b
	H10	170 ± 3 _b	25 ± 1 _b	460 ± 10 _b	210 ± 20 _a	46 ± 1 _a	62 ± 2 _b	112 ± 1 _b	79 ± 1 _b	5 ± 0 _{hi}	80 ± 3 _{bc}
	H11	190 ± 2 _a	28 ± 0 _a	560 ± 3 _a	210 ± 20 _a	47 ± 2 _a	75 ± 2 _a	150 ± 2 _a	76 ± 1 _c	4 ± 0 _i	87 ± 2 _a
	H16	120 ± 1 _f	11 ± 0 _f	310 ± 10 _d	80 ± 8 _c	15 ± 0 _g	22 ± 0 _i	76 ± 1 _e	2 ± 1 _{ij}	7 ± 0 _{efg}	76 ± 1 _{de}
	H17	105 ± 1 _h	23 ± 1 _c	250 ± 5 _e	71 ± 3 _{cd}	14 ± 1 _{gh}	29 ± 2 _g	64 ± 2 _g	4 ± 1 _i	83 ± 0 _{ef}	72 ± 2 _g
	H19	50 ± 1 _l	5 ± 1 _h	160 ± 10 _f	40 ± 8 _f	9 ± 0 _j	16 ± 2 _j	43 ± 1 _i	2 ± 0 _{ij}	141 ± 5 _a	62 ± 1 _h
	H21	120 ± 3 _f	3 ± 0 _i	90 ± 3 _h	60 ± 7 _{de}	11 ± 1 _i	16 ± 3 _j	40 ± 0 _j	21 ± 1 _g	76 ± 2 _c	75 ± 1 _{ef}
	H24	80 ± 5 _j	8 ± 0 _g	90 ± 6 _h	60 ± 5 _{de}	19 ± 2 _f	17 ± 0 _j	64 ± 2 _g	12 ± 1 _h	11 ± 1 _d	60 ± 1 _h
H26	64 ± 0 _k	6 ± 1 _h	70 ± 2 _i	55 ± 3 _{ef}	13 ± 1 _h	8 ± 0 _k	58 ± 0 _h	1 ± 0 _j	94 ± 1 _b	43 ± 0 _i	
Mean ± SD	120 ± 40^α	15 ± 8^α	230 ± 50^α	120 ± 60^α	24 ± 13^α	34 ± 20^α	78 ± 29^α	33 ± 31^α	29 ± 43^α	73 ± 11^α	

AAR: relative anti-oxidant activity; ABTS: acide 2-2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique); DPPH: 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl; IC50: inhibitory concentration 50; µg AA E 100 g⁻¹: µg ascorbic acid equivalent/100 g of honey; µg β-carot E kg⁻¹: µg β-carot equivalent/kg of honey; mg GAA E 100 g⁻¹: antioxidant activity equivalent mg of gallic acid/100 g of honey; mg GA E 100 g⁻¹: mg gallic acid equivalent/100 g of honey; mg Q E 100 g⁻¹: mg quercetin equivalent/100 g of honey; NORS: nitric oxide radical scavenging; TPC: total phenolic compound.

(8–14 mm), very sensitive (15–19 mm) and extremely sensitive (>20 mm).

2.8.3. Spectrophotometric bioassay method

The minimum inhibitory concentrations (MIC) were measured using the protocol described by Patton et al. (2006). Ten dilutions of each

honey sample were inoculated with bacterial suspension to give a 5% (v/v) concentration. Each mixture (200 µL) was applied to the well of a microplate with cover to avoid cross-contamination. Nutrient broth (200 µL) inoculated with the bacterial suspension were used as control. Optical densities were measured using the microplate reader at 620 nm prior to incubation at T0. After incubation for 24 h at 37 °C, the optical

densities were measured again at T24 and the percentage of inhibition was calculated as:

$$\text{Percent inhibition} = 1 - (A_T/A_C) \times 100$$

Where A_T : Absorbance T24 – Absorbance T0 of the sample and A_C : Absorbance T24 – Absorbance T0 of control.

The MIC of each honey sample were calculated from the inhibition percentage plots using the Log of concentration (% w/v).

2.9. Statistical analysis

All experimental results were expressed as the mean \pm standard deviation. Statistical analysis of the results was carried out using the STATISTICA 7.1 software (Statsoft Co., Tulsa, OK, USA) with the applications: Student *t* tests, ANOVA (one-way analysis of variance), correlation matrix and PCA (principal component analysis). Although a $p < 0.05$ was generally used, the authors have also chosen to use $p < 0.01$ and $p < 0.001$ for the correlation matrix to indicate the greater significance of the differences.

3. Results and discussion

3.1. Color intensity

Honey color is a parameter that indicates the presence of pigments such as flavonoids and carotenoids (Moniruzzaman et al., 2013). Table 1 shows that the color of the monofloral honeys varied from light yellow (*Fabaceae* honey from Naama) to dark brown (*Myrtaceae* honey from Jijel). The color of the polyfloral honeys ranged from pale yellow (H19) to dark amber (H11). The difference in color of the honey samples could either be due to botanical origin, biochemical reactions during honey maturation and exposure to high temperatures or light (Beretta et al., 2005; Moniruzzaman et al., 2013). Most samples were significantly different for color intensity at $p < 0.05$. The results were consistent with those of honeys from India which ranged from 210 to 1230 mAU (Saxena et al., 2010) and honeys from Algeria which ranged from 450 to 1160 mAU (Doukani et al., 2014).

3.2. Antioxidant contents

3.2.1. TPC

Generally, the TPC was lower than that of dark honeys (Beretta et al., 2005). The highest TPC was measured for H5 and H11 honeys, which differed significantly from that of the other samples. The lowest levels were measured for the light yellow honeys (H25 and H19) (Table 2). The variation in phenol contents of the honey samples depends mainly on the botanical and geographical origins (Rodríguez-Flores et al., 2015). The results were higher than those reported by Boussaid et al. (2018) with Tunisian honeys (32 and 119 mg GA E 100 g⁻¹) and Can et al. (2015) with Turkish honeys (16 and 120 mg GA E 100 g⁻¹). Ouchemoukh et al. (2017) reported slightly higher values (90 and 318 mg GA E 100 g⁻¹) in Algerian honeys.

3.2.2. TF

The results of the TF content showed that dark brown (H4) and dark amber (H11) honeys were the highest, unlike pale yellow honeys (H14 and H21) which were the lowest contents (Table 2). These results confirmed that TF directly affected the color of honey. The variability of the data is due to the type of phenolic compounds in honey that depend primarily on floral origin (Doukani et al., 2014). The majority of the values for this parameter showed a significant difference. The levels of TF were higher from those of Brazilian honeys reported by Bueno-Costa et al. (2016) and Do Nascimento et al. (2018) with a range of 2.9–11 mg Q E 100 g⁻¹ and 0–2.6 mg Q E 100 g⁻¹, respectively. However, these results were closer to those reported by Ouchemoukh et al. (2017) in

Algerian honeys (0.3–36 Q E 100 g⁻¹).

3.2.3. TC

Honey samples from Jijel (H5) and Bordj Bouarreridj (H11) had the lowest TC. However, samples from Naama (H25) and Tlemcen (H26) had the lowest TC content. As indicated above for TPC and TF, color intensity appears to be related to carotenoid concentrations. Dark honeys had higher levels of these compounds than light honeys. Pollen is an important source of β -carot and its concentration in honey depends mainly on the type of flowers visited by the bees (Nwaichi et al., 2015). The TC results were close to the Cuban honeys reported by Alvarez-Suarez et al. (2010) (1.2–5.6 mg β -carot E kg⁻¹). However, these results were lower than those found by Mouhoubi-Tafnine et al. (2016) with Algerian honeys (3–10 mg β -carot E kg⁻¹).

3.2.4. Vitamin C

The highest vitamin C content was obtained with H5, H10 and H11 honeys. On the other hand, the lowest content was obtained with H6 and H19 honeys. Vitamin C in honey comes mainly from flower pollen and its content varies according to botanical and geographical origin. However, heat treatment and poor storage conditions can cause the loss of vitamin C in this product (Chua et al., 2013). The results in this study were in the range reported by Mouhoubi-Tafnine et al. (2016) (0.4–3.4 mg 100 g⁻¹) with Algerian honeys. However, Ciulu et al. (2011) reported lower values in Italian honeys (0.1–0.6 mg 100 g⁻¹).

3.3. Antioxidant activities

All honeys showed antioxidant capacity with the 6 methods used (Table 2).

3.3.1. DPPH radical scavenging assay

The statistical analysis showed that H4 and H11 honeys had the highest antiradical strength which differed significantly from that of the other samples. However, H12 and H19 honeys showed the lowest antiradical activities. Alisi (2012) reported that the scavenging of free radicals by honey might be due to AA, free amino acids and TPC. The results showed a difference with those reported in the literature. Zaidi et al. (2019) reported anti-radical activity in 31 samples of Algerian honey ranging from 4.4 to 84%. However, Doukani et al. (2014) reported lower rates of DPPH radical inhibition than in this study (3.4–22%).

3.3.2. ABTS radical scavenging assay

All honeys showed the ability to inhibit the radical ABTS. H22 and H11 honeys samples showed high anti-radical activity, which differed significantly from that of the other samples. However, H2 and H26 honeys statistically showed the lowest antioxidant potential. Al-Mamary et al. (2002) attributed these differences to botanical origins and the presence of several antioxidants such as flavonoids, phenolic acids and vitamins C and E. The results showed better antioxidant activity compared to Wilczyńska (2010) (2–31%) in 34 samples of honey collected in Poland. However, they are lower than Isla et al. (2011) (65–80%). Zaidi et al. (2019) reported values for anti-radical activity of Algerian honeys (2.5–63%) consisted with those in the present study.

3.3.3. Reducing power

The sample H18 and H21 obtained the lowest reducing power. H5 and H11 samples obtained the highest power reducing. TPC and vitamin C from honey are the main factors responsible for its reducing power. Generally, dark honey shows a high content of these compounds and a higher antioxidant activity (Doukani et al., 2014; Khalil et al., 2012). This was shown by the honeys of Bordj Bouarreridj (dark amber) and Jijel (dark brown) that had significantly higher TPC, TF, vitamin C and also the most powerful reducing activity (Table 2). The values for this antioxidant test were close to those reported by Čanadanović-Brunet

Table 3
Results of HPLC-UV analysis.

	Sample	$\mu\text{g phenolic } 100 \text{ g}^{-1} \text{ of honey}$																	
		Phenolic acids									Flavonoids								
		Hydroxybenzoic acid			Hydroxycinnamic acid						Flavanol		Flavanone		Flavone		Flavonol		Isoflavone
		HBA	Prt	Syr	Cin	Cou	Caf	CAPE	Fer	Cat	Epi	Hes	Pin	Lut	Chr	Mye	Rut (x 10)	Dai	
Monofloral honey	H02	ND	ND	ND	6.4	ND	ND	21.2	93.1	50.1	ND	ND	19.2	ND	278	ND	ND	ND	
	H04	205	52.1	ND	110	ND	299	26.4	103	ND	ND	34.1	47.9	ND	351	ND	ND	ND	
	H05	19.2	ND	ND	6.8	41.9	69.3	27.9	ND	ND	ND	ND	23.6	ND	304	ND	ND	15.2	
	H06	20.5	ND	ND	6.6	42.4	81	46	63.7	ND	ND	ND	35.7	ND	289	ND	ND	ND	
	H12	33.2	ND	ND	6.2	55	80.9	ND	ND	ND	ND	ND	26.6	ND	294	240	ND	102	
	H13	ND	ND	ND	14.2	35.1	ND	ND	57.3	ND	ND	ND	20.1	ND	228	ND	ND	24.2	
	H14	18.7	ND	ND	6.7	40.2	ND	23.1	67.2	ND	ND	ND	24.1	ND	281	ND	ND	23.3	
	H15	ND	ND	ND	11.7	44.5	ND	77.2	ND	ND	ND	ND	41.3	ND	348	ND	ND	27.9	
	H18	ND	ND	ND	5.7	ND	ND	17	ND	ND	ND	ND	20.5	ND	ND	ND	ND	ND	
	H20	104	ND	ND	ND	61.6	83.9	ND	114	80.8	ND	ND	ND	91.2	ND	ND	ND	116	
	H22	ND	ND	ND	28.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	43.2	125	381	ND	57.8	201	
	H23	44.6	ND	ND	16.1	ND	75.7	86.9	ND	ND	ND	ND	52.1	ND	278	ND	ND	239	
	H25	59.9	ND	20.4	9.7	50.8	143	98.1	81	ND	ND	24.3	44.6	ND	334	ND	ND	25.6	
Polyfloral honey	H01	24.8	ND	ND	8.5	39.6	70.7	48.5	ND	ND	ND	ND	26.1	ND	330	ND	ND	ND	
	H03	ND	ND	ND	25.1	60.7	78.5	133	ND	ND	ND	ND	89.5	ND	386	ND	174	ND	
	H07	302	ND	194	59.4	62	369	69.8	107	ND	ND	ND	87.6	ND	400	ND	ND	587	
	H08	ND	ND	6.4	9.1	45.7	80.6	49.3	75	ND	ND	ND	29.2	ND	326	ND	ND	29.6	
	H09	120	70.3	16.1	44.6	60.3	98.6	ND	95.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	121	
	H10	ND	ND	11.5	15.1	48.6	82.2	ND	90.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	73.4	
	H11	ND	ND	ND	ND	48.4	ND	ND	82.1	ND	ND	ND	ND	202	ND	ND	ND	ND	
	H16	ND	ND	5.5	ND	ND	ND	11.4	ND	ND	ND	ND	ND	274	ND	ND	ND	12.9	
	H17	41.5	ND	25	11.6	60	75.8	30.3	81	ND	ND	ND	29.9	93.4	302	ND	ND	56.1	
	H19	15.3	ND	ND	6.5	36	ND	28.4	ND	ND	ND	ND	21.1	ND	265	ND	ND	ND	
	H21	66.7	ND	ND	5.6	ND	73.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	290	ND	ND	ND	20	
	H24	ND	ND	ND	11.4	ND	161	34.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	60	
	H26	ND	ND	ND	8.8	60	123	87.6	97.8	ND	ND	ND	42.3	ND	201	ND	ND	34.4	

HBA: p-OH benzoic acid; Prt: protocateuic acid; Syr: syringic acid; Cin: t-cinnamic acid; Cou: p-coumaric acid; Caf: caffeic acid; CAPE: caffeic acid phenethyl ester; Fer: ferulic acid; Cat: catechin; Epi: epicatechin; Hes: hesperetin; Pin: pinocembrin; Lut: luteolin; Chr: chrysin; Mye: myrecetin; Rut: rutin; Dai: daidzein; ND: Not Detected.

et al. (2014) (39–120 mg GAA E 100 g^{-1}). However, Mouhoubi-Tafinine et al. (2016) reported lower values in Algerian honeys (21–49 mg GAA E 100 g^{-1}).

3.3.4. Chelating ferrous activity

The samples H14 and H9 had the best chelating power, which differed significantly from that of the other samples. On the other hand, H6 and H26 samples showed the lowest chelation capacity. The variation in the chelating power of honey depends not only on the presence of chelating agents such as phenolic and flavonoid acids but also on the quantitative and qualitative nature of their phenolic contents (Doukani et al., 2014). The results showed better antioxidant activity compared to Temizer et al. (2018) (36–37%). However, Tahir et al. (2017) reported values (52–88%) closer to that of the present study.

3.3.5. NORS

The NORS test is based on the ability of honey samples to reduce the nitrite concentration in the reaction medium expressed as IC50. Low IC50 values indicate greater NO recovery capacity. The best recovery capacity was measured for H4 and H11 honeys. Nitric oxide (NO^{\bullet}) released by sodium nitroprussiate can alter the structure and function of many cellular components. NO^{\bullet} increased toxicity when reacting with superoxide to form peroxynitrite anion (ONOO^{-}), which is a potent oxidant and it can decompose to form OH^{\bullet} and NO_2 (Pacher et al., 2007). Therefore, honey samples have the ability to protect animal cells from free radicals. The results were lower than those reported by Dor and Mahomoodally (2014) in honeys from the Republic of Mauritius (2.8–47 mg mL^{-1}) and Aazza et al. (2014) in Moroccan honeys (22–95 mg mL^{-1}).

3.3.6. Beta-carot bleaching

All samples prevented β -carotene bleaching, but it varied significantly with the sample. H11 and H22 honeys had the highest values of

relative anti-oxidant activity. H25 and H26 honeys had the lowest values. Silva et al. (2013) and Gül et al. (2018) reported close values in honeys from Brazil (49–75%) and Turkey (32–95%).

3.4. HPLC-UV analysis

The HPLC-UV analysis made it possible to quantify the phenolic acids and flavonoids of honeys from different regions of Algeria. Eight phenolic acids were detected in the honey samples (Table 3). One hydroxybenzoic acid (p-OH benzoic acid) and 5 hydroxycinnamic acids (caffeic, CAPE, ferulic, p-coumaric and t-cinnamic acids) were identified in the majority of the samples. However, protocateic acid was found only in H4 and H9 honeys. Syringic acid was present in H25, H7, H8, H9, H10, H16 and H17 honeys. Varying amounts of phenolic acids were found in monofloral honeys. H4 honey had the highest content of caffeic, p-OH benzoic and t-cinnamic acids, while H20 honey had the highest levels of ferulic and p-coumaric acids. The two types of honeys had the highest TPC and TF levels, the highest antiradical power and the highest reducing capacity. On the other hand, H25 honey had the highest CAPE value. H7 honey differed from the other polyfloral honeys in its high content of caffeic, ferulic, p-OH benzoic, syringic and t-cinnamic acids. The highest level of CAPE was obtained with H3 honey. In particular, H11 honey only had ferulic and p-coumaric acids. Ouchemoukh et al. (2017) identified 6 other phenolic acids (4-hydroxybenzoic, 4-hydroxyphenylacetic, gallic, gentisic, homovanillic and vanillic acids) in samples of Algerian honeys in addition to 8 compounds shown in this study. Can et al. (2015) reported different amounts of caffeic (0.8–26.8 $\mu\text{g g}^{-1}$), p-coumaric (0–15.9 $\mu\text{g g}^{-1}$) and p-OH benzoic (10.9–55.3 $\mu\text{g g}^{-1}$) acids in honey samples from Turkey. The results indicated differences in phenolic acid contents of the honeys analyzed with those reported by Moniruzzaman et al. (2014) in Bangladesh honeys for benzoic (0.0–2.3 $\mu\text{g g}^{-1}$), caffeic (0.0–2.7 $\mu\text{g g}^{-1}$) and t-cinnamic (0.0–0.8 $\mu\text{g g}^{-1}$) acids and by Shen et al. (2019) in Manuka honey

for caffeic (0.6 µg g⁻¹), ferulic (0.11 µg g⁻¹), *p*-coumaric (0.25 µg g⁻¹), *p*-OH benzoic (0.58 µg g⁻¹) and syringic (0.49 µg g⁻¹) acids.

Five subclasses of flavonoids were identified in the honey samples: flavanol, flavanone, flavone, flavonol and isoflavone. Daidzein, chrysin and pinocembrin were found in the majority of monofloral and polyfloral honeys. Catechin and hesperetin were found in monofloral honeys (H2–H20 and H4–H25, respectively), but in no polyfloral honeys. However, luteolin was present in 4 honeys (H11, H17, H20 and H22), myrecetin in one honey (H12) and rutin in two honeys (H3 and H22). Quantitative analysis showed that monofloral honeys, particularly H22 sample had the highest content of chrysin, luteolin and rutin. The highest levels of daidzein and pinocembrin were measured for H23 honey. The highest levels of pinocembrin and rutin of polyfloral honeys were obtained from H3 honey, while the highest levels of chrysin and daidzein was obtained with H7 honey. The results indicated similarities and differences in flavonoid composition of the honey samples with those reported in the literature. Ouchemoukh et al. (2017) reported the absence of myricetin in *Apiaceae* and *Ericaceae* honeys and this was observed exclusively in polyfloral honey. Shen et al. (2019) reported different levels of chrysin (0.69 µg g⁻¹), hesperetin (0.06 µg g⁻¹), luteolin (0.32 µg g⁻¹) and pinocembrin (0.68 µg g⁻¹) in Manuka honeys. However, Can et al. (2015) reported varying levels of catechin (0–23.1 µg g⁻¹), epicatechin (0–28.4 µg g⁻¹) and rutin (0–539 µg g⁻¹) in honeys from Turkey.

3.5. Antibacterial activity

3.5.1. Sensitivity test

The samples showed more effective activity against *S. aureus* compared to *S. typhi*. This can be attributed to the structural difference between Gram-positive and Gram-negative bacteria (Table 1). The *S. typhi* strain was susceptible to 9 monofloral honeys and 9 polyfloral honeys. The *Myrtaceae* (H5) and polyfloral (H7) honey had the highest inhibition diameters. On the other hand, this strain showed resistance to *Fabaceae* (H2, H14 and H25), *Brassicaceae* (H18) and polyfloral honeys (H10, H19, H24 and H25). The *S. aureus* bacterial strain was susceptible to 11 monofloral honeys and 10 polyfloral honeys. The largest diameter of inhibition were measured for H5 and H11 honeys. The absence of antibacterial effects was observed in H3, H18, H19, H25 and H26 honeys. Can et al. (2015) reported that the antioxidant and antibacterial activities of honeys correlate with phenolic compounds. H5 and H7 honeys differed from the other honeys by their high content of bioactive compounds and their better antioxidant activities. The antibacterial effect of honey could be attributed to several factors, such as high osmolarity, low pH, hydrogen peroxide, phenolic compounds and protein contents (Al-Habsi & Niranjan, 2012; Alvarez-Suarez et al., 2010). The inhibition zone diameters of *S. aureus* in this study were consisted with those to Ghramh et al. (2019) (8–20 mm). However, the diameters of *S. typhi* were smaller than those reported by Tumin et al. (2005) (32–34 mm).

3.5.2. MIC

The lowest MIC against *S. typhi* was measured for H5 and H11 honeys and the lowest values against *S. aureus* were obtained with H22 and H11. The results showed that the MIC for *S. aureus* was higher than those reported by Patton et al. (2006) and Al-Habsi and Niranjan (2012) in Manuka honey with values of 6.3 and 13%, respectively. However, Ahmed et al. (2012) obtained a similar MIC (30–70%) in Algerian honeys while Fahim et al. (2014) reported the MIC against *S. typhi* (35–90%) consisted with those in the present study.

3.6. Comparison test and correlations

Comparison of the two groups of honeys (Tables 1 and 2) for color intensity, antibacterial activity, antioxidant contents and antioxidant activity showed no statistical difference except for DPPH and the highest

Table 4
Correlation matrix.

	Color intensity	TPC	Flavonoids	Carotenoids	Vitamin C	DPPH	ABTS	Reducing power	Iron chelating activity	NORS	B-carot bleaching	IZD <i>S. typhi</i>	IZD <i>S. aureus</i>	MIC <i>S. typhi</i>	MIC <i>S. aureus</i>
Color intensity	1														
TPC	0.88**	1													
Flavonoids	0.93**	0.80***	1												
Carotenoids	0.80**	0.85**	0.77**	1											
Vitamin C	0.84**	0.90**	0.75**	0.73**	1										
DPPH	0.72**	0.76**	0.58**	0.70**	0.78**	1									
ABTS	0.83**	0.89**	0.80**	0.81**	0.81**	0.81**	1								
Reducing power	0.83**	0.89**	0.74**	0.85**	0.86**	0.77**	0.89**	1							
Iron chelating activity	0.35**	0.48**	0.30**	0.45**	0.44**	0.50**	0.55**	0.52**	1						
NORS	-0.58**	-0.55**	-0.59**	-0.45**	-0.46**	-0.46**	-0.50**	-0.48**	-0.36**	1					
B-carot bleaching	0.70**	0.81**	0.65**	0.69**	0.72**	0.59**	0.71**	0.66**	0.24*	-0.60**	1				
IZD	0.60**	0.73**	0.57**	0.51**	0.61**	0.53**	0.62**	0.58**	0.32**	-0.54**	0.66**	1			
<i>S. typhi</i>	0.70**	0.79**	0.61**	0.66**	0.70**	0.62**	0.71**	0.72**	0.54**	-0.65**	0.64**	0.73**	1		
<i>S. aureus</i>	-0.57**	-0.62**	-0.54**	-0.53**	-0.52**	-0.43**	-0.57**	-0.47**	-0.33**	0.62**	-0.79**	-0.65**	-0.73**	1	
MIC <i>S. typhi</i>	-0.70**	-0.83**	-0.68**	-0.77**	-0.73**	-0.59**	-0.78**	-0.73**	-0.55**	0.61**	-0.80**	-0.58**	-0.83**	0.78**	1
MIC <i>S. aureus</i>															

*: significant correlation; **: highly significant correlation; ***: very highly significant correlation.

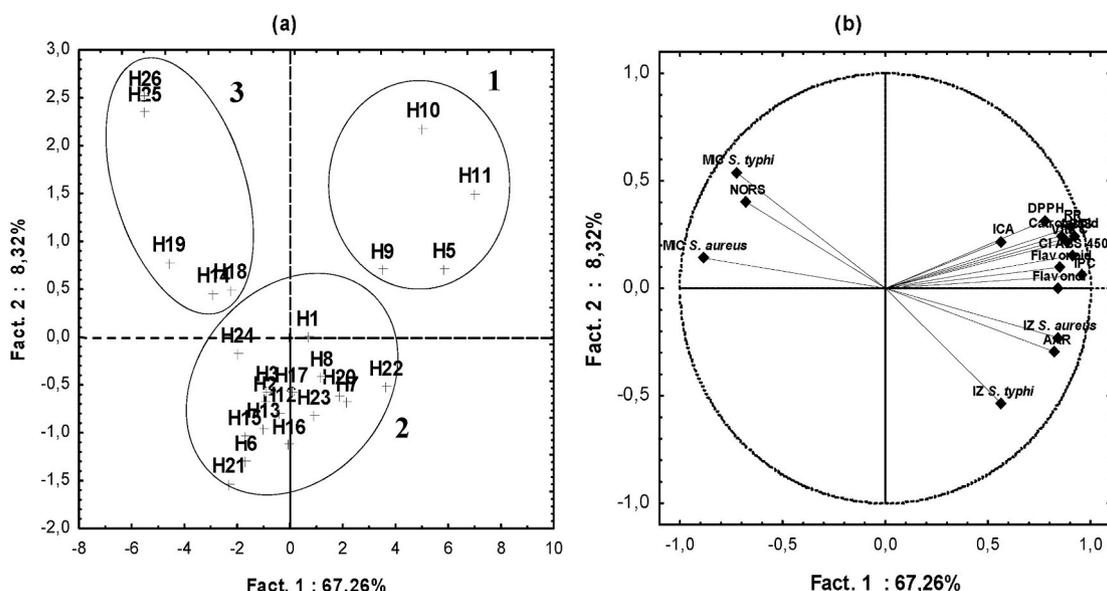


Fig. 1. Principal component analysis (PCA) biplot of the antioxidant compounds (phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and vitamin C), antioxidant activity (DPPH and ABTS free radicals scavenging, reducing power, chelating ferrous activity, nitric oxide radical scavenging assay and β -carotene bleaching) and antibacterial activity against *S. aureus* and *S. typhi*. (a): projection of the individuals on the factorial plane (1 \times 2). (b): projection of the variables on the factorial plane (1 \times 2). AAR: relative anti-oxidant activity; ABTS: acide 2-2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique); DPPH: 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl; ICA: iron chelating activity; IZ: inhibition zone; MIC: minimal inhibitory concentration; NORs: nitric oxide radical scavenging; RE: reducing power; TPC: total phenolic compounds.

averages were obtained with polyfloral honeys. The results showed that the monofloral or polyfloral origin of honey does not significantly influence these bioactive compound contents and these antioxidant and antibacterial activities.

Statistical analysis of the results indicated a highly significant correlation between TPC and TF. The results were closer to those reported by Al et al. (2009) and Moniruzzaman et al. (2013) with a correlation coefficient of 0.83 and 0.74, respectively. Levels of TPC, TF and TC showed highly significant correlations with color. Similar results on the relationship between TPC and color were reported by Bertoneclj et al. (2007) for Italian honeys with $r = 0.84$ and Moniruzzaman et al. (2013) in Malaysian honeys with $r = 0.93$. The correlation matrix (Table 4) revealed highly significant correlations between the phenolic compounds of the different honey samples and the antioxidant activity, the highest coefficients were measured with DPPH, ABTS, reducing potency and β -carotene bleaching. These coefficients were similar to those obtained by Ferreira et al. (2009) for reducing power ($r = 0.84$) and Aljadi and Kamaruddin (2004) for anti-radical activity ($r = 0.86$). Flavonoid levels of the honey samples showed a very highly significant correlation with antioxidant activities and the highest correlation coefficients were measured with ABTS, reducing power and β -carotene bleaching. The results showed a good correlation between carotenoid and vitamin C contents and antioxidant power with correlation coefficients shown in Table 4. The results also revealed highly significant correlations between the inhibition zones diameter of the *S. typhi* and *S. aureus* with antioxidants and antioxidant activity (Table 4). The best coefficients were found between inhibition zone diameters (*S. typhi* and *S. aureus*), TPC and TF. MIC from both bacterial strains correlated very significantly with antioxidant contents as well as antioxidant activity.

3.7. Multi-variate analysis

A PCA analysis was carried out to study the similarities between the different honey samples and to determine the links between the variables studied using a two-dimensional graphic representation. The first three principal components obtained values > 1 and accounted for 79.8% of the changes in the data. The plot of own values reported that after the second main component, own values begin to form a straight

line, which leads to the conclusion that only PC1 (67.3%) and PC2 (8.3%) which account for 75.6% of the total variation could be used for adequate explanation of the data. CP1 and CP2 separated honey samples according to the parameters that contribute to their calculation. Fig. 1. a shows that the honey samples were divided into three groups. The first group which contains the *Myrtaceae* honey from Jijel (H5) and polyfloral honeys which were harvested in Bejaia (H9 and H10) and Bordj Bouarreridj (H11) which were therefore distinguished by their high content of bioactive compounds, the best antioxidant activity and the greater antibacterial power compared to the other honeys studied. The second group with the highest number of honey samples had those honeys closer to the mean values of the different traits. The third group containing honeys (H14, H18, H19, H25 and H26) from the same geographical area (western Algeria) and had the lowest levels of bioactive compounds, low antioxidant capacity and low antibacterial power. Fig. 1 b confirms the correlations obtained using the correlation matrix (Table 4) and showed strong correlations between the parameters studied. The correlation matrix and PCA showed the color of honey is highly correlated to its antioxidant content and has these antioxidant and antibacterial activities.

4. Conclusions

The color, the content of bioactive compounds and the antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys of different floral origins were studied. The honey samples showed different contents of bioactive compounds (phenolics, flavonoids, carotenoids and vitamin C), which vary according to the floral source and the region of harvest. A total of 8 phenolic acids and 8 flavonoids were quantified. The protective effect of the honey samples was confirmed *in vitro* against free radicals. Similarly, these samples were found to inhibit Gram-positive *S. aureus* more effectively than Gram-negative *S. typhi*. In addition, statistical analysis showed no significant differences between monofloral and polyfloral honeys with respect to antioxidant content, and antioxidant and antibacterial activities. However, this study revealed that the dark color of honey is a relevant indicator of high levels of bioactive compounds and important antioxidant and antibacterial properties, which was shown by the correlation matrix and PCA. Further research is needed to correlate

honey color with a range of pharmacological activities such as anti-cancer, healing and anti-inflammatory activities.

Conflicts of interest

The authors confirm that they have no conflicts of interest with respect to the work described in this manuscript.

Acknowledgement

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. The authors thank the Algerian Ministry of High Education and Scientific Research for sponsoring this work.

References

- Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., & Miguel, M. G. (2014). Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 65(4), 449–457.
- Ahmed, M., Djebli, N., Hammoudi, S. M., 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*, 5(10), 773–776.
- Akyuz, E., Sahin, H., Islamoglu, F., Kolayli, S., & Sandra, P. (2014). Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra subsp. caucasica* by HPLC-UV and HPLC-UV-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 17, 331–343.
- Al-Habsi, N. A., & Niranjan, K. (2012). Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food Chemistry*, 135(3), 1448–1454.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., & Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22(9), 1041–1047.
- Al-Waili, N., Al Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y., Al-Mubarak, A., & Salom, K. (2013). Differences in composition of honey samples and their impact on the antimicrobial activities against drug multiresistant bacteria and pathogenic fungi. *Archives of Medical Research*, 44(4), 307–316.
- Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867.
- Alisi, C. (2012). Antioxidant content and free radical scavenging activity of honeys of *Apis mellifera* of Obudu cattle ranch. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2(4), 164–175.
- Aljadi, A. M., & Kamaruddin, M. Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., & Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2490–2499.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185–191.
- Bertoncelj, J., Dobošek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822–828.
- Bodó, A., Radványi, L., Kőszegi, T., Csepregi, R., Nagy, D. U., Farkas, Á., & Kocsis, M. (2020). Melissopalynology, antioxidant activity and multielement analysis of two types of early spring honeys from Hungary. *Food Bioscience*, 35, 100587.
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 265–274.
- Bueno-Costa, F. M., Zambiasi, R. C., Bohmer, B. W., Chaves, F. C., Silva, W. P. da, Zanusso, J. T., & Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 65, 333–340.
- Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Šaponjac, V. T., Stajčić, S., Vulić, J., Djilas, S., Štajner, D., & Popović, B. (2014). Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, 62, 1–7.
- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Akyuz, E., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133–141.
- Cheng, N., Wang, Y., & Cao, W. (2017). The protective effect of whole honey and phenolic extract on oxidative DNA damage in mice lymphocytes using comet assay. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(4), 388–395.
- Chua, L. S., Rahaman, N. L. A., Adnan, N. A., & Eddie Tan, T. T. (2013). Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1–8, 2013.
- Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., & Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3), 924–929.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323.
- Do Nascimento, K. S., Gasparotto Sattler, J. A., Lauer Macedo, L. F., Serna González, C. V., Pereira de Melo, I. L., da Silva Araújo, E., Granato, D., Sattler, A., & de Almeida Muradian, L. B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 91, 85–94.
- Dor, G. O. L. M., & Mahomoodally, M. F. (2014). Chemical profile and *in vitro* bioactivity of tropical honey from Mauritius. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, S1002–S1013.
- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., & Hacini, Z. (2014). Physicochemical and phytochemical study of some types of Algerian honeys. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37–49.
- Fahim, H., Dasti, J. I., Ali, I., Ahmed, S., & Nadeem, M. (2014). Physico-chemical analysis and antimicrobial potential of *Apis dorsata*, *Apis mellifera* and *Ziziphus jujube* honey samples from Pakistan. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(8), 633–641.
- Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., & Estevinho, L. M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4), 1438–1443.
- Francis, M. A., & Andrew, W. V. (2010). Antioxidant activity, nitric oxide scavenging activity and phenolic contents of *Ocimum gratissimum* leaf extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2479–2487.
- Gheldof, N., Wang, X. H., & Engeseth, N. J. (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5870–5877.
- Ghramb, H. A., Khan, K. A., & Alshehri, A. M. A. (2019). Antibacterial potential of some Saudi honeys from Asir region against selected pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1278–1284.
- Gül, A., & Pehlivan, T. (2018). Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), 1056–1065.
- Hegazi, A. G., Al Guthami, F. M., Al Gethami, A. F. M., Allah, F.M.A., Saleh, A. A., & Fouad, E. A. (2017). Potential antibacterial activity of some Saudi Arabia honey. *Veterinary World*, 10(2), 233–237.
- Isla, M. I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V., & Maldonado, L. (2011). Physicochemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 44(9), 1922–1930.
- Khalil, M. I., Moniruzzaman, M., Boukraa, L., Benhanifa, M., Islam, M. A., Islam, M. N., & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9), 11199–11215.
- Li, C., & Lin, E. (2010). Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of *Areca catechu* seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), 7831–7836.
- Liu, J., Ye, Y., Lin, T., Wang, Y., & Peng, C. (2013). Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139(1–4), 938–943.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4), 139–157.
- Mau, J., Tsai, S., Tseng, Y., & Huang, S. (2005). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 93(4), 641–649.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577.
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S., Khalil, M., & Gan, S. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 138, 138.
- Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014). Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *BioMed Research International*, 1–11, 2014.
- Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., & Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3482–3485.
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemouk, S., & Tamendjari, A. (2016). Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85–90.
- Naithani, V., Nair, S., & Kakkar, P. (2006). Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39(2), 176–181.
- Nguyen, H. T. L., Panyoyai, N., Paramita, V. D., Mantri, N., & Kasapis, S. (2018). Physicochemical and viscoelastic properties of honey from medicinal plants. *Food Chemistry*, 241, 143–149.
- Nwaichi, E. O., Chuku, L. C., & Oyibo, N. J. (2015). Profile of ascorbic acid, beta-carotene and lycopene in guava, tomatoes, honey and red wine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, 39–43.
- Oryan, A., Alemzadeh, E., & Moshiri, A. (2016). Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability*, 25(2), 98–118.
- Ouchemouk, S., Amessis-Ouchemouk, N., Gómez-Romero, M., Aboud, F., Giuseppe, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017). Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 85, 460–469.
- Ozturk, A., Demirsoy, L., Demirsoy, H., & Ozturk, S. (2015). Quality characteristics and phenolic compounds of European pear cultivars. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(5), 63.
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87, 315–424.

- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., & Moran, N. (2006). Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(1), 84–95.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 36(7), 679–684.
- Prakasita, V. C., Asmara, W., Widyarini, S., & Wahyuni, A. (2019). Combinations of herbs and probiotics as an alternative growth promoter: An *in vitro* study. *Veterinary World*, 12(4), 614–620.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Rodríguez-Flores, M. S., Escuredo, O., & Carmen-Seijo, M. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chemistry*, 166, 101–106.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8–9), 1023–1029.
- Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2), 391–397.
- Seraglio, S. K. T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2019). An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food Research International*, 119, 44–66.
- Shen, S., Wang, J., Chen, X., Liu, T., Zhuo, Q., & Zhang, S. (2019). Evaluation of cellular antioxidant components of honeys using UPLC-MS/MS and HPLC-FLD based on the quantitative composition-activity relationship. *Food Chemistry*, 293, 169–177.
- Silva, T. M. S., dos Santos, F. P., Evangelista-Rodrigues, A., da Silva, E. M. S., da Silva, G. S., de Novais, J. S., Dos Santos, F. A. R., & Camara, C. A. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(1), 10–18.
- Tahir, H. E., Zou, X., Li, Z., Shi, J., Zhai, X., Wang, S., & Mariod, A. A. (2017). Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry*, 226, 202–211.
- Temizer, I. K., Güder, A., Temel, F. A., & Cüce, H. (2018). Antioxidant activities and heavy metal contents of *Castanea sativa* honey. *Global NEST Journal*, 20(3), 541–550.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95(2), 200–204.
- Tumin, N., Halim, N. A. A., Shahjahan, M., Sattar, M. A., Khan, A. H., & Mohsin, S. S. J. (2005). Antibacterial activity of local Malaysian honey. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 1–10.
- Wang, H., Gao, X., Zhou, G., Cai, L., & Yao, W. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106(3), 888–895.
- Wilczyńska, A. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60(4), 309–313.
- Zaidi, H., Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Debbache, N., Pacheco, R., Serralheiro, M. L., & Araujo, M. E. (2019). Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys - the inhibition of acetylcholinesterase and α -glucosidase activities. *European Journal of Integrative Medicine*, 25, 77–84.

Research Report

Evaluation of Algerian's honey in terms of quality and authenticity based on the melissopalynology and physicochemical analysis and their antioxidant powers

Nadia Amessis-Ouchemoukh^{a,*}, Nacera Maouche^b, Amar Otmani^b, Anass Terrab^c, Khodir Madani^{a,d} and Salim Ouchemoukh^b

^aLaboratoire de Biomathématique, Biochimie, Biophysique et Scientométrie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, Bejaia, Algeria

^bLaboratoire de Biochimie appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, Bejaia, Algeria

^cDepartamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla, Apdo, Sevilla, Spain

^dCentre de Recherche en Technologie des Industries Agro-alimentaires, Bejaia, Algeria

Received 7 March 2021

Accepted 10 April 2021

Pre-press 19 May 2021

Published 13 September 2021

Abstract.

BACKGROUND: Honey is a vegetable and animal product which comes from nectar and/or honeydew. It is used in different nutritional and therapeutic fields.

OBJECTIVE: Melissopalynology and physicochemical analysis of Algerian honeys, determination of their phenolic compounds and authenticity parameters and the evaluation of their antioxidant properties.

METHODS: Twenty Algerians honey were studied for their physicochemical parameters (moisture, pH, proteins, proline, hydroxymethylfurfural, ash, color, electrical conductivity, and optical rotation), floral origin and phenolic compounds contents. Antioxidant activities were tested too.

RESULTS: Melissopalynological analyses revealed that the studied honeys were twelve multifloral, seven Fabaceae, and one Myrtaceae. All honeys were acidic ($3.65 \leq \text{pH} \leq 4.35$) and most of them were low in moisture content. The electrical conductivity varied between 0.29 mS/cm and 1.78 mS/cm. Ash, protein and proline contents results showed that the majority of honeys were in agreement with the legislation and were authentic. The color varied from mimosa yellow to dark brown. The specific rotation was levorotatory in most honey samples and the hydroxymethylfurfural values (from 1.5 mg/kg to 34.73 mg/kg) agreed with the international requirements. Honeys were rich in total phenolic compounds, 22.41 (Honey11) to 96.16 (Honey15) mg gallic acid equivalents/100 g, and flavonoids, 8.90 (Honey11) to 80.02 (Honey02) mg quercetin equivalents/100 g. Honey samples 15, 03, 05, 01, and 06 exerted more than 50% reduction of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radicals and were able to reduce iron while honey samples 12, 18, 19, 14, and 11 chelate efficiently iron. High significant correlations between physicochemical parameters and antioxidant activities were found.

*Corresponding author: Nadia Amessis-Ouchemoukh, Laboratoire de Biomathématique, Biochimie, Biophysique et Scientométrie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algérie. Tel./Fax: +0021334215661; E-mail: amessisnadia@yahoo.fr.

CONCLUSION: The Algerian honeys analyzed were authentic and variations in their quality parameters and phenolics composition were directly associated with their demonstrated antioxidant properties.

Keywords: Honey, melissopalynological analyses, physicochemical quality parameters, bioactive compounds, reducing powers, radical scavenging activities

1. Introduction

Honey is the main product of beekeeping. It is produced by *Apis mellifera* bee from the nectar of flowers, secretions of living parts of plants, or excretions of plant-sucking insects on the living parts of plants. These sugary sources are collected, transformed, combined with specific substances from bees, dehydrated, and stored in the beehives' combs to mature, resulting in the honey itself [1].

The natural product of honey bees contains ~200 bioactive substances because of the great variety of plants that provide nectar and pollen. Sugars represent the major component of honey, including around 75% monosaccharides, 10–15% disaccharides, and small amounts of other sugars. Minor compounds include polyphenols, vitamins, enzymes, amino acids, minerals, organic acids, and volatiles. Most of these compounds act together to confer synergistic properties used in different nutritional and therapeutic fields [2–4].

The quality, composition, color, aroma, and flavor of honey depend mainly on the flowers, geographical regions, climate, and honeybee species involved in its production and are also affected by weather conditions, processing, manipulation, packaging, and storage time [5, 6].

Honey is a highly symbolic and well-regarded product in the Algerian population. It is a viscous, aromatic, sweet, and flavorful product that comes in the first order of natural products, since it has been used as an alimentary supplement, in medical therapies, and natural food, without the addition of any substance in its elaboration. The chemical composition and health benefits of honey heavily depend on the botanical and geographical origin [7, 8]. Hence, the most important bioactive fraction in honey is made up of secondary metabolites that are present in nectar, and the most important of them are phenolic compounds. These bioactive compounds are used in the treatment of diabetes, dyslipidemia, and skin lesions in addition to having high antibacterial and antifungal effects [9, 10]. Antiproliferative, immunomodulatory, and antioxidant activities have also been reported [11–13]. Variations in several physical properties (acidity, phenolic content, minerals, color, and antioxidant level) of honeys are directly associated with its biological properties, which may be important when assessing and correlating the physical properties and medicinal value of different honey types [14, 15].

Due to its peculiar characteristics, this product has aroused great interest in current functional food research which is a trend in food chemistry. Hence, to contribute more to the knowledge of Algerian honeys and considering the lack of detailed study in the literature, the present research aimed (i) to characterize the botanical origin (blossom and/or honeydew) of honeys, (ii) to determine the physicochemical and the authenticity parameters and (iii) to quantify the amounts of phenolic compounds that are likely responsible for most of the bioactivity in honey and are considered as potential markers for their botanical origin and finally (iv) to evaluate the antioxidant properties with the use of different methods in order to determine the potential functional value of these honeys. This study can contribute to the evaluation of the quality of Algerian honeys, verify their compliance with international standards (Codex Alimentarius Commission, European Commission), and characterize Algerian honey types.

2. Material and methods

2.1. Honey samples

Twenty samples of honey produced in different regions of Algeria of which the majority come from Bejaia were collected from beekeepers. The samples were stored in a refrigerator in airtight plastic containers until analysis. The regions from which the samples of honey were collected were indicated in Table 1.

Table 1
Location, state and color of Algerian samples honeys

Sample	Location	State	Color
H01	Tizi adjissa (Bejaïa)	Crystalline	Dark brown
H02	Tissa (Bejaïa)	Fluid	Dark
H03	Tavel (Bejaïa)	Fluid	Dark brown
H04	Tilioua kadi (Bejaïa)	Crystalline	Dark yellow
H05	Smaoun Shemini (Bejaïa)	Fluid	Brown
H06	Barbacha (Bejaïa)	Crystalline	Light brown
H07	Bouaiche (Bejaïa)	Fluid	Brown
H08	Adekar (Bejaïa)	Fluid	Yellow
H09	Assif el hammam (Bejaïa)	Crystalline	Yellow
H10	Ath yanni (Tizi Ouzou)	Semi-crystalline	Brown
H11	Tigzirth (Tizi Ouzou)	Fluid	Mimosa yellow
H12	Tighremt (Bejaïa)	Fluid	Brown
H13	Timezrit (Bejaïa)	Fluid	Dark
H14	Bouhamza (Bejaïa)	Semi-crystalline	Light brown
H15	Ilmaten (Bejaïa)	Fluid	Somber brown
H16	Bouhadjer (El-Taref)	Crystalline	Dark yellow
H17	Guelma	Crystalline	Somber yellow
H18	Medea	Crystalline	Yellow
H19	Setif	Semi-crystalline	Light yellow
H20	Bourj Bouarreridj	Crystalline	Light yellow

2.2. Pollen analysis

Pollen analysis was carried out using the methods previously reported by Louveaux [16].

10 g of honey was dissolved in 20 ml of acidulated water (H_2SO_4 , 5%) and then centrifuged for 10 min at 3000 tours/min. After the supernatant was discarded, 10 ml of acidified water were added to the sediment and then centrifuged again under the same conditions and the supernatant was then removed. The residue obtained was then observed under $\times 40$ magnification using a Light optical microscope (Zeiss Axiolab, Göttingen, Germany). Pollen grains were identified by referring to general palynological databases CETAM (Bee Studies Center of Moselle, France) and the existing information about the flora of Algeria and southern regions where honey samples were collected [17].

2.3. Physicochemical parameters

Samples were analyzed for moisture content, pH, proline, HMF, electrical conductivity (EC), and specific rotation according the method reported by Bogdanov et al. [18]. Color and protein contents were determined too.

2.3.1. Water content and pH

Water content (moisture) was determined from the refractive index of the honey using ABBE-type refractometer (AR12, SCHMIDT, and HAENSCH). The values were obtained by reference to CHATAWAY table. The pH was assessed in a 10% (w/v) solution of honey in distilled water by mean of HANNA pH meter.

2.3.2. Proline

The proline content was determined by using a color comparison after applying ninhydrin, with a proline standard. The absorbance was determined (510 nm) using Vis-7220G (biotech engineering management GO LTD "UK") spectrophotometer. Proline concentration in mg/kg of honey was calculated as follows:

$$\text{Proline (mg/kg)} = (E_s/E_a) \times (E_1/E_2) \times 80 \quad (1)$$

where E_s is the absorbance of the sample solution; E_a is the absorbance of the proline standard solution (average of 3 readings); E_1 is the mg of proline used for the standard solution; E_2 is the weight of honey sample in grams; 80 is the dilution factor.

2.3.3. Hydroxymethylfurfural

Hydroxymethylfurfural (HMF) content was determined by a spectrophotometric method. A quantity of 5g of honey samples was dissolved in 25 ml of distilled water. A 0.5 ml of Carrez I solution (15%) and 0.5 ml of Carrez II solution (30%) were added. The mixture was adjusted to 50 ml with distilled water. After filtration, the first 10 ml of the filtrate is discarded. Two aliquots of 5 ml are then introduced into two tubes tests, one with 5 ml of distilled water (analysis aliquot) and the other with 5 ml of sodium bisulphate at 2% (reference aliquot). The absorbance was read at 284 nm and 336 nm. The difference between the absorbance of a clear aqueous honey solution (clarified with Carrez I and II solutions) and the same solution after the addition of bisulphite was determined to prevent other components from interfering. The HMF content was calculated as follows:

$$\text{HMF (mg/kg)} = [(A_{284} - A_{336}) \times 149.7 \times 5 \times F]/W \quad (2)$$

where A_{284} is the absorbance at 284 nm; A_{336} is the absorbance at 336 nm; F is the dilution factor, when the absorbance is greater than 0.6; W is the weight of honey sample in grams; 149.7 is a constant.

2.3.4. Rotating power

The specific rotation was measured in a polarimeter (Polaser-SI) using a clear and filtered aqueous solution of honey. Measurements were taken at 20°C.

2.3.5. Electrical conductivity and ash content

Electrical conductivity was measured in a 20% (w/v) solution of honey in deionized water with low electrical conductivity (< 14 $\mu\text{S/cm}$) using Eutech Con 510 electrical conductivity meter. The EC was calculated as follows:

$\text{EC (mS/cm)} = \text{EC}_m - A$, where EC_m is the value measured by the conductivity meter; A is calculated by this equation:

$$A = (\text{EC}_m \times 0.032) \times (T - 20^\circ) \quad (3)$$

where 0.032 is the correction factor; T is the temperature of measurement.

The ash content was directly determined according to Piazza et al. [19] as follows:

$\text{Ash (mg/100 g)} = (\text{EC} - 0.143)/1.743$, where EC is the electrical conductivity in $\mu\text{S/cm}$ at 20 °C; 0.143 and 1.743 are constants.

2.3.6. Color

Honey color intensity was determined according to the method described by Bath and Singh [20]. 1g of honey sample was dissolved in 4ml of distilled water. After homogenization, the absorbance was read at 450 nm.

2.3.7. Proteins content

The content of proteins was determined by the method of Azeredo et al. [21] using an albumin standard solution of bovine serum (BSA). The BSA equivalents for the honey solutions were evaluated. The results were expressed as mg of BSA equivalents per 100g of honey (mg BSAE/100 g) ($y = 1.595x$; $R^2 = 0.977$).

2.4. Quantification of antioxidants

2.4.1. Total phenolic compounds

Total phenolics of honey samples were determined spectrophotometrically by the Folin–Ciocalteu method (Ouchemoukh et al. [22]), using gallic acid as the calibration standard (0.04–0.08 mg/ml). The content of total phenolics was expressed as mg of gallic acid equivalents (mg GAE/100 g) ($y = 5.650x$; $R^2 = 0.998$).

2.4.2. Flavonoids

The content of flavonoids was determined according to Ouchemoukh et al. [22], using a standard curve with different concentrations of quercetin (0.1–0.5 mg/ml) whose linearity was 0.9968 (R^2) ($y = 1.2205x$). The results were expressed as mg of quercetin equivalents per 100 g of honey (mg QE/100 g).

2.5. Antioxidant activities

2.5.1. Reducing power

The reducing power of the honey samples was estimated according to the method described by Beretta et al. [11]. Gallic acid was used as standard to produce the calibration curve (0.0066–0.033 mg/ml). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (mg GAE) per 100 g of honey ($y = 35.38x$; $R^2 = 0.998$).

2.5.2. Phosphomolybdenum method

Total antioxidant capacities of the analyzed honeys were evaluated by the phosphomolybdenum method as described by Amessis-Ouchemoukh et al. [23]. Gallic acid was used as standard (0.04–0.08 mg/ml). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (mg GAE) per 100 g of honey ($y = 3.637x$; $R^2 = 0.998$).

2.5.3. Ferric reducing antioxidant power

The ferric reducing antioxidant (FRAP) assay was assessed by the method of Benzie and Strain [24], using gallic acid as the calibration standard (0.004–0.02 mg/ml). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (mg GAE) per 100 g of honey ($y = 45.33x$; $R^2 = 0.996$).

2.5.4. ABTS radical scavenging assay

The 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) radical scavenging assay was evaluated using the procedure described by Amessis-Ouchemoukh et al. [23]. The percentage inhibition was calculated as ABTS radical scavenging activity using the following formula (Eq. 4).

$$\% \text{ inhibition} = [(A_c - A_s)/A_c] \times 100 \quad (4)$$

where A_c is the control absorbance; A_s is the absorbance of the honey sample.

2.5.5. DPPH radical scavenging assay

Free radical scavenging capacity for honey samples was also studied as described by Amessis-Ouchemoukh et al. [25], through the evaluation of the free radical scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. Results were expressed as a percentage of inhibition of DPPH radical using the given equation 4.

2.5.6. Metal chelating activity

The chelating ability of honey is determined by following the inhibition of the formation of Fe^{2+} -ferrozine complex after incubation with divalent iron. The ability of honey to chelate iron (II) was assessed by the method of Amessis-Ouchemoukh et al. [26]. The ratio of inhibition of ferrozine- Fe^{2+} complex formation was calculated with the same formula of Eq. 4.

2.6. Statistical analysis

The averages and the standard deviations were calculated with Microsoft Office Excel 2007. The software STATISTICA 5.5 was used to compare the different results by the analysis of variance with one factor (ANOVA). The results were classified by decreasing order. Analyses were performed in triplicate and differences were considered significant at $*p < 0.05$. The values obtained carrying the same letter do not present any significant difference at $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Pollen analysis

In the present study, melissopalynological analyses was carried out by identifying the most numerous pollen grains and those grains with specific morphologic characteristics. The abundance of each taxa (frequency of pollen appearance) was categorized as follows: Predominant pollen $> 45\%$, secondary pollen: 16–45%; minor pollen : 3–15%, and important minor pollen $< 3\%$ [16].

Pollen analysis showed that 60 % of honey samples were multifloral and 40% were monofloral (Table 2), belonging to two different botanical families, *Fabaceae* sp., which was the most predominant source used by honeybees in Algeria, followed by *Myrtaceae* sp. These genus were important melliferous plants in the mediterranean area. According to the obtained results, Bejaia region was mainly characterized by multifloral honeys. This result was in agreement with Ouchemoukh et al. [22] which confirmed that the honeys of northern Algeria contain more botanical families than those from other regions; due to the difference in the geographical characteristics of the harvesting sites, the botanical diversity of northern and southern Algeria, and the absence of large-scale monocultures in the studied region. Multifloral honeys were represented with H4-10,13,15,16,19 and H20 samples, and several predominant and secondary pollen types were found in them (*Liliaceae*, *Fabaceae*, *Apiaceae*, *Ericaceae*, *Rhamnaceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Asteraceae*, etc.). Monofloral honeys were represented with H2, H3, H11, H12, H14, H17, and H18 samples where the predominant pollen content was *Fabaceae* (more than 45%) and H1 sample with the predominant pollen *Myrtaceae* (50%). In addition, other different minor pollen types exist.

3.2. Physicochemical parameters

Physicochemical analyses of honey from different regions of Algeria were summarized in Table 3. Water content, a quality criterion used primarily to estimate the maturity degree of honey, ranged between 14.95% (H20) for Adekar honey (Bejaia) and 22.27% (H08) for Bourdj Bouarreridj honey with an average of $17.64 \pm 0.43\%$. These values were below the maximum limit (20%) set by the European Commission [1] and were different from those reported by Belay et al. [27] (15.87% to 19.35%) on Ethiopian honeys and Escuredo et al. [28] (16.9% to 18%) on Atlantic European area honeys. Honey samples H08, H15, and H10 showed very high humidity which could be mainly explained by the premature extraction, the conditions of elaboration and preservation, and the harvest period of these honeys. As reported by Shantal Rodriguez Flores et al. [29], moisture variation of analyzed honeys may be due to the water content of plants used by worker bees, the strength of bees colonies, the floral origin (nectar and/or honeydew), the climate and the abilities of the beekeeper.

Table 2
Pollen spectra and pollen percentages of the analyzed honey

Samples	Botanical origin	Predominant pollen (>45%)		Secondary pollen (16–45%)		Minor pollen (3–15%)		Important minor pollen (<3%)	
		Pollen type	%	Pollen type	%	Pollen type	%	Pollen type	%
H01	<i>Myrthaceae</i>	<i>Myrthaceae</i>	50	<i>Fabaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i>	(18) (16)	<i>Brassicaceae</i>	9	<i>Cistaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Oleaceae</i> , <i>Apiaceae</i>	(2), (2), (2), (1)
H02	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	67	-	-	<i>Brassicaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Lamiaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Apiaceae</i>	(8), (6), (5) (4), (4), (3)	<i>Cistaceae</i> , <i>Oleaceae</i>	(1), (1)
H03	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	46	-	-	<i>Asteraceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Gentianaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Tiliaceae</i> , <i>Apiaceae</i>	(14), (8), (8), (7), (7), (5), (4)	<i>Caprifoliaceae</i>	1
H04	Multifloral	-	-	<i>Liliaceae</i>	29	<i>Fabaceae</i> , <i>Cistaceae</i> , <i>Rutaceae</i> , <i>Asteraceae</i> , <i>Rhamnaceae</i>	(14), (5), (5), (4), (3)	<i>Apiaceae</i> , <i>Nyssaceae</i> , <i>Lamiaceae</i> , <i>Gentianaceae</i> , <i>Tiliaceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Corylaceae</i> , <i>Cyperus</i> , <i>Salicaceae</i> , <i>Scrofulariaceae</i> , <i>Hyperaceae</i>	(2), (2), (2), (2), (1), (1), (1), (1), (1), (1), (1)
H05	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i>	19	<i>Asteraceae</i> , <i>Beassicaceae</i> , <i>Gentianaceae</i> , <i>Cistaceae</i> , <i>Tiliaceae</i> <i>Liliaceae</i> , <i>Myrthaceae</i>	(14), (9), (9), (6), (5), (4), (3)	<i>Anacardiaceae</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Chenopodiaceae</i> , <i>Lamiaceae</i> , <i>Poaceae</i>	(2), (2), (1), (1), (1)
H06	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i> , <i>Apiaceae</i>	(35) (22)	<i>Rhamnaceae</i> , <i>Asteraceae</i> , <i>Lamiaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Oleaceae</i> , <i>Gentianaceae</i>	(9), (5), (5), (5), (5), (3)	<i>Brassicaceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Tiliaceae</i>	(2), (1), (1), (1)
H07	Multifloral	-	-	-	-	<i>Brassicaceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Oleaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i> , <i>Asteraceae</i> , <i>Rutaceae</i> , <i>Fabaceae</i> , <i>Cistaceae</i>	(14), (14), (14) (14), (10), (9), (8), (4)	<i>Aceraceae</i> , <i>Ericaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Tiliaceae</i>	(1), (1), (1), (1)
H08	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i> , <i>Ericaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i>	(30) (17) (16)	<i>Gentianaceae</i> , <i>Myrthaceae</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Cistaceae</i>	(10), (8), (4), (4)	<i>Asteraceae</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Tiliaceae</i>	(2), (2), (1), (1), (1)
H09	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i>	37	<i>Myrthaceae</i> , <i>Gentianaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i> , <i>Ericaceae</i>	(14), (13), (9), (5)	<i>Asteraceae</i> , <i>Lamiaceae</i> , <i>Liliaceae</i> , <i>Nyssaceae</i> , <i>Tiliaceae</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Brassicaceae</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Rutaceae</i>	(2), (2), (2), (2), (2), (1), (1), (1), (1)
H10	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i>	33	<i>Myrthaceae</i> , <i>Gentianaceae</i> , <i>Rhamnaceae</i> , <i>Ericaceae</i> , <i>Corylaceae</i> , <i>Liliaceae</i>	(14), (8), (7), (4), (3), (3)	<i>Brassicaceae</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Asteraceae</i> , <i>Hyperaceae</i> , <i>Lamiaceae</i>	(2), (2), (2), (1), (1), (1), (1)

(Continued)

Table 2
(Continued)

Samples	Botanical origin	Predominant pollen (> 45%)		Secondary pollen (16–45%)		Minor pollen (3–15%)		Important minor pollen (< 3%)	
		Pollen type	%	Pollen type	%	Pollen type	%	Pollen type	%
H11	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	48	<i>Ericaceae</i>	38	<i>Apocyanaceae</i>	4	<i>Asteraceae, Apiaceae, Fagaceae, Oleaceae</i>	(2), (1), (1), (1)
H12	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	92			-	-	<i>Apiaceae, Apocyanaceae, Borraginaceae, Ericaceae</i>	(1), (1), (1), (1)
H13	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i>	35	<i>Borraginaceae, Fagaceae, Rhamnaceae, Brassicaceae, Cistaceae, Cornaceae, Oleaceae</i>	(15), (7), (6), (3), (3), (3), (3)	<i>Cyperus, Lamiaceae, Myrthaceae, Tiliaceae, Apiaceae, Apocyanaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Ericaceae, Gentianaceae, Sapindaceae</i>	(2), (2), (2), (2), (1), (1), (1), (1)
H14	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	58	-	-	<i>Ericaceae, Borraginaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cistaceae</i>	(8), (5), (4), (3), (3)	<i>Apiaceae, Aquifoliaceae, Fagaceae, Corylaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Rhamnaceae, Rosaceae</i>	(2), (2), (2), (1), (1), (1), (1), (1)
H15	Multifloral	-	-	<i>Fabaceae</i>	39	<i>Rhamnaceae, Brassicaceae, Oleaceae, Apiaceae, Gentianaceae</i>	(13), (11), (6), (3), (3)	<i>Asteraceae, Borraginaceae, Cistaceae, Tiliaceae, Campanulaceae, Convovulaceae, Corylaceae, Myrthaceae, Nyssaceae</i>	(2), (2), (2), (2), (1), (1), (1), (1)
H16	Multifloral	-	-	<i>Rutaceae</i>	34	<i>Fabaceae, Liliaceae, Brassicaceae, Césalpinaceae</i>	(14), (13), (4), (4)	<i>Rhamnaceae, Tiliaceae, Apiaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Oleaceae</i>	(2), (2), (1), (1), (1), (1)
H17	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	80	-	-	<i>Asteraceae</i>	3	<i>Brassicaceae, Rhamnaceae, Borraginaceae, Cistaceae, Hydrophyllaceae, Oleaceae, Sapindaceae, Rutaceae</i>	(2), (2), (1), (1), (1), (1), (1)
H18	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	72	-	-	<i>Rhamnaceae, Apiaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Rosaceae, Myrthaceae</i>	(8), (4), (3), (3), (3), (4)	<i>Tiliaceae, Asteraceae</i>	(2), (1)
H19	Multifloral	-	-	<i>Myrthaceae, Rhamnaceae</i>	(29) (22)	<i>Fabaceae, Oleaceae, Brassicaceae, Apiaceae, Liliaceae</i>	(7), (7), (6), (5), (3)	<i>Aceraceae, Corylaceae, Convovulaceae</i>	(2), (2), (1)
H20	Multifloral	-	-	<i>Asteraceae, Rhamnaceae, Fabaceae</i>	(30) (23) (20)	<i>Apiaceae, Oleaceae, Lamiaceae</i>	(5), (4), (3)	<i>Brassicaceae, Cistaceae, Gentianaceae, Hyperaceae, Liliaceae, Mimosaceae, Myrthaceae, Scrofulariaceae, Tiliaceae</i>	(2), (2), (2), (2), (1), (1), (1), (1), (1)

Table 3
Some physicochemical characteristics of Algerian honeys

Honey Samples	Moisture (%)	pH	Proteins (mg BSAE/100g)	Proline (mg/kg)	HMF (mg/kg)	ash (mg/100g)	Electrical conductivity (mS/cm)	Specific rotation	Color intensity
H01	18.33 ± 0.14 ^c	3.91 ± 0.11 ^{def}	135.77 ± 0.95 ^a	2976.95 ± 26.19 ^c	5.39 ± 0.30 ^{mn}	908.95 ± 9.59 ^c	1.58 ± 0.016 ^c	-9.23 ± 0.04 ^j	1.46 ± 0.016 ^c
H02	17.16 ± 0.00 ^{def}	4.21 ± 0.03 ^{abc}	64.42 ± 1.74 ^j	2043.68 ± 64.35 ^h	3.52 ± 0.52 ^o	1022.19 ± 4.62 ^a	1.78 ± 0.008 ^a	-2.07 ± 0.24 ^c	0.92 ± 0.004 ^h
H03	17.67 ± 0.10 ^{cd}	3.91 ± 0.17 ^{def}	109.19 ± 1.27 ^d	3730.90 ± 65.16 ^a	8.61 ± 0.52 ^{hi}	780.53 ± 1.88 ^d	1.36 ± 0.003 ^d	-4.25 ± 0.16 ^{ef}	1.78 ± 0.016 ^a
H04	16.40 ± 0.52 ^{efgh}	3.95 ± 0.17 ^{de}	70.12 ± 0.47 ⁱ	1741.23 ± 51.68 ⁱ	9.43 ± 0.75 ^h	428.84 ± 4.37 ^j	0.75 ± 0.008 ^j	-3.34 ± 0.22 ^d	0.79 ± 0.002 ^l
H05	16.00 ± 0.52 ^{ghij}	3.96 ± 0.26 ^{de}	99.70 ± 1.27 ^e	2819.24 ± 61.82 ^d	2.62 ± 0.07 ^o	467.74 ± 4.03 ⁱ	0.82 ± 0.007 ⁱ	-18.46 ± 0.76 ^k	1.10 ± 0.005 ^d
H06	18.16 ± 0.20 ^{cd}	3.90 ± 0.06 ^{defg}	137.83 ± 2.37 ^a	3096.84 ± 43.76 ^b	3.44 ± 0.15 ^o	659.76 ± 3.44 ^e	1.15 ± 0.006 ^e	-9.49 ± 0.35 ^j	1.65 ± 0.008 ^b
H07	17.36 ± 0.60 ^{cde}	3.82 ± 0.10 ^{defgh}	117.58 ± 1.11 ^c	2468.19 ± 116.04 ^f	1.50 ± 0.90 ^p	520.85 ± 6.51 ^{gh}	0.91 ± 0.011 ^{gh}	/	1.00 ± 0.008 ^e
H08	22.27 ± 0.06 ^a	3.67 ± 0.15 ^{gh}	123.11 ± 4.11 ^b	2329.92 ± 17.15 ^g	34.73 ± 0.45 ^a	528.83 ± 4.10 ^{fg}	0.92 ± 0.007 ^{fg}	-5.46 ± 0.20 ^g	0.69 ± 0.008 ^m
H09	17.40 ± 0.00 ^{cde}	3.81 ± 0.12 ^{defgh}	73.91 ± 2.37 ^h	1525.20 ± 78.47 ^j	5.09 ± 0.45 ⁿ	350.17 ± 3.87 ^l	0.61 ± 0.007 ^l	-6.30 ± 0.55 ^h	0.68 ± 0.003 ^m
H10	21.40 ± 0.28 ^a	3.65 ± 0.07 ^h	97.80 ± 3.48 ^e	2287.80 ± 60.71 ^g	16.62 ± 0.00 ^d	280.15 ± 11.16 ^m	0.49 ± 0.019 ^m	-3.91 ± 0.33 ^e	1.00 ± 0.011 ^e
H11	16.15 ± 0.30 ^{fghi}	3.72 ± 0.07 ^{fgh}	34.99 ± 0.47 ⁿ	731.27 ± 30.11 ⁿ	7.34 ± 0.30 ^{jk}	387.35 ± 2.82 ^k	0.68 ± 0.005 ^k	-4.49 ± 0.04 ^f	0.25 ± 0.007 ^p
H12	16.41 ± 0.64 ^{efg}	4.35 ± 0.18 ^a	81.82 ± 4.59 ^g	1733.67 ± 52.15 ⁱ	6.06 ± 0.52 ^{lm}	989.16 ± 10.92 ^b	1.72 ± 0.019 ^b	+6.46 ± 0.32 ^b	1.11 ± 0.013 ^d
H13	19.60 ± 0.40 ^b	3.79 ± 0.08 ^{efgh}	59.20 ± 0.95 ^k	2844.08 ± 45.87 ^d	13.77 ± 0.60 ^f	477.44 ± 10.44 ⁱ	0.83 ± 0.018 ⁱ	-6.26 ± 0.11 ^h	0.94 ± 0.014 ^g
H14	17.31 ± 0.02 ^{cde}	4.03 ± 0.19 ^{bcd}	62.68 ± 1.58 ^j	3156.25 ± 39.82 ^b	21.03 ± 0.52 ^c	351.12 ± 3.74 ^l	0.61 ± 0.007 ^l	/	0.98 ± 0.005 ^f
H15	21.87 ± 1.26 ^a	4.25 ± 0.06 ^{ab}	64.58 ± 0.00 ^j	976.47 ± 34.35 ^m	31.21 ± 1.12 ^b	537.59 ± 4.42 ^f	0.94 ± 0.008 ^f	/	0.90 ± 0.005 ⁱ
H16	15.17 ± 2.38 ^{ij}	3.80 ± 0.14 ^{defgh}	57.46 ± 1.42 ^k	1166.58 ± 43.84 ^l	11.23 ± 1.05 ^g	528.46 ± 3.29 ^{fg}	0.92 ± 0.006 ^{fg}	/	0.82 ± 0.002 ^k
H17	15.27 ± 0.10 ^{hij}	3.83 ± 0.09 ^{defgh}	84.67 ± 1.42 ^{fg}	1824.41 ± 51.44 ⁱ	14.97 ± 0.15 ^e	474.30 ± 3.44 ⁱ	0.83 ± 0.006 ⁱ	-5.70 ± 0.27 ^g	0.85 ± 0.007 ^j
H18	17.79 ± 0.36 ^{cd}	3.95 ± 0.17 ^{de}	86.88 ± 1.42 ^f	2720.95 ± 73.92 ^e	6.44 ± 0.15 ^{kl}	391.09 ± 0.35 ^k	0.68 ± 0.001 ^k	-6.83 ± 0.15 ⁱ	0.68 ± 0.004 ^m
H19	16.07 ± 0.58 ^{fghij}	4.00 ± 0.18 ^{cde}	40.06 ± 1.11 ^m	1300.52 ± 24.75 ^k	8.23 ± 0.30 ^{ji}	513.20 ± 9.63 ^h	0.89 ± 0.017 ^h	/	0.40 ± 0.009 ^o
H20	14.95 ± 0.10 ^j	3.87 ± 0.18 ^{defgh}	46.70 ± 0.79 ^l	1325.37 ± 43.60 ^k	13.77 ± 0.15 ^f	167.04 ± 6.75 ⁿ	0.29 ± 0.012 ⁿ	-4.10 ± 0.10 ^{ef}	0.60 ± 0.010 ⁿ

Values are mean ± standard deviation. Means followed by the same letter in each column were not different according to ANOVA (Analysis Of Variance) ($p < 0.05$).

The pH results showed that all honeys (multifloral and monofloral) are acidic, having a pH in the range of 3.65–4.35. The acidity of honey is due to the presence of organic acids, particularly the gluconic acid and inorganic ions such as phosphate and chloride [30]. These results agreed with data reported by Silva et al. [31] (3.45 to 4.70) on Portuguese honeys; Serem et al. [32] (3.87 to 5.12) on South African honeys and Özcan and Ölmez [33] (3.61 at 4.67) on Turkish honeys. Though the honeys H04 and H18 were from two different regions, they had the same pH ($P < 0.05$). The pH is between 3.5 and 4.5 for nectar honeys and between 4.5 and 5.5 for honeydew honeys [27]. Therefore the analyzed honeys are nectar honeys.

The electrical conductivity of honey samples varied between 0.29 mS/cm and 1.78 mS/cm with an average of 0.94 ± 0.01 mS/cm. This average value was higher than that of Italian honeys obtained by Fallico et al. [34] (0.33 mS/cm). The majority of values obtained (except those of H01, H02, and H12) were included in the range of values reported by Belay et al. [27] on Madrid honeys (0.119 to 1.515 mS/cm). The electrical conductivity of samples H05, H17, H13, H19, H16, H07, H08, H15, H06, H03, H12, H01 and H02 exceeded 0.8 mS/cm, suggesting the presence of honeydew in honeys mentioned and the rest samples were nectar honeys. Honeys H08 from Adekar (Bejaia) and H16 from Bouhdjer (El-Taref) had the same conductivity ($P < 0.05$) which was 0.92 mS/cm. This parameter depends on acidity and the mineral content of the honey, moreover a correlation was found between the latter and the electrical conductivity ($r = 1.00$, $p \leq 0.001$). Indeed, more these parameters are higher, more the corresponding conductivity is high [19].

The ash content of the studied honey samples ranged from 0.17 to 1.02% with a mean of $0.54 \pm 0.005\%$. These results were different from those obtained by Ouchemoukh et al. [22] (0.06 to 0.54%) and Soria et al. [35] (0.003 to 0.99%). The variation of the ash content depends on the botanical origin, the season, and mineral composition of the soil [27]. A correlation was found between ash and color intensity ($r = 0.54$, $p \leq 0.001$). This result was in accordance with Alvarez-Suarez et al. [14] who found that the amber color of honeys corresponded to high ash content, while the lowest values of ash were found in light-colored honeys.

Protein contents of analyzed honeys varied from 34.99 to 137.82 mg BSAE/100 g with an average of 82.42 ± 1.65 mg BSAE/100 g. These results agreed with those obtained by Yücel and Sultanoğlu [36] (13 to 115 mg BSAE/100 g) on Hatay honeys and distinct from those reported by Özcan and Ölmez [33] (60 to 106 mg BSAE/100 g) on Turkish honeys. According to the proteins content, the analyzed honeys were classified in decreasing order: H06 = H01 > H08 > H07 > H03 > H0 = H10 > H18 \geq H17 \geq H12 > H09 > H04 > H15 = H02 = H14 > H13 = H16 > H20 > H19 > H11 ($P < 0.05$). Protein content of Barbacha honey H06 (Bejaia) was higher and differed significantly from other samples. This could be explained by the presence of a high concentration of pollen in the honey and its botanical origin.

The concentrations of proline ranged between 731.27 mg/kg (H11) and 3730.90 mg/kg (H03) with an average of 2139.98 ± 51.26 mg/kg. These rates were widely higher than 180 mg/kg, the minimal limit proposed by Bogdanov et al. [18]. These results indicated the maturity of analyzed honeys and the absence of adulteration. The average obtained was greater than that reported by Meda et al. [37] on Burkina Faso honeys (910 ± 267.9 mg/kg) and it agreed to that found by Khalil et al. [38] on Algerian honeys (2131.47 ± 0.90 mg/kg). The changes in proline levels may be attributed to the strength of bee colonies [39, 40].

The color of the analyzed samples varied from mimosa yellow to dark brown. The results of the color intensity ranged from 0.250 (H11) to 1.778 (H03) with an average of 0.930 ± 0.008 . High variability in the color of honeys could be attributed to their floral origin and ash content. The dark color of honey samples H03, H06 and H01 was probably due to the diversity of vegetation in regions of Tavel, Barbacha and Tizi adjissa, respectively, subsequently a high variability in their chemical composition.

The specific rotation was levorotatory in most honey samples. It ranged from -18.46 (H05) to -2.07 (H02). Only sample H12 was dextrorotatory (6.46). Tighremt honey (Bejaia) was dextrorotatory. This could be explained by its high content on trisaccharides (dextrorotatory) compared to fructose (levorotatory). According to Bogdanov et al. [41] natural honey has the property of rotating the plane of polarised light to the left. The overall specific rotation of honey depends on the concentration of the various sugars present in the honey. Chemini honey (Bejaia) was levorotatory over other honeys. This result may be due to the very high ratio fructose/sucrose.

Table 4
Total phenolic compounds and flavonoids founds in the studied honeys

Honey samples	Total phenolic compounds (mg GAE/100g)	Flavonoids (mg QE/100g)
H01	95.87 ± 4.99 ^a	67.79 ± 2.07 ^b
H02	57.17 ± 5.21 ^e	32.72 ± 1.07 ^{hi}
H03	87.96 ± 1.24 ^b	80.02 ± 1.49 ^a
H04	40.29 ± 1.18 ^{jk}	37.31 ± 2.89 ^e
H05	77.70 ± 0.77 ^c	48.50 ± 0.66 ^e
H06	93.22 ± 2.66 ^a	57.63 ± 0.09 ^c
H07	64.13 ± 1.28 ^{ef}	50.36 ± 1.72 ^{de}
H08	43.48 ± 1.15 ^{ij}	27.31 ± 5.35 ⁱ
H09	37.05 ± 1.14 ^{kl}	14.86 ± 1.25 ^k
H10	59.17 ± 1.68 ^e	71.06 ± 6.81 ^b
H11	22.42 ± 1.42 ^m	8.90 ± 0.34 ^l
H12	66.55 ± 2.01 ^{de}	41.79 ± 1.15 ^f
H13	48.14 ± 3.22 ^h	37.36 ± 0.49 ^e
H14	64.19 ± 1.43 ^{ef}	37.91 ± 0.41 ^e
H15	96.17 ± 3.50 ^a	79.26 ± 0.99 ^a
H16	48.55 ± 3.17 ^h	54.19 ± 1.48 ^{cd}
H17	46.55 ± 1.28 ^{hi}	34.14 ± 2.57 ^{gh}
H18	60.65 ± 1.20 ^{fg}	35.94 ± 0.68 ^{gh}
H19	33.10 ± 1.99 ^l	16.39 ± 0.75 ^k
H20	69.91 ± 2.65 ^d	29.28 ± 0.93 ^{ij}

Values are mean ± standard deviation ($n=3$). Means followed by the same letter were not different. ($p < 0.05$) according to ANOVA (Analysis Of Variance).

The HMF values of the different analyzed honeys ranged from 1.5 mg/kg (H07) for Bouaiche honey (Bejaia) to 34.73 mg/kg (H08) for Adekar honey (Bejaia) with an average of 11.25 ± 0.45 mg/kg. These results were within the range obtained by Özcani and Ölmez [33] (0.38 mg/kg to 42 mg/kg). Nevertheless, they were distinct from those reported by Belay et al. [27] (0.00 to 1.71 mg/kg). The results of this study showed the good quality of honey samples and they were in agreement with the International Honey Commission (40 mg/kg).

3.3. Antioxidant components

In the present study, the concentrations of total phenolic compounds (TPC) and flavonoids were determined and presented in Table 4. The total phenolic contents ranged from 22.41 (H11) to 96.16 mg GAE/100 g (H15) with an average of 60.61 ± 2.16 mg GAE/100 g. These results were within the range obtained by Silici et al. [42] on Turkish honeys (0.24 to 141.83 mg GAE/100 g) and Habib et al. [43] on Oriental honeys (30,81 to 132.60 ± 1.94 mg GAE/100 g). However, they were superior to those obtained by Lachman et al. [44] on 40 Czech honey samples (8.36 to 24.25 mg GAE/100 g). Idjissen Honey (Bejaia) and Ilmaten honey (Bejaia) harvested from different regions were the richest in total phenolic compounds, 95.87 and 96.73 mg GAE/100 g, respectively and their rates had a significant difference compared to those of other samples. Nevertheless, the H11 honey recorded the lowest phenolic content (22.41 mg GAE/100 g). The honey samples H13 (Timezrit) and H06 (Barbacha) were not from the same region but contained the same proportion of total phenolic compounds ($P < 0.05$). The

Table 5
 Ferric reducing power, phosphomolybdenum and FRAP assays of honey samples

Honey samples	Reducing power (mg GAE/100g)	Phosphomolybdenum method (mg AAE/100g)	FRAP method (mg GAE/100g)
H01	311.64 ± 8.87 ^b	17180.24 ± 274.88 ^m	81.04 ± 0.36 ^b
H02	160.21 ± 2.28 ^{hi}	19365.57 ± 233.65 ^{ij}	23.57 ± 0.27 ^m
H03	283.09 ± 3.77 ^c	20272.68 ± 481.05 ^{ef}	39.41 ± 1.60 ^j
H04	152.79 ± 3.71 ^j	20946.15 ± 412.33 ^{cd}	17.61 ± 1.51 ^o
H05	235.01 ± 1.81 ^e	21207.29 ± 233.65 ^c	47.59 ± 0.09 ^j
H06	89.99 ± 2.99 ⁿ	20492.59 ± 453.56 ^{de}	47.46 ± 0.22 ^j
H07	171.18 ± 3.66 ^g	20135.24 ± 233.65 ^{efg}	28.55 ± 0.18 ^l
H08	9.71 ± 0.52 ^o	18582.15 ± 137.44 ^k	12.10 ± 0.09 ^f
H09	162.27 ± 4.28 ^h	22279.34 ± 123.70 ^b	12.50 ± 0.22 ^q
H10	154.73 ± 1.30 ^{ij}	17771.24 ± 591.00 ^l	14.19 ± 0.04 ^p
H11	97.64 ± 1.24 ^m	20300.17 ± 371.09 ^e	13.12 ± 0.22 ^q
H12	358.00 ± 5.64 ^a	18582.15 ± 522.28 ^k	53.82 ± 0.44 ^e
H13	172.78 ± 1.76 ^g	19557.99 ± 233.65 ^{hij}	31.89 ± 0.13 ^k
H14	225.65 ± 3.77 ^f	19489.27 ± 137.44 ^{hij}	45.28 ± 0.36 ^h
H15	248.03 ± 1.24 ^d	25591.69 ± 27.49 ^a	139.43 ± 0.67 ^a
H16	140.23 ± 3.26 ^k	19049.45 ± 82.47 ^{jk}	42.25 ± 0.18 ⁱ
H17	116.71 ± 2.79 ^l	19750.41 ± 371.09 ^{fghi}	62.49 ± 0.67 ^d
H18	162.73 ± 2.37 ^h	20011.55 ± 219.91 ^{efgh}	72.01 ± 0.13 ^c
H19	86.79 ± 1.43 ⁿ	19654.20 ± 0.00 ^{ghi}	20.19 ± 0.09 ⁿ
H20	116.59 ± 0.71 ^l	20382.64 ± 316.12 ^e	52.35 ± 0.76 ^f

Values are mean ± standard deviation. Means followed by the same letter in each column were not different according to ANOVA (Analysis Of Variance).

variation in the TPC may be attributed to the botanical origin, the year of the harvest and the storage temperature. Indeed, H16 and H17 honeys harvested in warm regions, El-taref and Guelma, respectively, were less rich in these compounds. Generally, the total phenolic content of clear honeys is less than that of dark honeys [45]. This was confirmed by sample H09 (Bejaia) who had a low TPC and very clear yellow color, while the honey samples (H03) and (H06) had a dark brown color and rich in TPC.

Flavonoids (FLA) of honey samples ranged from 8.90 for Tigzirt honey (Tizi-Ouzou) to 80.02 mg QE/100 g for Tissa honey (Bejaia) with an average of 43.14 ± 1.66 mg QE/100 g. These values were different from those reported by Pichichero et al. [46] on Italian honeys (6.73 ± 0.34 to 16.43 ± 0.82 mg QE/100 g) and Habib et al. [43] on Oriental honeys (12.76 ± 0.74 to 109.49 ± 0.99 mg EC/100 g). According to the variance analysis, the studied honeys are ranked in the following decreasing order: H03 = H15 > H10 = H01 > H06 ≥ H16 ≥ H07 ≥ H05 > H12 > H14 = H13 = H04 ≥ H18 ≥ H17 ≥ H02 ≥ H20 ≥ H08 > H19 = H09 > H11 ($P < 0.05$). Flavonoïd contents of H03, H15 samples were the highest and had a significant difference compared to other honeys. Honey samples H04, H13, H14, H17 and H18 that were harvested in different regions, didn't register significant differences in the flavonoïds level. According to Lachman et al. [44], the flavonoïds content is influenced by the botanical and geographical origins and climatic conditions.

3.4. Antioxidant activities

In this study, several assays were applied to assess the antioxidant activities of honey samples and the obtained results were given in Table 5 and Figs. 1–3.

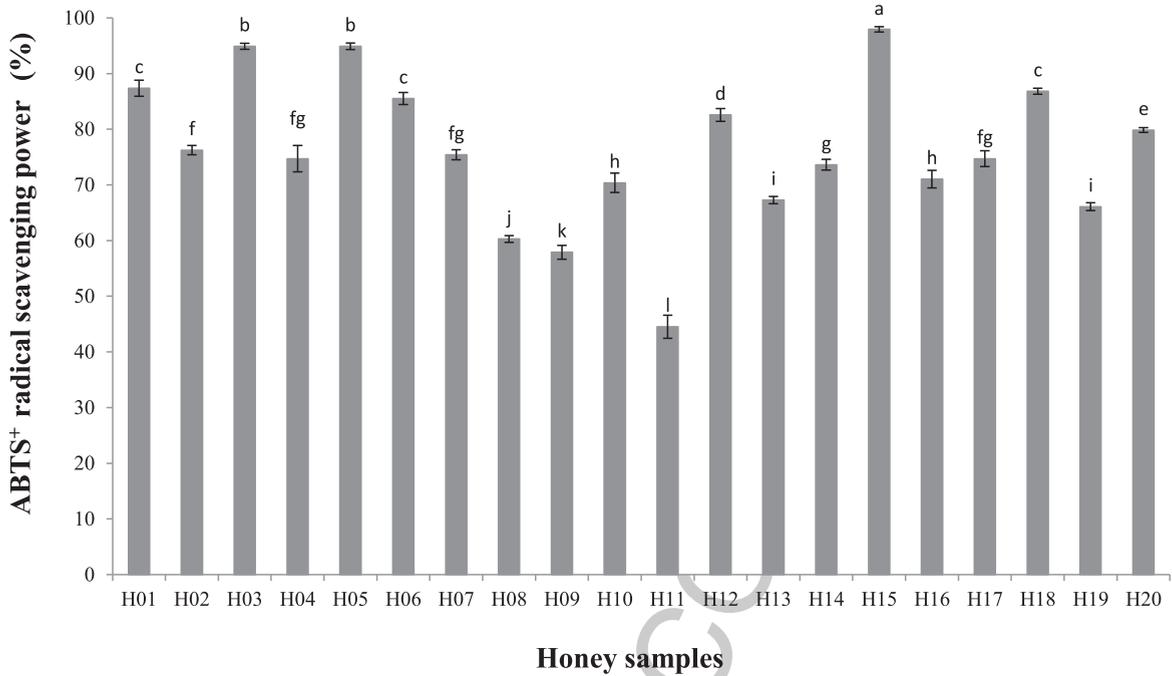


Fig. 1. ABTS radical scavenging activity exerted by honey samples. Vertical bars represent the mean \pm standard deviation for each data point. Bars marked with the same letter are not different according to ANOVA (Analysis Of Variance).

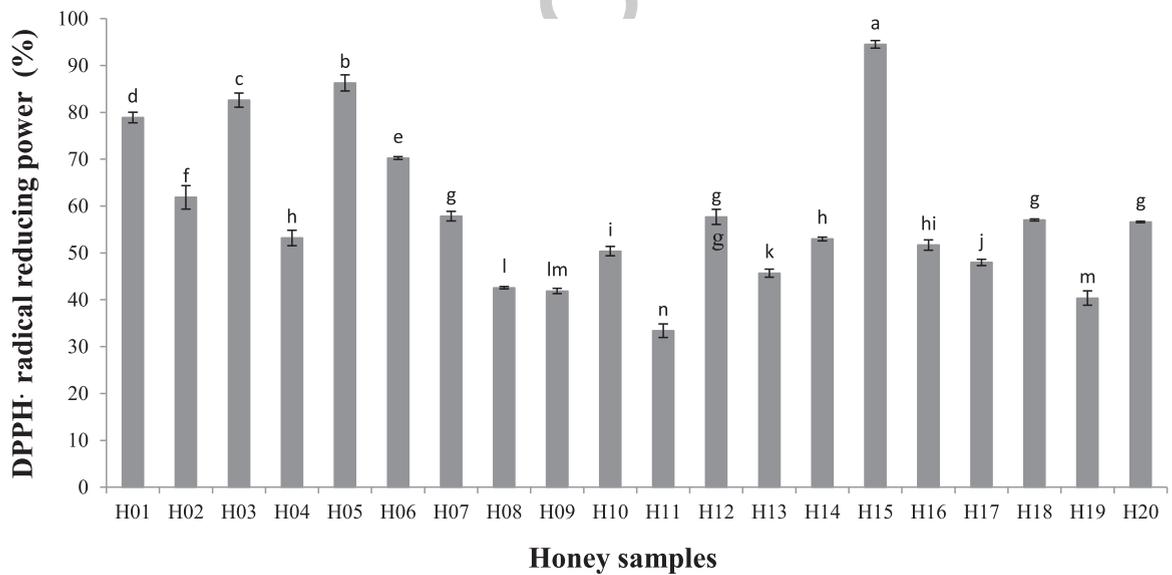


Fig. 2. Radical DPPH scavenging activity of honey samples. Different letter(s) indicate the values are significantly different ($*p < 0.05$).

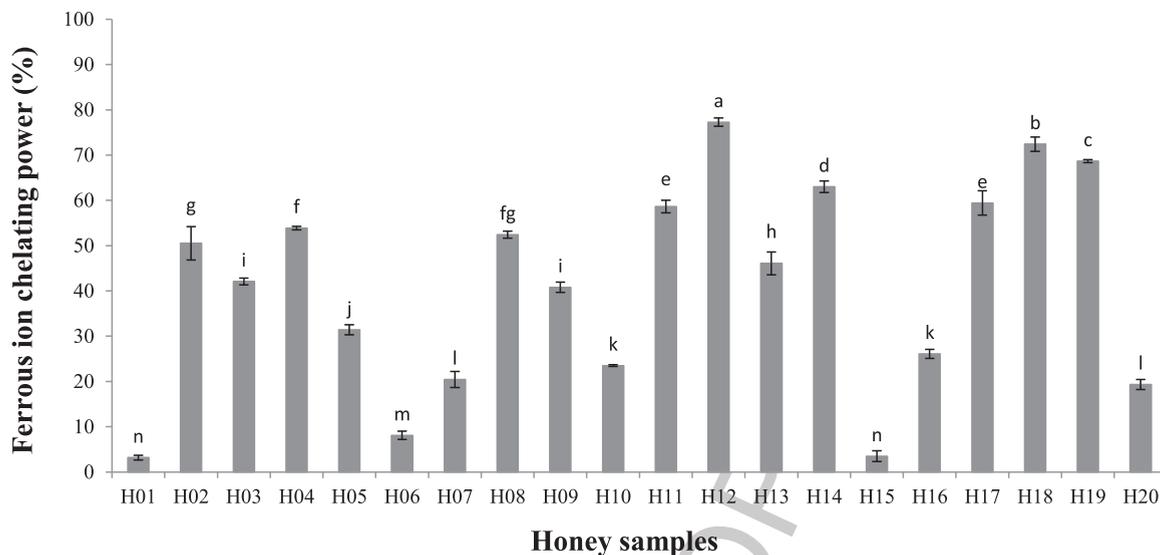


Fig. 3. Ferrous ion chelating activity showed by samples of honeys. Vertical bars represent the mean \pm standard deviation for each data point. Bars marked with the same letter are not different according to ANOVA (Analysis Of Variance).

The ABTS radical scavenging activity of honey samples varied between 44.52% (H11) and 97.95% (H15) with an average of $76.11 \pm 1.07\%$ (Fig. 1). The average value agreed to that obtained by Wilczynska [47] (79%) on buckwheat monofloral honeys. These results were different from those obtained by Habib et al. [43] on Oriental honeys (65.25 to 80.62%). Honey samples H01, H18 and H06; H02, H07, H17 and H04 had the same scavenger inhibition effect despite they were harvested in different geographical regions. Wilczynska [47] reported that antioxidant activity is high in dark honeys. It is the case of honey samples H15.

The DPPH radical scavenging activity exerted by honey samples (Fig. 2) varied from 33.4 (H11) to 94.50% (H15). The obtained results were different from those reported by Al et al. [48] on Romanian honeys (35.80 to 64.83%). Honey samples H18, H12, H20 and H07, collected in different regions, had the same antiradical activity and differed significantly from other samples. The antioxidant activity of honeys depends on the floral origin, structure, content and nature of the phenolic compounds and the presence of other non-phenolic compounds (catalase, vitamins) as reported in the literature [49, 50]. Very significant correlations were found between DPPH radical scavenging activity and phenolics compounds (Table 6).

The ferrous ion-chelating activity of honey samples varied between 3.17 (H01) and 77.28% (H12) with an average of $41.03 \pm 1.26\%$ (Fig. 3). Honeys (H11, H17), (H04, H08), (H02, H08), (H09, H3), (H10, H016), (H1, H15) and (H20, H7) showed no significant differences, this could be explained by their similar content in iron chelating agents.

The reducing power of all analyzed honeys ranged from 9.71 to 358 mg GAE/100 g with an average of 172.79 ± 2.87 mg GAE/100 g (Table 5). Honey samples M2, M9 and M18 showed no significant difference in their reductive ability ($P < 0.05$) despite they were harvested in different geographical regions. This could be explained by their similar polyphenols and flavonoids content and/or other reducing agents present at low concentrations.

In the molybdate assay, the obtained results (Table 5) showed that honey samples had the ability to reduce the molybdenum. Their antioxidant activities ranged from 17180.24 to 25591.69 mg AAE/100 g with an average of 20030.10 ± 272.82 mg AAE/100 g. Honeys H11 and H20; H08 and H12 showed no significant differences. This result may be due to the similarity of their antioxidants components.

Table 6
Correlation matrix between antioxidants and antioxidant activities

	TPC	FLA	FRAP	ABTS	DPPH	RP	AAP	FeChP
TPC	1.00							
FLA	0.81***	1.00						
FRAP	0.68***	0.53***	1.00					
ABTS	0.88***	0.74***	0.71***	1.00				
DPPH	0.77***	0.50***	0.59***	0.75***	1.00			
RP	0.58***	0.53***	0.48***	0.60***	0.36	1.00		
AAP	0.16	0.07	0.44	0.25	0.32	0.03	1.00	
FeChP	-0.63***	-0.62***	-0.37	-0.37	-0.58***	-0.09	-0.23	1.00

Abbreviations: TPC: total phenolic compounds; FLA: flavonoids; FRAP: Ferric reducing antioxidant power assay; ABTS: 2,20-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt assay; DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay; RP: reducing power; AAP: antioxidant activity with phosphomolybdate; FeChP: ferrous ion-chelating power. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

The FRAP assay showed a significant reduction variability depending on the honey's antioxidants. The results presented in Table 5 ranged from 12.10 (H08) to 139.43 mg GAE/100 g (H15) with an average of 42.84 ± 0.41 mg GAE/100 g. These values were different from those obtained by Lachman et al. [44] on Czech honeys (29.5 to 77.6 mg AAE/100 g). The honey samples were classified in decreasing order according to their reduction power as follows: H15 > H01 > H18 > H17 > H12 > H20 > H05 = H06 > H14 > H16 > H03 > H13 > H07 > H02 > H19 > H04 > H10 > H11 \geq H09 \geq H08 ($P < 0.05$). Honeys H05 and H06; H08, H09 and H11 showed no significant differences despite they were collected in different geographical regions.

3.5. Correlations

The correlation matrix between antioxidants and antioxidant activities was presented in Table 6. It indicated a very highly significant correlation between the concentrations of TPC and FLA ($r = 0.81$, $p \leq 0.001$). These results were in agreement with that obtained by Al et al. [48] and Alvarez-Suarez et al. [14]. The rates in antioxidants and antioxidant activities of honey samples showed very highly significant correlations. Indeed, the mean levels of TPC and FLA were highest in honey samples H03, H05 and H15 which correspond to the regions Tavel, Chemini and Ilmaten (Bejaia), respectively and demonstrated a better antioxidant activity. However, honey sample H11 from Tigzirt (Tizi-Ouzou) had a low content of these compounds, therefore a minimal antioxidant activity. Several studies reported that phenolic compounds and flavonoids were directly responsible on the antioxidant activity of honey.

A significant correlations were found between TPC and the following antioxidant assays: DPPH assay ($r = 0.77$, $p \leq 0.001$), ABTS ($r = 0.88$, $p \leq 0.001$), FRAP ($r = 0.68$, $p \leq 0.001$) and RP ($r = 0.58$, $p \leq 0.001$). These results were in agreement with those reported by Aljadi and Kamaruddin [51], Beretta et al. [11], Ferreira et al. [50] and Lachman et al. [44]. Flavonoids content of the different honey samples showed also very highly significant correlations with DPPH assay ($r = 0.50$, $p \leq 0.001$), ABTS ($r = 0.74$, $p \leq 0.001$), FRAP ($r = 0.53$, $p \leq 0.001$) and RP ($r = 0.53$, $p \leq 0.001$). These results were confirmed by Al et al. [48].

The correlation matrix between physicochemical parameters and antioxidant properties was given in Table 7. The Color registered a very highly significant correlation with antiradical activities ABTS ($r = 0.67$, $p \leq 0.001$) and DPPH ($r = 0.68$, $p \leq 0.001$) and it is linked positively to reducing power ($r = 0.53$, $p \leq 0.001$). The rates of total phenolic compounds and flavonoids presented a very highly significant correlation with color intensity (Table 7), ($r = 0.79$, $p \leq 0.001$) and ($r = 0.76$, $p \leq 0.001$), respectively. These results agreed with those obtained by Isla et al. [52]. The color intensity is related to the presence of pigments, such as carotenoids and flavonoids

Table 7
Correlation matrix between physicochemical parameters and antioxidant activities

	Moisture	pH	Proteins	Proline	HMF	ash	EC	SR	CI	TPC	FLA	FRAP	ABTS	DPPH	RP	AAP	FeChP
Moisture	1.00																
pH	-0.08	1.00															
Proteins	0.36**	-0.14	1.00														
Proline	0.21	-0.07	0.68***	1.00													
HMF	0.60***	-0.08	-0.09	-0.16	1.00												
ash	0.02	0.47***	0.35**	0.25	-0.28*	1.00											
EC	0.02	0.47***	0.35**	0.25	-0.28*	1.00***	1.00										
SR	-0.02	0.19	-0.30*	-0.26*	0.23	-0.09	-0.09	1.00									
CI	0.17	0.15	0.73***	0.76***	-0.21	0.54***	0.54***	-0.19	1.00								
TPC	0.24	0.31*	0.57***	0.51***	-0.01	0.37**	0.37**	-0.01	0.79***	1.00							
FLA	0.38**	0.13	0.52***	0.43***	0.12	0.30*	0.30*	0.12	0.76***	0.80***	1.00						
FRAP	0.16	0.43***	0.10	-0.02	0.26*	0.16	0.16	0.23	0.26*	0.68***	0.53***	1.00					
ABTS	0.06	0.46***	0.41**	0.44***	-0.07	0.34**	0.34**	0.01	0.67***	0.87***	0.73***	0.71***	1.00				
DPPH	0.17	0.39**	0.43***	0.38**	-0.03	0.39**	0.39**	0.01	0.68***	0.90***	0.78***	0.70***	0.91***	1.00			
RP	-0.04	0.51***	0.16	0.30*	-0.24	0.50***	0.50***	0.03	0.53***	0.57***	0.53***	0.48***	0.60***	0.60***	1.00		
AAP	0.08	0.28*	-0.26*	-0.33*	0.19	-0.25	-0.25	0.23	-0.14	0.15	0.07	0.44***	0.25	0.36**	0.03	1.00	
FeChP	-0.27*	0.14	-0.40**	-0.08	-0.04	0.02	0.02	-0.03	-0.43***	-0.63***	-0.62***	-0.38**	-0.38**	-0.56***	-0.09	-0.22	1.00

Abbreviations: HMF: hydroxymethylfurfural; EC: electrical conductivity, : specific rotation; CI: Color intensity; TPC: total phenolic compounds; FLA: flavonoids; FRAP: Ferric reducing antioxidant power assay; ABTS: 2,20-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt assay; DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay; RP: reducing power; AAP: antioxidant activity with phosphomolybdate; FeChP: Ferrous ion-chelating power. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

that are known to have antioxidant properties [38]. Much research demonstrated that honeys with intense color have very high levels of phenolic compounds while the light colored honeys have low concentrations [53–55]. Furthermore, they obtained good correlations between the following parameters: color, total phenolic compounds and antioxidant activities. Also, the color had very highly significant correlations with the protein content ($r = 0.73$, $p \leq 0.001$), proline levels ($r = 0.76$, $p \leq 0.001$) and electrical conductivity ($r = 0.54$, $p \leq 0.001$). It exhibited a very highly significant correlation with pH, this last showed a very highly significant correlation with the anti radical activities (ABTS and FRAP) and reducing power. The matrix correlation of honey samples showed a very highly significant correlation between the biochemical parameters and antioxidant activities. Honeys H03, H05 and H15 which correspond to regions of Tavel, chemini and Ilmaten (Bejaia), respectively were rich in total phenolic compounds, flavonoids, and ash and showed better antioxidant activity. However, honey H11 from Tigzirt (Tizi Ouzou) contained low concentrations of these constituents and showed a minor antioxidant activity. The amounts of protein and proline gave low correlation coefficients with the antioxidant assays (DPPH and ABTS) which could be explained by their low contribution in antioxidant capacity while no statistically significant correlations were observed between these components and ferric reducing power tests (FRAP and RP).

4. Conclusion

In the present study, 20 honey samples where the majority came from the Wilaya of Bejaia, were studied for their quality criteria and their biological properties. Pollen analysis showed that the botanical origin of the analyzed honeys was mainly multifloral with 12 representative samples. The unifloral samples were represented by *Fabaceae* (seven honey samples) and *Myrtaceae* (one honey sample).

Physicochemical characteristics analysis showed that most of the studied samples were low in moisture content and therefore safe from fermentation. The pH results showed that all honeys are acidic ($3.65 \leq \text{pH} \leq 4.35$). The electrical conductivity varied between 0.29 mS/cm and 1.78 mS/cm and 13 honey samples were honeydew. Ash

and protein contents of the studied honeys varied from 0.17 to 1.02% and from 34.99 to 137.82 mg BSAE/100 g, respectively. The concentrations of proline ranged between 731.27 mg/kg (H11) and 3730.90 mg/kg (H03) indicating the maturity of analyzed honeys and the absence of adulteration. The color varied from mimosa yellow to dark brown according to their floral origin. The specific rotation was levorotatory in most honey samples and the HMF values (from 1.5 mg/kg to 34.73 mg/kg) agreed with the international requirements. For antioxidant metabolites, honeys were found to be rich in total phenolic compounds, 22.41 (H11) to 96.16 (H15) mg GAE/100 g and flavonoids, 8.90 (H11) to 80.02 (H02) mg QE/100 g. So, they present an excellent dietary source of natural antioxidants and can be considered as foods with remarkable benefits for human health. All analyzed honeys exerted antioxidant activities. They were very effective in DPPH and ABTS radicals scavenging activities. On top of that, they showed a very important reducing capacity with iron and molybdenum or metal chelating activities. The matrix correlation of honey samples showed a very highly significant correlation between the biochemical parameters and antioxidant activities.

These results prove that Algerian honeys are an excellent source of antioxidants that can serve the industries and could be exploited in pharmaceutical and cosmetic fields. There is a need for further study of its composition and the identification of active ingredients to enable the clinical application of honey as an alternative treatment in medical practice.

Acknowledgments

We thank the Algerian Ministry of High Education and Scientific Research for their funding and encouragement for scientific research.

Author contributions

Nadia Amessis-Ouchemoukh: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Writing the original draft; Nacera Maouche: Methodology, Investigation; Amar Otmani: Methodology, Investigation; Anass Terrab: Investigation; Khodir Madani: Investigation; Salim Ouchemoukh: Review and editing supervision.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest for this paper.

Funding

This work was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research, Algeria Research Projects University Training PRFU project N^o: D01N01UN060120180005.

References

- [1] European Commission. Council Directive 2001/110/EC of 20th, December 2001 relating to honey. OJEC. 2002;L10:47-52.
- [2] Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Gonzalez-Paramas AM, Damiani E, Astolfi P, Martinez-Sanchez G, Bompadre S, Quiles JL, Santos-Buelga C, Battino M. Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food Chem Toxicol.* 2012;50:1508-16.
- [3] Eteraf-Oskouei T, Najafi M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. *Iran J Basic Med Sci.* 2013;16(6):731-42.

- [4] Missio P, Gauche C, Gonzaga LV, Carolina A, Costa O. Honey : Chemical composition, stability and authenticity Honey : Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.* 2016;196:309-23.
- [5] Tornuk F, Karaman S, Ozturk I, Tokar OS, Tastemur B, Sagdic O, Dogan M, Kayacier A. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Ind Crop Prod.* 2013;46:124-31.
- [6] Escuredo O, Dobre I, Fernández-González M, Seijo MC. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chem.* 2014;149:84-90.
- [7] Chen C, Wang L, Wang R, Luo X, Li Y, Li J, Li Y, Chen Z. Phenolic contents, cellular antioxidant activity and antiproliferative capacity of different varieties of oats. *Food Chem.* 2018;239:260-7.
- [8] Molan PC. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World.* 1992;73(1):5-28.
- [9] Cianciosi D, Forbes-Hernandez TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodríguez P, Manna PP, ... Battino M. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules.* 2018;23(9):2322.
- [10] José Miguel Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Cordero M, Gasparrini M, Forbes-Hernández TY, Mazzoni L, Afrin S, Beltrán-Ayala P, González-Paramás AM, Santos-Buelga C, Varela-Lopez A, Quiles JL, Battino M. Activation of AMPK/Nrf2 signalling by Manuka honey protects human dermal fibroblasts against oxidative damage by improving antioxidant response and mitochondrial function promoting wound healing. *J Funct Foods.* 2016;25:38-49.
- [11] Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Maffei Facino R. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal Chim Acta.* 2005;533(2):185-91.
- [12] Afrin S, Giampieri F, Cianciosi D, Pistollato F, Ansary J, Pacetti M, Amici A, Reboredo-Rodríguez P, Simal-Gandara J, Quiles JL, Forbes-Hernández TY, Battino M. Strawberry tree honey as a new potential functional food. Part I: Strawberry tree honey reduces colon cancer cell proliferation and colony formation ability, inhibits cell cycle and promotes apoptosis by regulating EGFR and MAPKs signaling pathways. *J Funct Foods.* 2019;57:439-52.
- [13] Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Ansarya J, Gil E, Amici A, Bompadre S, Simal-Gandara J, Giampieri F, Maurizio Battino M. Phenolic compounds from Mediterranean foods as nutraceutical tools for the prevention of cancer: The effect of honey polyphenols on colorectal cancer stem-like cells from spheroids. *Food Chem.* 2020;325:126881.
- [14] Alvarez-Suarez JM, Tulipani S, Diaz D, Estevez Y, Romandini S, Giampieri F, Damiani E, Astolfi P, Bompadre S. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem Toxicol.* 2010;48:2490-9.
- [15] Mullai V, Menon T. Bactericidal activity of different types of honey against clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Altern Complement Med.* 2007;13(4):439-42.
- [16] Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. Methods of melissopalynology. *Bee World.* 1978;59:139-57.
- [17] Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, Edition CNRS, Paris. 1963, pp. 611-1170.
- [18] Bogdanov S, Lüllman C, Martin P, Von Der Ohe W, Russmann H, Vorwohl G, Persano-Oddo L, Sabatini AG, Marcuzzan GL, Piro R, Flamini C, Morlot M, Heritier J, Borneck R, Marioleas P, Tsigouri A, KerKvliet J, Ortiz A, Ivanov T, D'Arcy B, Mossel B, Vit P. Honey quality and international regulatory standard: review by the international honey commission. *Bee World.* 1999;71:20-6.
- [19] Piazza MG, Accorti M, Persano Oddo L, Electrical conductivity, ash, color and specific rotatory power in italian unifloral honeys. *Apicoltura.* 1991;7:51-63.
- [20] Bath PK, Singh N. A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chem.* 1999;67:389-97.
- [21] Azeredo LDC, Azeredo MAA, De Souza SR, Dutra VML. Protection content and physicochemical properties in honey sample of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 2003;80:249-54.
- [22] Ouchemoukh S, Louaileche H, Schweitzer P. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control.* 2007;18:52-8.
- [23] Amessis-Ouchemoukh N, Ouchemoukh S, Meziant N, Idiria Y, Hernanz D, Stinco CM, Rodríguez-Pulido FJ, Heredia FJ, Madani K, Luis J. Bioactive metabolites involved in the antioxidant, anticancer and antipain activities of *Ficus carica* L., *Ceratonia siliqua* L. and *Quercus ilex* L. Extracts *Ind Crops Prod.* 2017;95:6-17.
- [24] Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of Antioxidant Power: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239:70-76.
- [25] Amessis-Ouchemoukh N, Madani K, Falé LVP, Serralheiro ML, Araújo, MEM. Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Ind Crops Prod.* 2014;53:6-15.

- [26] Amessis-Ouchemoukh N, Ouchemoukh S, BENCHIBANE Tassadit, Hernanz D, Stinco CM, Rodriguez-Pulido FJ, Heredia FJ, Madani K, Luis J, "Valorization of the whole grains of *Triticum aestivum* L. and *Triticum vulgare* L. through the investigation of their biochemical composition and *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and antipain activities." J Cereal Sci. 2017b;75:278-85.
- [27] Belay A, Solomon WK, Bultossa G, Adgaba N, Melaku S. Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. Food Chem. 2013;141:3386-92.
- [28] Escuredo O, Miguez M, Fernandez-Gonzalez M, Seijo MC. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. Food Chem. 2013;138:851-6.
- [29] Shantal Rodriguez Flores M, Escuredo O, Carmen Seijo O. Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. Food Chem. 2015;166:101-6.
- [30] Nanda V, Sarkar BC, Sharma HK, Bawa AS, Physicochemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. J Food Compos Anal. 2003;16:613-9.
- [31] Silva LR, Videira R, Monteiro AP, Valentão P, Andrade PB. Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. Microchem J. 2009;93:73-77.
- [32] Serem JC, Bester MJ. Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. Food Chem. 2012;13(1):211-20.
- [33] Özcan MM, Ölmez, Ç. Some qualitative properties of different monofloral honeys. Food Chem. 2014;163:212-8.
- [34] Fallico B, Arena E, Zappala M. Degradation of 5-hydroxymethyl fufural in honey. J. Food Sci. 2008;73(9):625-31.
- [35] Soria AC, González M, de Lorenzo C, Martínez-Castro I, Sanza J. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. Food Chem. 2004;85:121-30.
- [36] Yücel Y, Sultanoglu P. Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. Food Biosci. 2013;1:16-25.
- [37] Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chem. 2005;91:571-7.
- [38] Khalil MB, Moniruzzaman M, Boukraâ, L, Benhanifa M, Asiful I, Nazmul I, Siti Amrah S, Siew HG. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. Molecules. 2012;17:11199-215.
- [39] Anklam E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chem. 1998;63:549-62.
- [40] Hermosin I, Chicon RM, Dolores Cabezedo M. Free amino acid composition and botanical origin of honey. Food Chem. 2003;83:263-8.
- [41] Bogdanov S, Ruoff K, Oddo LP. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys. Apidologie. 2004;35:4-17.
- [42] Silici S, Sagdic O, Ekici L. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. Food Chem. 2010;121:238-43.
- [43] Habib HM, Al Meqbali FT, Kamal H, Souka UD, Ibrahim WH. Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. Food Chem. 2014;153:28-34.
- [44] Lachman J, Orsak M, Hejtmankova A, Kovarova E. Evolution of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech Honeys. Food Sci Technol. 2010;1(43):52-8.
- [45] Jasicka-Misiak IA, Poliwoda M, Deren P, Kafarski. Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two Polish unifloral honeys. Food Chem. 2011;131:1149-56.
- [46] Pichichero E, Canuti L, Canini A. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. J Sci Food Agric. 2009;89:609-16.
- [47] Wilczynska A. Effect of filtration on color, antioxidant activity and total phenolics of honey. Food Sci Technol. 2014;57:767-74.
- [48] Al ML, Daniel D, Moise A, Bobis O, Laslo L, Bogdanov S. Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. Food Chem. 2009;112:863-7.
- [49] Ouchemoukh S, Amessis-Ouchemoukh N, Gómez-Romero M, Aboud F, Giuseppe A, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A. Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. LWT - Food Sci Tech. 2017;85:460-9.
- [50] Ferreira ICFR, Aires, Barreira JCM, Estevinho LM. Antioxydant activity of Portuguese honey sample: different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chem. 2009;114:1438-43.
- [51] Aljadi AM, Kamaruddin MY. Evaluation of the phenolic contents and antioxydant capacities of two Malaysian floral honeys. Food Chem. 2004;85:513-8.
- [52] Isla MI, Craig A, Ordóñez R, Zampini C, Sayago J, Bedascarrasbure E, Alvarez A, Salomon V, Maldonado L. Physicochemical and bioactive properties of honey from Northwestern Argentina. LWT. 2011;44(9):1922-30.

- [53] Nagai T, Inoue R, Kanamori N, Suzuki N, Nagashima T. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. *Food Chem.* 2006;97:256-62.
- [54] Zalibera M, Staško A, Šleboďová A, Jančovičová V, Čermáková T, Brezová V. Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys and electron paramagnetic resonance study. *Food Chem.* 2008;110:512-21.
- [55] Brudzynski K, Miotto D. Honey melanoidins: Analysis of the compositions of the high molecular weight melanoidins exhibiting radical-scavenging activity. *Food Chem.* 2011;127(3):1023-30.

AUTHOR COPY

Annexes

Annexe 1 : Table de CHATAWAY.

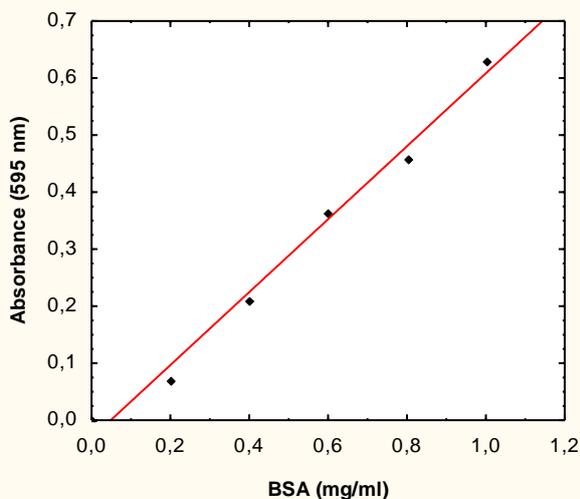
Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	23,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4990	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

Annexe 2 : Courbes d'étalonnages de dosages des protéines et des antioxydants

1

Courbe de calibration des Protéines

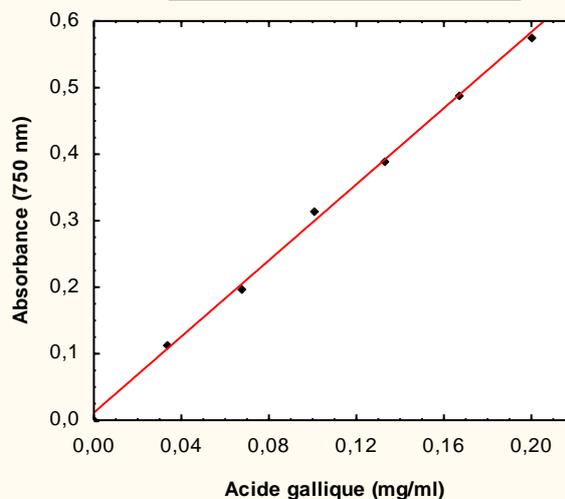
$$r^2 = 0,9945; y = -0,0652 + 0,6864 \cdot x$$



2

Courbe de calibration des composés phénoliques

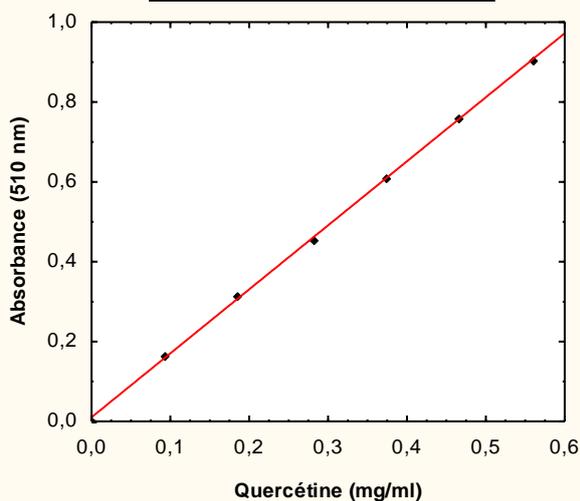
$$r^2 = 0,9977; y = 0,0214 + 2,7916 \cdot x$$



3

Courbe de calibration des flavonoïdes

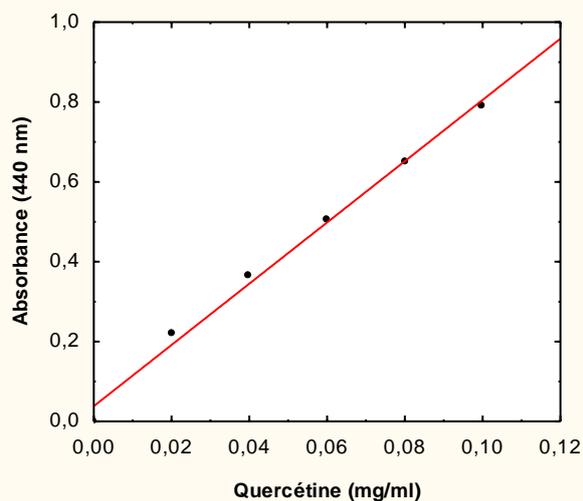
$$r^2 = 0,9995; y = 0,0103 + 1,603 \cdot x$$



4

Courbe de calibration des flavonols

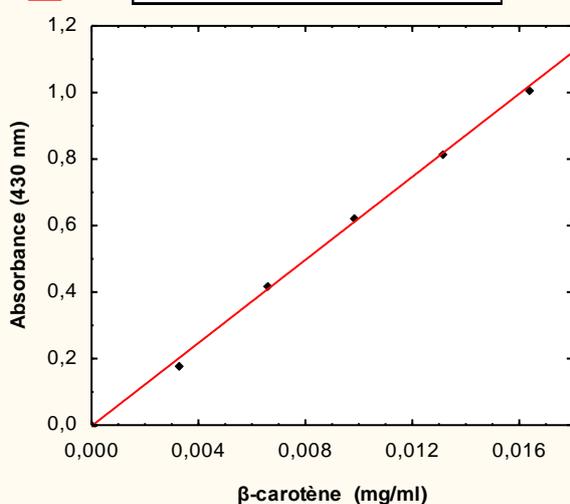
$$\text{Concentration:Absorbance: } r^2 = 0,988; y = 0,08 + 7,1 \cdot x$$



5

Courbe de calibration des Caroténoïdes

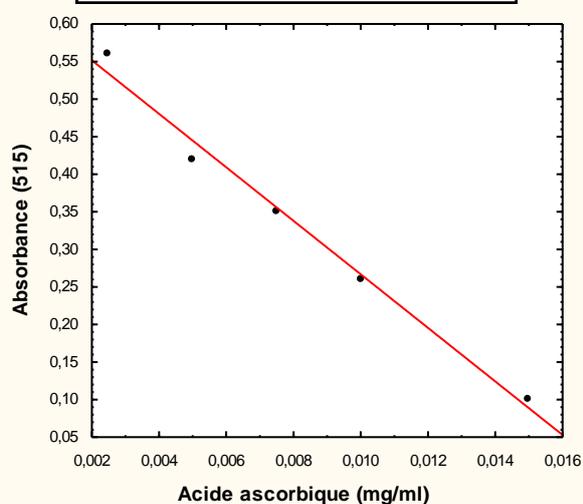
$$r^2 = 0,9989; y = -0,0025 + 62,4212 \cdot x$$



6

Courbe de calibration de la vitamine C

$$\text{Concentration:Absorbance: } r^2 = 0,9873; y = 0,623 - 35,6216 \cdot x$$

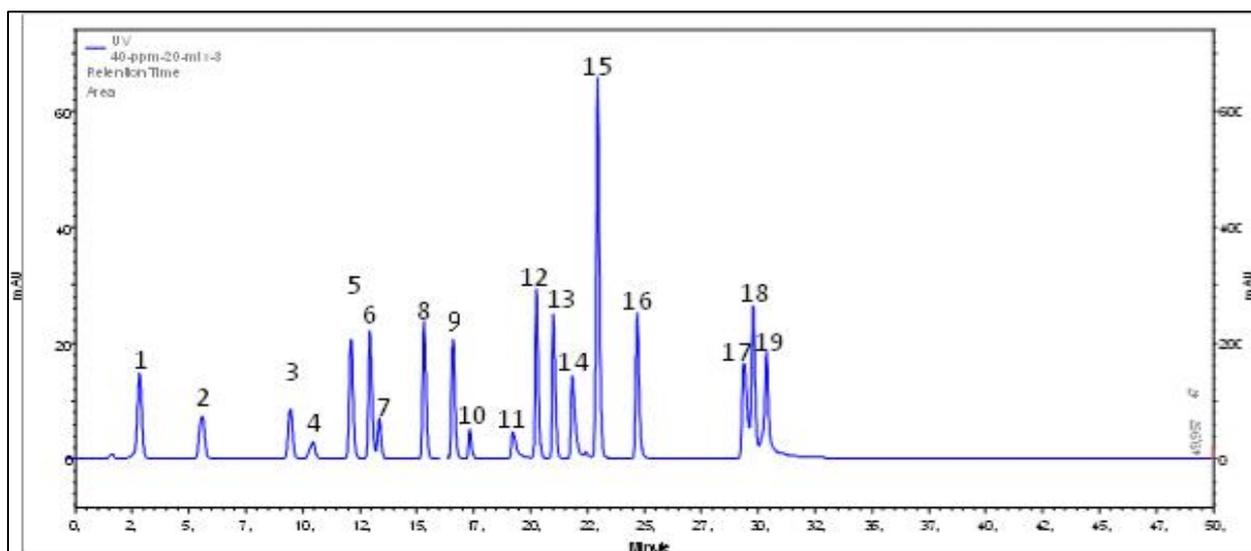


Annexe 3 : Table de correspondance en spectroscopie infrarouge

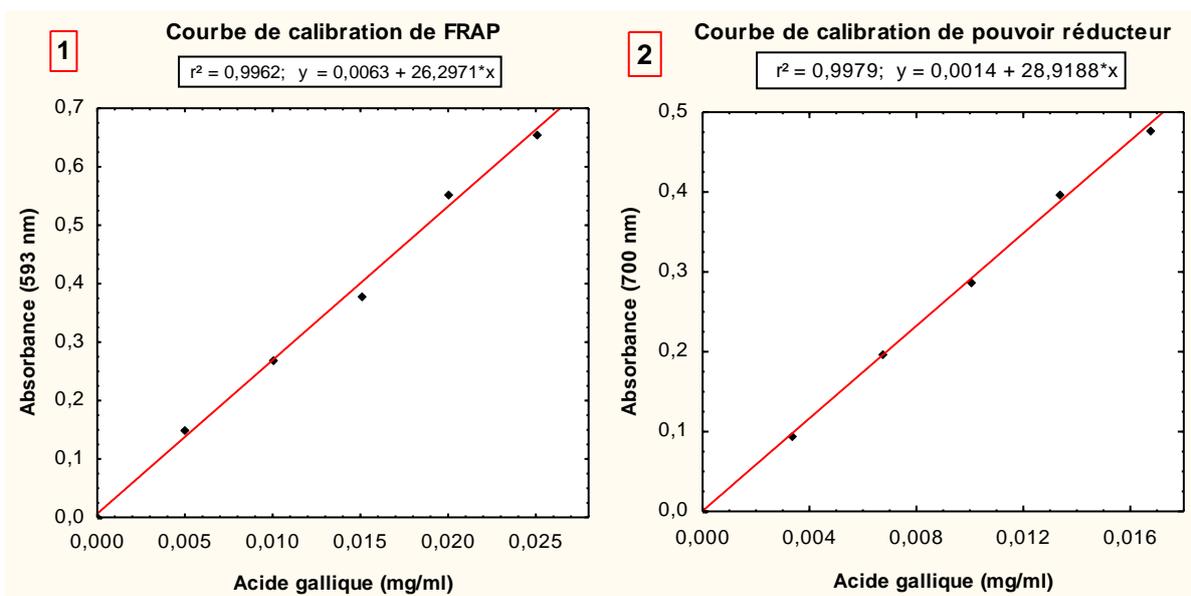
Liaison	Type de liaison	Type spécifique de liaison	Pic d'absorption cm^{-1}	Apparence
C-H	Alkyle	Méthyle	1260	Forte
			1380	Faible
			2870	Moyenne à forte
			2960	Moyenne à forte
		Méthylène	1470	Forte
			2850	Moyenne à forte
			2925	Moyenne à forte
		Méthine	2890	Faible
		Vinyne	C=CH ₂	900
	2975			Moyenne
	3080			Moyenne
	C=CH		3020	Moyenne
	Alcènes monosubstitués		900	Forte
			990	Forte
	Alcènes cis-disubstitués		670-700	Forte
	Alcènes trans-disubstitués		965	Forte
	Alcènes trisubstitués	800-840	Forte à moyenne	
	Composé aromatique	Benzène/benzène sub.	3070	Faible
		Benzène monosubstitué	700-750	Forte
			690-710	Forte
		Benzène ortho-disubstitué	750	Forte
		Benzène méta-disubstitué	750-800	Forte
			860-900	Forte
	Benzène para-disubstitué	800-860	Forte	
	Alcynes		3300	Moyenne
	Aldéhydes		2720	Moyenne
			2820	

Liaison	Type de liaison	Type spécifique de liaison	Pic d'absorption cm^{-1}	Apparence	
C-C	C-C acyclique	Alcène monosub.	1645	Moyenne	
		Alcène 1,1-disub.	1655	Moyenne	
		Alcène cis 1,2-disub.	1660	Moyenne	
		Alcène trans 1,2-disub.	1675	Moyenne	
		Alcène tri, tétrasub.	1670	Faible	
	C-C conjugué	Diènes		1600	Forte
				1650	Forte
	Avec cycle benzénique		1625	Forte	
	Avec C=O		1600	Forte	
	C=C (chacun sp^2)		1640-1680	Moyenne	
	C=C aromatique		1450	Faible à forte	
			1500		
			1580		
		1600			
C≡C	Alcyne terminaux	2100-2140	Faible		
	Alcynes disubst.	2190-2260	Très faible		
C=O	Aldéhyde/cétone	Aliph. saturé/cycle à 6	1720		
		α,β -insaturés	1685		
		Cétones aromatiques	1685		
		Cycle à 5	1750		
		Cycle à 4	1775		
		Aldéhydes	1725	Influencé par conjugaison (avec les cétones)	
	Acides carboxyliques/dérivés	Acides carboxyliques saturés	1710		
		Acides carboxyliques saturés, insat./aromatiques	1680-1690		
		Esters et lactones	1735	Influencé par conjugaison (avec les cétones)	
		Anhydrides	1760		
			1820		
		Halogénures d'acyle	1800		
		Amides	1650	Amides associés	
		Carboxylates (sels)	1550-1610		
Zwitterions d'acide aminé	1550-1610				

Liaison	Type de liaison	Type spécifique de liaison	Pic d'absorption cm^{-1}	Apparence
O-H	Alcools, phénols	A faible concentration	3610-3670	
		A haute concentration	3200-3400	Large
	Acides carboxyliques	A faible concentration	3500-3560	
		A haute concentration	3000	Large
N-H	Amines primaires		3400-3500	Forte
			1560-1640	Forte
	Amines secondaires		>3000	Faible à moyenne
	Ions ammoniums		2400-3200	Multiples bandes larges
C-O	Alcools	primaires	1040-1060	Forte, large
		secondaires	1100	Forte
		Tertiaires	1150-1200	Moyenne
	Phénols		1200	
	Ethers	Aliphatiques	1120	
		Aromatiques	1220-1260	
	Acides carboxyliques		1250-1300	
	Esters		1100-1300	Deux bandes
C-N	Amines aliphatiques		1020-1220	Souvent chevauches par d'autres
	C=N		1615-1700	Effet de conjugaison similaire à C=O
	C≡N (nitrile)	Non-conjugués	2250	Moyenne
		conjugués	2230	Moyenne
	R-N-C (isonitriles)		2165-2110	
R-N=C=S		2140-1990		
C-X	Fluoroalcanes	ordinaires	1000-1100	
		Trifluorométhyle	1100-1200	Deux forte, large
	Chloroalcanes		540-760	Faible à moyenne
	Bromoalcanes		500-600	Moyenne à forte
iodoalcanes		500	Moyenne à forte	
N-O	Composés nitro	Aliphatiques	1540	Très forte
		aromatique	1380	Très faible
			1520-1380	Plus basse si conjuguées

Annexe 4 : Chromatogramme de dix-neuf composés phénoliques de l'HPLC-UV.

N°	Composé phénolique	N°	Composé phénolique
1	Acide gallique	11	Myricétine
2	Acide protocatéchique	12	Resvératrol
3	Acide <i>p</i> -OH benzoïque	13	Daidzéine
4	Catéchine	14	Lutéoline
5	Acide caféique	15	Acide <i>t</i> -cinnamique
6	Acide syringique	16	Hespérétine
7	Epicatéchine	17	Chrysine
8	Acide <i>p</i> -coumarique	18	Pinocembrine
9	Acide férulique	19	Ester phénéthylique de l'acide caféique
10	Rutine		

Annexe 5 : Courbes d'étalonnages des activités antioxydantes (FRAP et pouvoir réducteur).

Annexe 6 : Norme concernant la qualité du miel selon le projet CL 1998/12-S du Codex Alimentarius et selon le projet de l'UE 96/0114 (CNS).

Critères de qualité		Projet du Codex	Projet de l'UE
Teneur en eau	Général	≤ 21 g/100g	≤ 21 g/100g
	Miel de bruyère et de trèfle	≤ 23 g/100g	≤ 23 g/100g
	Miel industriel ou miel de pâtisserie	≤ 25 g/100g	≤ 25 g/100g
Teneur en sucres réducteurs	Miels qui ne sont pas mentionnés ci-dessous	≥ 65 g /100 g	≥ 65 g /100 g
	Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar	≥ 45 g /100 g	≥ 60 g /100 g
	<i>Xanthorrhoea pr.</i>	≥ 53 g /100 g	≥ 53 g /100 g
Teneur en saccharose apparent	Miels qui ne sont pas mentionnés ci-dessous	≤ 5 g/100 g	≤ 5 g/100 g
	<i>Robini, Lavandula, Hedysarum, Trifolium, Zitrus, Medicago, Eucalyptus cam., Eucryphia luc. Banksia menz.*</i>	≤ 10 g/100 g	≤ 10 g/100 g
	<i>Calothamnus san., Eucalyptus scab., Banksiagr., Xanthorrhoea pr.</i> Miel de miellat et mélanges de miel de miellat et de nectar	≤ 15 g/100 g	-
Teneur en matières insolubles dans l'eau	Général	≤ 0,1 g/100 g	≤ 0,1 g/100 g
	Miel pressé	≤ 0,5 g/100 g	≤ 0,5 g/100 g
Teneur en matières minérales (cendres)	Miel de et de nectar	≤ 0,6 g/100 g	≤ 0,6 g/100 g
	Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar, miel de châtaignier	≤ 1,2 g/100 g	≤ 1,2 g/100 g
Acidité		≤ 50 meq/kg	≤ 40 meq/kg
Teneur en hydroxyméthylfurfural	Après traitement et mise en pot (Codex)	≤ 60 mg/kg	≤ 40 mg/kg
	Tous les miels du commerce (UE)		≤ 40 mg/kg

Annexe 7 : Normes internationales du miel.

Nouveaux critères de qualité proposés		Valeur proposée
Teneur en sucre	Miel de nectar	≥ 60 g / 100 g
	Somme du fructose et du glucose	Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar ≥ 45 g / 100 g
		Miels qui ne sont pas énumérés ci-dessous ≤ 5 g / 100 g
	Saccharose	<i>Banksia, Zitrus, Hedysarum, Medicago, Robinia, Rosmarinus</i> ≤ 10 g / 100 g <i>Lavandula</i> ≤ 15 g / 100 g
Conductivité électrique	Miel de nectar à l'exception des miels énumérés ci-dessous et des mélanges de ceux-ci; mélanges de miel de miellat et de nectar.	$\leq 0,8$ mS/cm
	Miel de miellat et de chataîgnier, à l'exception des miels énumérés ci-dessous et des mélanges de ceux-ci. Exceptions: <i>Banksia, Erika, Eucalyptus, Eucryphia, Leptospermum, Melaleuca, Tilia.</i>	$\geq 0,8$ mS/cm
HMF	En général	≤ 40 mg/kg
	Miel tropical	≤ 80 mg/kg
Proline		≥ 180 mg/kg

Annexe 8 : Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne																			
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$																			
N=78 (Observations à VM ignorées)																			
Variable	Brix	Hum	CE	TC	PH	AL	L	AT	HMF	Prot	Prol	DZI ST	TSSA FRI	TS EC	DZI SA	CMI ST	CMI SA FRI	CMI EC	CMI SA
Brix	1,00	-1,00	-0,23	-0,18	-0,49	0,52	0,45	0,47	0,45	0,30	0,31	0,69	0,51	0,53	0,33	-0,50	-0,36	-0,39	-0,41
Hum	-1,00	1,00	0,21	0,16	0,49	-0,52	-0,45	-0,47	-0,45	-0,31	-0,31	-0,68	-0,52	-0,52	-0,34	0,48	0,35	0,37	0,40
CE	-0,23	0,21	1,00	0,88	0,51	0,64	-0,51	0,43	-0,32	0,27	0,33	0,45	0,68	0,38	-0,14	-0,52	-0,74	-0,37	0,13
TC	-0,18	0,16	0,88	1,00	0,34	0,54	-0,32	0,33	-0,18	0,25	0,41	0,15	0,50	-0,35	-0,00	-0,34	-0,61	-0,29	-0,04
PH	-0,49	0,49	0,51	0,34	1,00	-0,25	-0,21	-0,24	-0,63	0,26	-0,04	-0,49	-0,51	-0,55	-0,29	0,38	0,48	0,37	0,34
AL	0,52	-0,52	0,64	0,54	-0,25	1,00	0,51	0,85	-0,05	0,29	0,45	0,40	0,60	0,36	0,48	-0,55	-0,52	-0,38	-0,40
L	0,45	-0,45	-0,51	-0,32	-0,21	0,51	1,00	0,54	0,13	0,18	0,32	0,37	0,45	0,40	0,32	-0,40	-0,34	-0,39	-0,37
AT	0,47	-0,47	0,43	0,33	-0,24	0,85	0,54	1,00	0,02	0,25	0,39	0,40	0,54	0,34	0,42	-0,68	-0,51	-0,33	-0,36
HMF	0,45	-0,45	-0,32	-0,18	-0,63	-0,05	0,13	0,02	1,00	-0,17	0,07	-0,18	-0,07	0,39	0,26	0,15	0,32	0,08	0,03
Prot	0,30	-0,31	0,27	0,25	0,26	0,29	0,18	0,25	-0,17	1,00	0,48	0,31	0,38	0,31	0,30	-0,39	-0,38	-0,35	-0,31
Prol	0,31	-0,31	0,33	0,41	-0,04	0,45	0,32	0,39	0,07	0,48	1,00	0,07	0,21	0,22	0,13	-0,27	-0,29	-0,24	-0,01
DZI ST	0,69	-0,68	0,45	0,15	-0,49	0,40	0,37	0,40	-0,18	0,31	0,07	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TSSA FRI	0,51	-0,52	0,68	0,50	-0,51	0,60	0,45	0,54	-0,07	0,38	0,21	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,53	-0,52	0,38	-0,35	-0,55	0,36	0,40	0,34	0,39	0,31	0,22	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
DZI SA	0,33	-0,34	-0,14	-0,00	-0,29	0,48	0,32	0,42	0,26	0,30	0,13	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,50	0,48	-0,52	-0,34	0,38	-0,55	-0,40	-0,68	0,15	-0,39	-0,27	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA FRI	-0,36	0,35	-0,74	-0,61	0,48	-0,52	-0,34	-0,51	0,32	-0,38	-0,29	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,39	0,37	-0,37	-0,29	0,37	-0,38	-0,39	-0,33	0,08	-0,35	-0,24	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47
CMI SA	-0,41	0,40	0,13	-0,04	0,34	-0,40	-0,37	-0,36	0,03	-0,31	-0,01	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00

Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne																			
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$																			
N=78 (Observations à VM ignorées)																			
Variable	Brix	Hum	CE	TC	PH	AL	L	AT	HMF	Prot	Prol	DZI ST	TSSA FRI	TS EC	DZI SA	CMI ST	CMI SA FRI	CMI EC	CMI SA
Brix	1,00	-1,00	-0,23	-0,18	-0,49	0,52	0,45	0,47	0,45	0,30	0,31	0,69	0,51	0,53	0,33	-0,50	-0,36	-0,39	-0,41
Hum	-1,00	1,00	0,21	0,16	0,49	-0,52	-0,45	-0,47	-0,45	-0,31	-0,31	-0,68	-0,52	-0,52	-0,34	0,48	0,35	0,37	0,40
CE	-0,23	0,21	1,00	0,88	0,51	0,64	-0,51	0,43	-0,32	0,27	0,33	0,45	0,68	0,38	-0,14	-0,52	-0,74	-0,37	0,13
TC	-0,18	0,16	0,88	1,00	0,34	0,54	-0,32	0,33	-0,18	0,25	0,41	0,15	0,50	-0,35	-0,00	-0,34	-0,61	-0,29	-0,04
PH	-0,49	0,49	0,51	0,34	1,00	-0,25	-0,21	-0,24	-0,63	0,26	-0,04	-0,49	-0,51	-0,55	-0,29	0,38	0,48	0,37	0,34
AL	0,52	-0,52	0,64	0,54	-0,25	1,00	0,51	0,85	-0,05	0,29	0,45	0,40	0,60	0,36	0,48	-0,55	-0,52	-0,38	-0,40
L	0,45	-0,45	-0,51	-0,32	-0,21	0,51	1,00	0,54	0,13	0,18	0,32	0,37	0,45	0,40	0,32	-0,40	-0,34	-0,39	-0,37
AT	0,47	-0,47	0,43	0,33	-0,24	0,85	0,54	1,00	0,02	0,25	0,39	0,40	0,54	0,34	0,42	-0,68	-0,51	-0,33	-0,36
HMF	0,45	-0,45	-0,32	-0,18	-0,63	-0,05	0,13	0,02	1,00	-0,17	0,07	-0,18	-0,07	0,39	0,26	0,15	0,32	0,08	0,03
Prot	0,30	-0,31	0,27	0,25	0,26	0,29	0,18	0,25	-0,17	1,00	0,48	0,31	0,38	0,31	0,30	-0,39	-0,38	-0,35	-0,31
Prol	0,31	-0,31	0,33	0,41	-0,04	0,45	0,32	0,39	0,07	0,48	1,00	0,07	0,21	0,22	0,13	-0,27	-0,29	-0,24	-0,01
DZI ST	0,69	-0,68	0,45	0,15	-0,49	0,40	0,37	0,40	-0,18	0,31	0,07	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TSSA FRI	0,51	-0,52	0,68	0,50	-0,51	0,60	0,45	0,54	-0,07	0,38	0,21	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,53	-0,52	0,38	-0,35	-0,55	0,36	0,40	0,34	0,39	0,31	0,22	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
DZI SA	0,33	-0,34	-0,14	-0,00	-0,29	0,48	0,32	0,42	0,26	0,30	0,13	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,50	0,48	-0,52	-0,34	0,38	-0,55	-0,40	-0,68	0,15	-0,39	-0,27	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA FRI	-0,36	0,35	-0,74	-0,61	0,48	-0,52	-0,34	-0,51	0,32	-0,38	-0,29	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,39	0,37	-0,37	-0,29	0,37	-0,38	-0,39	-0,33	0,08	-0,35	-0,24	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47
CMI SA	-0,41	0,40	0,13	-0,04	0,34	-0,40	-0,37	-0,36	0,03	-0,31	-0,01	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00

Corrélations paramètres physicochimiques et activité antibactérienne																			
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$																			
N=78 (Observations à VM ignorées)																			
Variable	Brix	Hum	CE	TC	PH	AL	L	AT	HMF	Prot	Prol	DZI ST	TSSA FRI	TS EC	DZI SA	CMI ST	CMI SA FRI	CMI EC	CMI SA
Brix	1,00	-1,00	-0,23	-0,18	-0,49	0,52	0,45	0,47	0,45	0,30	0,31	0,69	0,51	0,53	0,33	-0,50	-0,36	-0,39	-0,41
Hum	-1,00	1,00	0,21	0,16	0,49	-0,52	-0,45	-0,47	-0,45	-0,31	-0,31	-0,68	-0,52	-0,52	-0,34	0,48	0,35	0,37	0,40
CE	-0,23	0,21	1,00	0,88	0,51	0,64	-0,51	0,43	-0,32	0,27	0,33	0,45	0,68	0,38	-0,14	-0,52	-0,74	-0,37	0,13
TC	-0,18	0,16	0,88	1,00	0,34	0,54	-0,32	0,33	-0,18	0,25	0,41	0,15	0,50	-0,35	-0,00	-0,34	-0,61	-0,29	-0,04
PH	-0,49	0,49	0,51	0,34	1,00	-0,25	-0,21	-0,24	-0,63	0,26	-0,04	-0,49	-0,51	-0,55	-0,29	0,38	0,48	0,37	0,34
AL	0,52	-0,52	0,64	0,54	-0,25	1,00	0,51	0,85	-0,05	0,29	0,45	0,40	0,60	0,36	0,48	-0,55	-0,52	-0,38	-0,40
L	0,45	-0,45	-0,51	-0,32	-0,21	0,51	1,00	0,54	0,13	0,18	0,32	0,37	0,45	0,40	0,32	-0,40	-0,34	-0,39	-0,37
AT	0,47	-0,47	0,43	0,33	-0,24	0,85	0,54	1,00	0,02	0,25	0,39	0,40	0,54	0,34	0,42	-0,68	-0,51	-0,33	-0,36
HMF	0,45	-0,45	-0,32	-0,18	-0,63	-0,05	0,13	0,02	1,00	-0,17	0,07	-0,18	-0,07	0,39	0,26	0,15	0,32	0,08	0,03
Prot	0,30	-0,31	0,27	0,25	0,26	0,29	0,18	0,25	-0,17	1,00	0,48	0,31	0,38	0,31	0,30	-0,39	-0,38	-0,35	-0,31
Prol	0,31	-0,31	0,33	0,41	-0,04	0,45	0,32	0,39	0,07	0,48	1,00	0,07	0,21	0,22	0,13	-0,27	-0,29	-0,24	-0,01
DZI ST	0,69	-0,68	0,45	0,15	-0,49	0,40	0,37	0,40	-0,18	0,31	0,07	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TSSA FRI	0,51	-0,52	0,68	0,50	-0,51	0,60	0,45	0,54	-0,07	0,38	0,21	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,53	-0,52	0,38	-0,35	-0,55	0,36	0,40	0,34	0,39	0,31	0,22	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
DZI SA	0,33	-0,34	-0,14	-0,00	-0,29	0,48	0,32	0,42	0,26	0,30	0,13	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,50	0,48	-0,52	-0,34	0,38	-0,55	-0,40	-0,68	0,15	-0,39	-0,27	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA FRI	-0,36	0,35	-0,74	-0,61	0,48	-0,52	-0,34	-0,51	0,32	-0,38	-0,29	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,39	0,37	-0,37	-0,29	0,														

Annexe 9 : Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=78 (Observations à VM ignorées)														
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,72	0,83	0,64	0,83	0,35	-0,58	0,70
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,75	0,53	0,55	0,51	0,68	-0,38	0,65
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,76	0,89	0,58	0,89	0,48	-0,55	0,81
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,58	0,80	0,56	0,74	0,30	-0,59	0,65
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,97	0,58	0,57	0,47	0,70	0,59	0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,70	0,81	0,57	0,85	0,45	-0,45	0,69
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,78	0,92	0,55	0,86	0,44	-0,46	0,72
DPPH	0,72	0,75	0,76	0,58	0,97	0,70	0,78	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59
ABTS	0,83	0,53	0,89	0,80	0,58	0,81	0,92	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71
FRAP	0,64	0,55	0,58	0,56	0,57	0,57	0,55	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52
PR	0,83	0,51	0,89	0,74	0,47	0,85	0,86	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66
ACF	0,35	0,68	0,48	0,30	0,70	0,45	0,44	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26
NORS	-0,58	-0,38	-0,55	-0,59	0,59	-0,45	-0,46	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60
BBC	0,70	0,65	0,81	0,65	0,48	0,69	0,72	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=78 (Observations à VM ignorées)														
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,72	0,83	0,64	0,83	0,35	-0,58	0,70
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,75	0,53	0,55	0,51	0,68	-0,38	0,65
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,76	0,89	0,58	0,89	0,48	-0,55	0,81
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,58	0,80	0,56	0,74	0,30	-0,59	0,65
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,97	0,58	0,57	0,47	0,70	0,59	0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,70	0,81	0,57	0,85	0,45	-0,45	0,69
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,78	0,92	0,55	0,86	0,44	-0,46	0,72
DPPH	0,72	0,75	0,76	0,58	0,97	0,70	0,78	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59
ABTS	0,83	0,53	0,89	0,80	0,58	0,81	0,92	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71
FRAP	0,64	0,55	0,58	0,56	0,57	0,57	0,55	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52
PR	0,83	0,51	0,89	0,74	0,47	0,85	0,86	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66
ACF	0,35	0,68	0,48	0,30	0,70	0,45	0,44	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26
NORS	-0,58	-0,38	-0,55	-0,59	0,59	-0,45	-0,46	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60
BBC	0,70	0,65	0,81	0,65	0,48	0,69	0,72	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=78 (Observations à VM ignorées)														
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,72	0,83	0,64	0,83	0,35	-0,58	0,70
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,75	0,53	0,55	0,51	0,68	-0,38	0,65
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,76	0,89	0,58	0,89	0,48	-0,55	0,81
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,58	0,80	0,56	0,74	0,30	-0,59	0,65
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,97	0,58	0,57	0,47	0,70	0,59	0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,70	0,81	0,57	0,85	0,45	-0,45	0,69
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,78	0,92	0,55	0,86	0,44	-0,46	0,72
DPPH	0,72	0,75	0,76	0,58	0,97	0,70	0,78	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59
ABTS	0,83	0,53	0,89	0,80	0,58	0,81	0,92	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71
FRAP	0,64	0,55	0,58	0,56	0,57	0,57	0,55	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52
PR	0,83	0,51	0,89	0,74	0,47	0,85	0,86	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66
ACF	0,35	0,68	0,48	0,30	0,70	0,45	0,44	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26
NORS	-0,58	-0,38	-0,55	-0,59	0,59	-0,45	-0,46	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60
BBC	0,70	0,65	0,81	0,65	0,48	0,69	0,72	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00

Annexe 10 : Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne															
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$															
N=78 (Observations à VM ignorées)															
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,60	0,70	0,82	0,68	-0,57	-0,70	-0,43	-0,54
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,40	0,51	0,61	0,53	-0,43	-0,57	-0,50	-0,41
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,73	0,79	0,65	0,42	-0,62	-0,83	-0,42	-0,31
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,57	0,61	0,52	0,64	-0,54	-0,68	-0,46	-0,39
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,57	0,63	0,50	0,56	-0,54	-0,64	-0,30	-0,47
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,51	0,66	0,52	0,58	-0,53	-0,77	-0,35	-0,42
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,61	0,70	-0,38	-0,50	-0,52	-0,73	-0,32	-0,46
TS ST	0,60	0,40	0,73	0,57	0,57	0,51	0,61	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TS SA F	0,70	0,51	0,79	0,61	0,63	0,66	0,70	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,82	0,61	0,65	0,52	0,50	0,52	-0,38	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
TS SA	0,68	0,53	0,42	0,64	0,56	0,58	-0,50	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,62	-0,54	-0,54	-0,53	-0,52	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA F	-0,70	-0,57	-0,83	-0,68	-0,64	-0,77	-0,73	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,43	-0,50	-0,42	-0,46	-0,30	-0,35	-0,32	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47
CMI SA	-0,54	-0,41	-0,31	-0,39	-0,47	-0,42	-0,46	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne															
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$															
N=78 (Observations à VM ignorées)															
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,60	0,70	0,82	0,68	-0,57	-0,70	-0,43	-0,54
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,40	0,51	0,61	0,53	-0,43	-0,57	-0,50	-0,41
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,73	0,79	0,65	0,42	-0,62	-0,83	-0,42	-0,31
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,57	0,61	0,52	0,64	-0,54	-0,68	-0,46	-0,39
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,57	0,63	0,50	0,56	-0,54	-0,64	-0,30	-0,47
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,51	0,66	0,52	0,58	-0,53	-0,77	-0,35	-0,42
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,61	0,70	-0,38	-0,50	-0,52	-0,73	-0,32	-0,46
TS ST	0,60	0,40	0,73	0,57	0,57	0,51	0,61	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TS SA F	0,70	0,51	0,79	0,61	0,63	0,66	0,70	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,82	0,61	0,65	0,52	0,50	0,52	-0,38	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
TS SA	0,68	0,53	0,42	0,64	0,56	0,58	-0,50	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,62	-0,54	-0,54	-0,53	-0,52	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA F	-0,70	-0,57	-0,83	-0,68	-0,64	-0,77	-0,73	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,43	-0,50	-0,42	-0,46	-0,30	-0,35	-0,32	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47
CMI SA	-0,54	-0,41	-0,31	-0,39	-0,47	-0,42	-0,46	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et activité antibactérienne															
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$															
N=78 (Observations à VM ignorées)															
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	0,60	0,70	0,82	0,68	-0,57	-0,70	-0,43	-0,54
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	0,40	0,51	0,61	0,53	-0,43	-0,57	-0,50	-0,41
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	0,73	0,79	0,65	0,42	-0,62	-0,83	-0,42	-0,31
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	0,57	0,61	0,52	0,64	-0,54	-0,68	-0,46	-0,39
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	0,57	0,63	0,50	0,56	-0,54	-0,64	-0,30	-0,47
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	0,51	0,66	0,52	0,58	-0,53	-0,77	-0,35	-0,42
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	0,61	0,70	-0,38	-0,50	-0,52	-0,73	-0,32	-0,46
TS ST	0,60	0,40	0,73	0,57	0,57	0,51	0,61	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49
TS SA F	0,70	0,51	0,79	0,61	0,63	0,66	0,70	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53
TS EC	0,82	0,61	0,65	0,52	0,50	0,52	-0,38	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43
TS SA	0,68	0,53	0,42	0,64	0,56	0,58	-0,50	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,62	-0,54	-0,54	-0,53	-0,52	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34
CMI SA F	-0,70	-0,57	-0,83	-0,68	-0,64	-0,77	-0,73	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41
CMI EC	-0,43	-0,50	-0,42	-0,46	-0,30	-0,35	-0,32	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47
CMI SA	-0,54	-0,41	-0,31	-0,39	-0,47	-0,42	-0,46	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00

Annexe 11 : Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=78 (Observations à VM ignorées)												
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	BSA	AChE	A-glu	LP	Tyrosinase
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	-0,63	-0,60	-0,48	-0,56	-0,45
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	-0,61	-0,74	-0,70	-0,46	-0,57
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	-0,58	-0,43	-0,34	-0,40	-0,53
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	-0,47	-0,63	-0,56	-0,43	-0,47
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	-0,37	-0,58	-0,52	-0,32	-0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	-0,41	-0,44	-0,41	-0,46	-0,57
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	-0,18	-0,46	-0,33	-0,35	-0,32
BSA	-0,63	-0,61	-0,58	-0,47	-0,37	-0,41	-0,18	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58
AChE	-0,60	-0,74	-0,43	-0,63	-0,58	-0,44	-0,46	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79
A-glu	-0,48	-0,70	-0,34	-0,56	-0,52	-0,41	-0,33	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83
LP	-0,56	-0,46	-0,40	-0,43	-0,32	-0,46	-0,35	0,73	0,45	0,71	1,00	0,49
Tyrosinase	-0,45	-0,57	-0,53	-0,47	-0,48	-0,57	-0,32	0,58	0,79	0,83	0,49	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=78 (Observations à VM ignorées)												
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	BSA	AChE	A-glu	LP	Tyrosinase
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	-0,63	-0,60	-0,48	-0,56	-0,45
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	-0,61	-0,74	-0,70	-0,46	-0,57
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	-0,58	-0,43	-0,34	-0,40	-0,53
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	-0,47	-0,63	-0,56	-0,43	-0,47
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	-0,37	-0,58	-0,52	-0,32	-0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	-0,41	-0,44	-0,41	-0,46	-0,57
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	-0,18	-0,46	-0,33	-0,35	-0,32
BSA	-0,63	-0,61	-0,58	-0,47	-0,37	-0,41	-0,18	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58
AChE	-0,60	-0,74	-0,43	-0,63	-0,58	-0,44	-0,46	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79
A-glu	-0,48	-0,70	-0,34	-0,56	-0,52	-0,41	-0,33	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83
LP	-0,56	-0,46	-0,40	-0,43	-0,32	-0,46	-0,35	0,73	0,45	0,71	1,00	0,49
Tyrosinase	-0,45	-0,57	-0,53	-0,47	-0,48	-0,57	-0,32	0,58	0,79	0,83	0,49	1,00

Corrélations couleur, antioxydants et inhibition enzymatique Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=78 (Observations à VM ignorées)												
Variable	ABS450	Pfund	CPT	FT	FLT	CT	Vitam C	BSA	AChE	A-glu	LP	Tyrosinase
ABS450	1,00	0,76	0,88	0,93	0,91	0,80	0,84	-0,63	-0,60	-0,48	-0,56	-0,45
Pfund	0,76	1,00	0,62	0,73	0,75	0,66	0,64	-0,61	-0,74	-0,70	-0,46	-0,57
CPT	0,88	0,62	1,00	0,80	0,74	0,85	0,90	-0,58	-0,43	-0,34	-0,40	-0,53
FT	0,93	0,73	0,80	1,00	0,87	0,77	0,75	-0,47	-0,63	-0,56	-0,43	-0,47
FLT	0,91	0,75	0,74	0,87	1,00	0,71	0,69	-0,37	-0,58	-0,52	-0,32	-0,48
CT	0,80	0,66	0,85	0,77	0,71	1,00	0,73	-0,41	-0,44	-0,41	-0,46	-0,57
Vitam C	0,84	0,64	0,90	0,75	0,69	0,73	1,00	-0,18	-0,46	-0,33	-0,35	-0,32
BSA	-0,63	-0,61	-0,58	-0,47	-0,37	-0,41	-0,18	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58
AChE	-0,60	-0,74	-0,43	-0,63	-0,58	-0,44	-0,46	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79
A-glu	-0,48	-0,70	-0,34	-0,56	-0,52	-0,41	-0,33	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83
LP	-0,56	-0,46	-0,40	-0,43	-0,32	-0,46	-0,35	0,73	0,45	0,71	1,00	0,49
Tyrosinase	-0,45	-0,57	-0,53	-0,47	-0,48	-0,57	-0,32	0,58	0,79	0,83	0,49	1,00

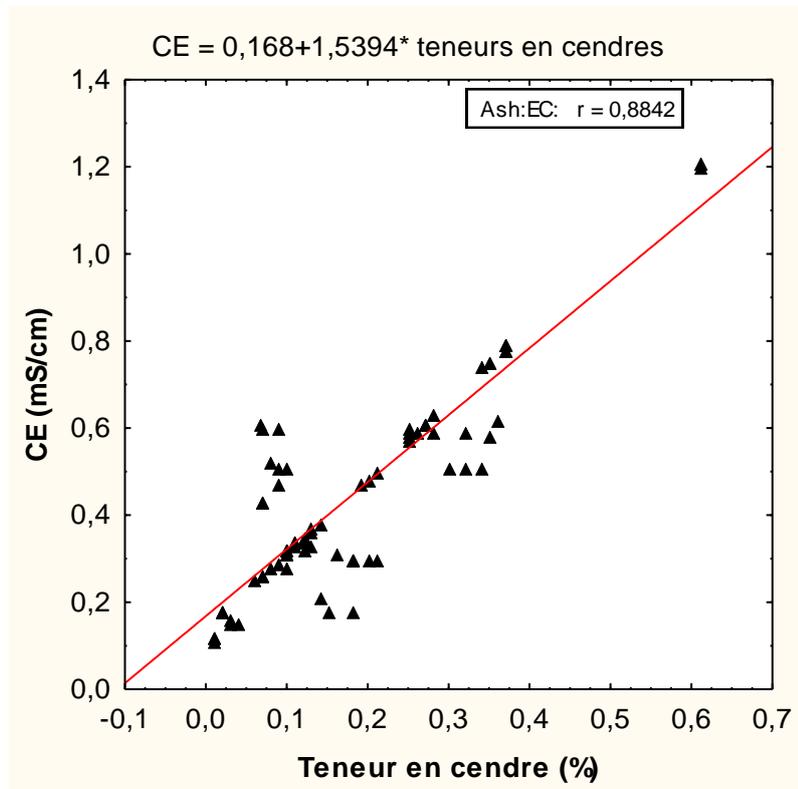
Annexe 12 : Corrélations activités antioxydantes et antibactérienne et inhibition enzymatique marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

Corrélations activités antioxydantes et antibactériennes et inhibition enzymatique																					
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$																					
N=78 (Observations à VM ignorées)																					
Variable	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA	BSA	ACHe	A-glu	LP	Tyr	
DPPH	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59	0,58	0,64	0,40	0,30	-0,57	-0,67	-0,52	-0,36	-0,36	-0,58	-0,51	-0,34	-0,49	
ABTS	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71	0,53	0,62	0,36	0,25	-0,43	-0,59	-0,43	-0,18	-0,52	-0,45	-0,31	-0,45	-0,33	
FRAP	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52	0,39	0,55	0,41	0,49	-0,50	-0,53	-0,37	-0,59	-0,33	-0,65	-0,53	-0,25	-0,58	
PR	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66	0,33	0,47	0,35	0,30	-0,37	-0,45	-0,25	-0,35	-0,38	-0,47	-0,30	-0,19	-0,4	
ACF	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26	0,58	0,72	0,30	0,39	-0,47	-0,73	-0,27	-0,12	-0,41	-0,54	-0,51	-0,53	-0,44	
NORS	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60	-0,32	-0,54	-0,25	-0,17	0,33	0,55	0,45	0,13	0,36	0,29	0,17	0,49	0,32	
BBC	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00	0,35	0,58	0,39	0,47	-0,32	-0,38	-0,30	-0,28	-0,22	-0,36	-0,41	-0,43	-0,37	
TS ST	0,58	0,53	0,39	0,33	0,58	-0,32	0,35	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49	-0,34	-0,30	-0,42	-0,42	-0,24	
TS SA F	0,64	0,62	0,55	0,47	0,72	-0,54	0,58	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53	-0,46	-0,37	-0,35	-0,37	-0,33	
TS EC	0,40	0,36	0,41	0,35	0,30	-0,25	0,39	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43	-0,31	-0,29	-0,25	-0,33	-0,36	
TS SA	0,30	0,25	0,49	0,30	0,39	-0,17	0,47	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71	-0,44	-0,31	-0,29	-0,36	-0,32	
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,50	-0,37	-0,47	0,33	-0,32	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34	0,22	0,39	0,31	0,36	0,30	
CMI SA F	-0,67	-0,59	-0,53	-0,45	-0,73	0,55	-0,38	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41	0,29	0,31	0,30	0,46	0,18	
CMI EC	-0,52	-0,43	-0,37	-0,25	-0,27	0,45	-0,30	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47	0,30	0,32	0,36	0,35	0,46	
CMI SA	-0,36	-0,18	-0,59	-0,35	-0,12	0,13	-0,28	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00	0,35	0,31	0,38	0,34	0,25	
BSA	-0,36	-0,52	-0,33	-0,38	-0,41	0,36	-0,22	-0,34	-0,46	-0,31	-0,44	0,22	0,29	0,30	0,35	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58	
ACHe	-0,58	-0,45	-0,65	-0,47	-0,54	0,29	-0,36	-0,30	-0,37	-0,29	-0,31	0,39	0,31	0,32	0,31	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79	
A-glu	-0,51	-0,31	-0,53	-0,30	-0,51	0,17	-0,41	-0,42	-0,35	-0,25	-0,29	0,31	0,30	0,36	0,38	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83	
LP	-0,34	-0,45	-0,25	-0,19	-0,53	0,49	-0,43	-0,42	-0,37	-0,33	-0,36	0,36	0,46	0,35	0,34	0,73	0,45	0,71	1,00	0,49	
Tyr	-0,49	-0,33	-0,58	-0,40	-0,44	0,32	-0,37	-0,24	-0,33	-0,36	-0,32	0,30	0,18	0,46	0,25	0,58	0,79	0,83	0,49	1,00	

Corrélations activités antioxydantes et antibactériennes et inhibition enzymatique																					
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$																					
N=78 (Observations à VM ignorées)																					
Variable	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA	BSA	ACHe	A-glu	LP	Tyr	
DPPH	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59	0,58	0,64	0,40	0,30	-0,57	-0,67	-0,52	-0,36	-0,36	-0,58	-0,51	-0,34	-0,49	
ABTS	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71	0,53	0,62	0,36	0,25	-0,43	-0,59	-0,43	-0,18	-0,52	-0,45	-0,31	-0,45	-0,33	
FRAP	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52	0,39	0,55	0,41	0,49	-0,50	-0,53	-0,37	-0,59	-0,33	-0,65	-0,53	-0,25	-0,58	
PR	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66	0,33	0,47	0,35	0,30	-0,37	-0,45	-0,25	-0,35	-0,38	-0,47	-0,30	-0,19	-0,4	
ACF	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26	0,58	0,72	0,30	0,39	-0,47	-0,73	-0,27	-0,12	-0,41	-0,54	-0,51	-0,53	-0,44	
NORS	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60	-0,32	-0,54	-0,25	-0,17	0,33	0,55	0,45	0,13	0,36	0,29	0,17	0,49	0,32	
BBC	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00	0,35	0,58	0,39	0,47	-0,32	-0,38	-0,30	-0,28	-0,22	-0,36	-0,41	-0,43	-0,37	
TS ST	0,58	0,53	0,39	0,33	0,58	-0,32	0,35	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49	-0,34	-0,30	-0,42	-0,42	-0,24	
TS SA F	0,64	0,62	0,55	0,47	0,72	-0,54	0,58	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53	-0,46	-0,37	-0,35	-0,37	-0,33	
TS EC	0,40	0,36	0,41	0,35	0,30	-0,25	0,39	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43	-0,31	-0,29	-0,25	-0,33	-0,36	
TS SA	0,30	0,25	0,49	0,30	0,39	-0,17	0,47	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71	-0,44	-0,31	-0,29	-0,36	-0,32	
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,50	-0,37	-0,47	0,33	-0,32	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34	0,22	0,39	0,31	0,36	0,30	
CMI SA F	-0,67	-0,59	-0,53	-0,45	-0,73	0,55	-0,38	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41	0,29	0,31	0,30	0,46	0,18	
CMI EC	-0,52	-0,43	-0,37	-0,25	-0,27	0,45	-0,30	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47	0,30	0,32	0,36	0,35	0,46	
CMI SA	-0,36	-0,18	-0,59	-0,35	-0,12	0,13	-0,28	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00	0,35	0,31	0,38	0,34	0,25	
BSA	-0,36	-0,52	-0,33	-0,38	-0,41	0,36	-0,22	-0,34	-0,46	-0,31	-0,44	0,22	0,29	0,30	0,35	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58	
ACHe	-0,58	-0,45	-0,65	-0,47	-0,54	0,29	-0,36	-0,30	-0,37	-0,29	-0,31	0,39	0,31	0,32	0,31	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79	
A-glu	-0,51	-0,31	-0,53	-0,30	-0,51	0,17	-0,41	-0,42	-0,35	-0,25	-0,29	0,31	0,30	0,36	0,38	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83	
LP	-0,34	-0,45	-0,25	-0,19	-0,53	0,49	-0,43	-0,42	-0,37	-0,33	-0,36	0,36	0,46	0,35	0,34	0,73	0,45	0,71	1,00	0,49	
Tyr	-0,49	-0,33	-0,58	-0,40	-0,44	0,32	-0,37	-0,24	-0,33	-0,36	-0,32	0,30	0,18	0,46	0,25	0,58	0,79	0,83	0,49	1,00	

Corrélations activités antioxydantes et antibactériennes et inhibition enzymatique																					
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$																					
N=78 (Observations à VM ignorées)																					
Variable	DPPH	ABTS	FRAP	PR	ACF	NORS	BBC	TS ST	TS SA F	TS EC	TS SA	CMI ST	CMI SA F	CMI EC	CMI SA	BSA	ACHe	A-glu	LP	Tyr	
DPPH	1,00	0,81	0,60	0,77	0,50	-0,46	0,59	0,58	0,64	0,40	0,30	-0,57	-0,67	-0,52	-0,36	-0,36	-0,58	-0,51	-0,34	-0,49	
ABTS	0,81	1,00	0,81	0,89	0,52	-0,36	0,71	0,53	0,62	0,36	0,25	-0,43	-0,59	-0,43	-0,18	-0,52	-0,45	-0,31	-0,45	-0,33	
FRAP	0,60	0,81	1,00	0,85	0,61	-0,34	0,52	0,39	0,55	0,41	0,49	-0,50	-0,53	-0,37	-0,59	-0,33	-0,65	-0,53	-0,25	-0,58	
PR	0,77	0,89	0,85	1,00	0,52	-0,48	0,66	0,33	0,47	0,35	0,30	-0,37	-0,45	-0,25	-0,35	-0,38	-0,47	-0,30	-0,19	-0,4	
ACF	0,50	0,52	0,61	0,52	1,00	-0,36	0,26	0,58	0,72	0,30	0,39	-0,47	-0,73	-0,27	-0,12	-0,41	-0,54	-0,51	-0,53	-0,44	
NORS	-0,46	-0,36	-0,34	-0,48	-0,36	1,00	-0,60	-0,32	-0,54	-0,25	-0,17	0,33	0,55	0,45	0,13	0,36	0,29	0,17	0,49	0,32	
BBC	0,59	0,71	0,52	0,66	0,26	-0,60	1,00	0,35	0,58	0,39	0,47	-0,32	-0,38	-0,30	-0,28	-0,22	-0,36	-0,41	-0,43	-0,37	
TS ST	0,58	0,53	0,39	0,33	0,58	-0,32	0,35	1,00	0,73	0,42	0,41	-0,65	-0,58	-0,47	-0,49	-0,34	-0,30	-0,42	-0,42	-0,24	
TS SA F	0,64	0,62	0,55	0,47	0,72	-0,54	0,58	0,73	1,00	0,43	0,37	-0,73	-0,83	-0,40	-0,53	-0,46	-0,37	-0,35	-0,37	-0,33	
TS EC	0,40	0,36	0,41	0,35	0,30	-0,25	0,39	0,42	0,43	1,00	0,31	-0,38	-0,34	-0,45	-0,43	-0,31	-0,29	-0,25	-0,33	-0,36	
TS SA	0,30	0,25	0,49	0,30	0,39	-0,17	0,47	0,41	0,37	0,31	1,00	-0,30	-0,38	-0,40	-0,71	-0,44	-0,31	-0,29	-0,36	-0,32	
CMI ST	-0,57	-0,43	-0,50	-0,37	-0,47	0,33	-0,32	-0,65	-0,73	-0,38	-0,30	1,00	0,78	0,58	0,34	0,22	0,39	0,31	0,36	0,30	
CMI SA F	-0,67	-0,59	-0,53	-0,45	-0,73	0,55	-0,38	-0,58	-0,83	-0,34	-0,38	0,78	1,00	0,51	0,41	0,29	0,31	0,30	0,46	0,18	
CMI EC	-0,52	-0,43	-0,37	-0,25	-0,27	0,45	-0,30	-0,47	-0,40	-0,45	-0,40	0,58	0,51	1,00	0,47	0,30	0,32	0,36	0,35	0,46	
CMI SA	-0,36	-0,18	-0,59	-0,35	-0,12	0,13	-0,28	-0,49	-0,53	-0,43	-0,71	0,34	0,41	0,47	1,00	0,35	0,31	0,38	0,34	0,25	
BSA	-0,36	-0,52	-0,33	-0,38	-0,41	0,36	-0,22	-0,34	-0,46	-0,31	-0,44	0,22	0,29	0,30	0,35	1,00	0,71	0,90	0,73	0,58	
ACHe	-0,58	-0,45	-0,65	-0,47	-0,54	0,29	-0,36	-0,30	-0,37	-0,29	-0,31	0,39	0,31	0,32	0,31	0,71	1,00	0,89	0,45	0,79	
A-glu	-0,51	-0,31	-0,53	-0,30	-0,51	0,17	-0,41	-0,42	-0,35	-0,25	-0,29	0,31	0,30	0,36	0,38	0,90	0,89	1,00	0,71	0,83	
LP	-0,34	-0,45	-0,25	-0,19	-0,53	0,49	-0,43	-0,42	-0,37	-0,33	-0,36	0,36	0,46								

Annexe 13 : Nuage de points de la conductivité électrique et de la teneur en cendres des miels analysés.



Résumé

Les principaux objectifs de ce travail sont la détermination des spectres polliniques, des propriétés physicochimiques, des teneurs en composés bioactifs, des profils phénoliques et des activités biologiques de 26 miels d'Algérie. Les analyses méliissopalynologiques révèlent 13 miels polyfloraux et 13 miels monofloraux avec 5 types de pollens dominants (*Apiaceae*, *Fabaceae*, *Myrtaceae*, *Ericaceae* et *Brassicaceae*). Les analyses physico-chimiques montrent que les miels répondent aux normes internationales, à quelques exceptions près. Les résultats des spectres FTIR-ATR des miels montrent que cette méthode est capable de différencier les miels purs des miels adultérés. Les teneurs en polyphénols totaux (64 à 200 mg EAG 100 g⁻¹), flavonoïdes (3 à 28 mg EQ 100 g⁻¹), flavonols (1 à 12 mg EQ 100 g⁻¹), caroténoïdes (de 0,5 à 5,6 mg Eβcarot kg⁻¹) et vitamine C (0,4 à 2,3 mg EAA 100 g⁻¹) varient selon les échantillons. Les miels de couleur foncés montrent les meilleures activités antioxydantes et anti-inflammatoires. L'analyse HPLC des échantillons de miel révèle 8 acides phénoliques et 8 flavonoïdes. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les miels sont plus efficaces contre les bactéries Gram positif (*S. aureus* et *S. aureus* FRI 6) que contre les bactéries Gram négatif (*E. coli* et *S. typhi*). Tous les miels montrent le pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase, l'α-glucosidase, la lipase pancréatique et la tyrosinase. L'analyse statistique révèle que la couleur foncée du miel est un bon indicateur d'une teneur plus élevée en antioxydants et des meilleures propriétés biologiques. Le miel peut être également intégré comme agent thérapeutique dans différentes stratégies de prévention et de traitement de plusieurs maladies telles que l'arthrite, la maladie d'Alzheimer, l'obésité et l'hyperpigmentation.

Mots-clés : Miels Algériens ; Analyses polliniques ; Paramètres physicochimiques ; Analyse FTIR-ATR ; Composés antioxydants ; Activités biologiques ; HPLC-UV

Abstract

The main objectives of this work were determined the pollen spectrums, physicochemical properties, bioactive compounds content, phenolic profiles and biological activities of 26 honeys from Algeria. The melissopalynological analyses revealed 13 polyfloral and 13 monofloral honeys with 5 dominant pollen types (*Apiaceae*, *Fabaceae*, *Myrtaceae*, *Ericaceae* and *Brassicaceae*). The physico-chemical analyses show that the honeys meet the international standards, with a few exceptions. The results of the FTIR-ATR spectra of the honeys show that this method is able to differentiate pure honeys from adulterated honeys. The contents of total polyphenols (64 to 200 mg EAG 100 g⁻¹), flavonoids (3 to 28 mg EQ 100 g⁻¹), flavonols (1 to 12 mg EQ 100 g⁻¹), carotenoids (0.5 to 5.6 mg Eβcarot kg⁻¹), and vitamin C (0.4 to 2.3 mg EAA 100 g⁻¹) vary among samples, with darker colored honeys showing the best antioxidant and anti-inflammatory activities. HPLC analysis of honey samples reveals 8 phenolic acids and 8 flavonoids. The results of antibacterial activity show that the honeys are more effective against Gram-positive bacteria (*S. aureus* and *S. aureus* FRI 6) than against Gram-negative bacteria (*E. coli* and *S. typhi*). All honeys show the inhibitory power of acetylcholinesterase, α-glucosidase, pancreatic lipase and tyrosinase. Statistical analysis reveals that the darker color of honey is a good indicator of higher antioxidant content and better biological properties. Honey can also be integrated as a therapeutic agent in different strategies for the prevention and treatment of several diseases such as arthritis, Alzheimer's disease, obesity and hyperpigmentation.

Keywords: Algerian honeys; Pollen analysis; Physicochemical parameters; FTIR-ATR analysis; Antioxidant compounds; Biological activities; HPLC-UV.

ملخص

تتمثل الأهداف الرئيسية لهذا العمل في تحديد حبوب الطلع، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، تحديد محتوى المركبات النشطة بيولوجيًا والمركبات الفينولية وبالإضافة إلى الأنشطة البيولوجية لـ 26 عسلًا من الجزائر. كشفت تحاليل حبوب الطلع عن 13 عسل متعدد الأزهار و 13 عسل أحادي الأزهار مع 5 أنواع سائدة من النباتات (*Brassicaceae* و *Ericaceae*, *Myrtaceae*, *Fabaceae*, *Apiaceae*). تظهر التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن العسل يفي بالمعايير الدولية، مع استثناءات قليلة. تظهر نتائج أطيف FTIR-ATR للعسل أن هذه الطريقة قادرة على التمييز بين العسل النقي والعسل المغشوش. محتويات إجمالي البوليفينول (64 إلى 200 مغ EAG / 100 غ)، الفلافونويد (3 إلى 28 مغ EQ / 100 غ)، الفلافونول (1 إلى 12 مغ EQ / 100 غ)، الكاروتينات (من 0.5 إلى 5.6 مغ Eβ-carot / كغ) وفيتامين C (0,4 إلى 2.3 مغ EAA / 100 غ) يختلف وفقًا للعينات، ويُظهر العسل الداكن أفضل الأنشطة المضادة للأكسدة والالتهابات. أظهر تحليل HPLC لعينات العسل وجود 8 أحماض فينولية و 8 فلافونويد. تظهر نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أن العسل أكثر فعالية ضد البكتيريا Gram+ (*S. aureus* و *S. aureus* FRI6) مقارنة بالبكتيريا Gram- (*S. typhi* و *E. coli*). تظهر جميع أنواع العسل القوة المثبطة لأستيل كولينستراز، ألفا جلوكوزيداز، ليباز البنكرياس وتيروسيناز. يكشف التحليل الإحصائي أن اللون الداكن للعسل هو مؤشر جيد على ارتفاع محتواه لمضادات الأكسدة ويتميز بخصائص بيولوجية أفضل. يمكن أيضًا دمج العسل كعامل علاجي في استراتيجيات مختلفة للوقاية والعلاج من العديد من الأمراض مثل التهاب المفاصل ومرض الزهايمر والسمنة وفرط التصبغ.

كلمات مفتاحية: عسل جزائري؛ تحليلات حبوب الطلع؛ الخصائص الفيزيائية والكيميائية؛ تحليل FTIR-ATR؛ مركبات مضادات الأكسدة؛ الأنشطة البيولوجية؛ HPLC-UV.