

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
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Caractérisation et corrélation de l'activité
antiradicalaire et couleur du miel**

Présenté par :

Mekhnache Daouia & Merad Radhia

Soutenu le : **Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{me} Ouahmed. H

M^r Hamoum. M

M^{me} Amir. H

MCB

MAA

MCB

Présidente

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciement

Ce mémoire n'aurait pas peut être ce qu'il est, sans l'aide d'**ALLAH** qui nous a donné la force et la patience afin d'accomplir. Dieu merci.

Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promoteur **M^r Hamoum. M** pour nous avoir proposé cet intéressant sujet.

Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port. Merci pour votre confiance et vos encouragements.

De très précieux remerciements vont à **M^r Ouchemoukh. S** qui n'a pas hésité de nous venir humblement en aide. Son soutien et ses encouragements ont été un grand soulagement dans les moments les plus difficiles.

Nous remercions tous particulièrement les membres de jury, en l'occurrence **M^{me} Amir. H** et **M^{me} Ouahmed. H** d'avoir accepté D'évaluer notre travail et pour l'intérêt qu'ils y portent.

Nous exprimons aussi notre profonde gratitude au doctorant **M^r Otmani. A** pour sa Disponibilité et son aide scientifique sur la partie microbiologie.

Un grand merci à nos familles pour leur soutien constant, à nos amis, nos collègues en Master 2 et à toute personne ayant contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail:

A la perle de mes yeux, l'espoir de ma vie, celle qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse, à ma chère mère que Dieu la garde et la protège.

A celui qui m'a toujours appris comment réfléchir avant d'agir, à celui qui m'a soutenu tout au long de ma vie scolaire, à celui qui n'a jamais épargné un effort pour mon bien, mon chère père que Dieu me le garde.

A mes chers frères: Halim, Kamel et Zaid ainsi qu'à leur petite famille.

A mes chères sœurs: Touderth, Fazia et son mari.

A mon cher fiancé ainsi qu'à toute la famille Sedrati.

A toutes mes amies: Mina, Nawel, Dida, Hamane et toutes les personnes qui me connaissent.

A ma collègue: Radhia et sa famille.

A toute la promotion Master 2 Biochimie Appliquée 2016-2017.

Daouia

Dédicaces

Je dédie ce humble travail avec grand amour, sincérité et fierté

A mes très chers biens aimés,

Mon papa chéri que j'aime énormément, qui a tout fait pour moi pour que je réussisse dans ma vie et mes études, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A ma chère mère, sources et d'affectation de tendresse pour ses sacrifices depuis qu'elle m'a mise au monde. Que dieu te prête bonheur et réalise tes souhaits.

A mes adorables sœurs **Minou** et **Sissi** et a mon petit frère **Sidali** ainsi que mon neveu **seifeddine**, en témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès.

A mes cousins et cousines.

A mes meilleurs ami(e)s : Kenza, Katia, Amina, Naouel, Dida, fawzi et Hanane, pour votre soutien moral et matériel et pour vos encouragements tout au long des ces années.

A ma collègue Daouia et a toute la promo de Biochimie appliquée 2016/2017.

A tous ceux, qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Que dieu vous protège tous.

Radia

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1 Abeille2

I-1-1 Fabrication du miel2

I-2 Généralité sur le miel2

I-2-1 Définition2

I-2-2 Origines3

I-2-3 Type de miel3

I-2-4 Composition chimique4

I-2-5 Propriétés physicochimiques6

I-2-6 Propriétés biologiques du miel8

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1 Echantillonnage11

II-2 Méliissopalynologie12

II-3 Analyses physico-chimiques12

II-3-1 Humidité et Brix12

II-3-2 pH (potentiel d'hydrogène)12

II-3-3 Conductivité électrique12

II-3-4 Couleur13

II-3-5 Protéine13

II-3-6 Proline13

II-3-7 Hydroxymethylfurfural (HMF)14

II-3-8 Pouvoir rotatoire14

II-4 Dosages phyto-chimiques15

II-5 Etude de l'activité antioxydante16

II-5-1 Activités antiradicalaires.....	16
II-5-2 Activité réductrice.....	17
II-6 Etude de l'activité antibactérienne.....	18
II-7 Analyse statistique.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1 Analyse pollinique.....	21
III-2 Analyses physico-chimiques.....	23
III-2-1 Humidité.....	23
III-2-2 Brix.....	24
III-2-3 pH.....	24
III-2-4 Conductivité électrique.....	25
III-2-5 Couleur.....	25
III-2-6-Protéine.....	26
III-2-7 Proline.....	27
III-2-8 HMF.....	28
III-2-9 Pouvoir rotatoire.....	29
III-3 Analyses phyto-chimiques.....	29
III-4 Etude de l'activité antioxydante.....	31
III-4-1 Activité anti-radicalaire par ABTS.....	31
III-4-2 Activité antiradicalaire par DPPH.....	31
III-4-3 Activité chélatrice de fer.....	32
III-4-4 Pouvoir réducteur.....	33
III-5 Etude de l'activité antibactérienne.....	35
III-6 Corrélations.....	37
III-7 Analyse en composante principale.....	39
Conclusion et perspectives.....	40
Références bibliographiques.....	41

Annexes

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

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

ACP : Analyse en composante principale.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BSA : Sérum-albumine bovine.

CE : Conductivité électrique.

CETAM : Centre d'Etude Technique Apicoles de Moselle, France.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration minimal inhibitrice.

DPPH : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EBSA : Equivalent Bovin Serum Albumin.

EC : Equivalent catéchine.

E.Coli : Escherichia coli.

Fe : Fer.

FRAP : Ferric reducing antioxydant power.

HMF : Hydroxyméthylfurfural.

IL-1 : Interleukine 1.

IL-6 : Interleukine 6.

K. pneumoniae : *Klebseilla pneumoniae*.

M : Miel.

meq : Méli équivalent.

mS : Milisiemens.

MS : Matière sèche.

MGO : Methyglyoxal.

Ph : potentiel d'hydrogène.

r : Coefficient de corrélation.

S. aureus : Staphylococcus aureus.

T° : Température.

TNF α : Tumor necrosis factor alpha.

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

UV : Ultraviolet-visible.

Liste des figures

Figure 01 : Photographie des échantillons de miel.....	11
Figure 02 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	17
Figure 03 : Effets de quelques miels sur les 3 souches bactériennes.....	36
Figure 04 : Représentation du plan factoriel de l'analyse en composante principale.....	39

Liste des tableaux

Tableau I : Présentation des échantillons de miel étudiés.....	11
Tableau II : Séries de dilution de chaque solution de miel.....	20
Tableau III : Spectre pollinique et pourcentage de pollens des miels analysés.....	22
Tableau IV : Pouvoir rotatoire des miels analysés.....	29
Tableau V : Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés.....	34
Tableau VI : Teneur en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.....	34
Tableau VII : Résultats des microplaques des miels analysés.....	37

Introduction

Les effets secondaires des médicaments constituent aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, l'homme n'aura peut-être pas accès un jour à des médicaments, il faudra pouvoir continuer à se soigner quand même. Il est intéressant de savoir tous les produits naturels qui possèdent des thérapies, parmi eux le miel qui est un produit dont les vertus sont très intéressantes.

Le miel au cœur de nombreuses croyances et religions a réussi à traverser toutes les civilisations, il est employé depuis des millénaires dans l'alimentation, en cosmétiques mais également en médecine pour ses extraordinaires vertus thérapeutiques, les livres saints comme la Bible et le Coran ne manquent pas de louer ses vertus (Hoyet, 2005).

Le miel est un élixir précieux qui est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Il est ce que l'homme n'est jamais parvenu à fabriquer parfaitement lui-même.

Le miel est une solution hautement concentrée en sucres, notamment en glucose et en fructose, il contient de l'eau et renferme aussi une large gamme de composés mineurs (protéine, enzymes, acides aminés, acides organiques, polyphénols et flavonoïdes...), il est utilisé depuis toujours pour ses propriétés essentiellement antioxydantes et antimicrobiennes. Hippocrate (400 avant J.-C.) considérait le miel comme un remède idéal et il le recommandait dans le traitement des plaies (Hoyet, 2005).

L'usage du miel en médecine refait surface à travers le monde d'où la création de l'apithérapie, pratiquée depuis des décennies sous une forme simple et naturelle, utilisant du miel pour son effet cicatrisant, anti-cancer et anti-ulcère et ceci grâce aux propriétés physico-chimiques et biologiques du miel (Meda et al., 2005).

Ce travail vise justement à renforcer ces études par l'usage qui fait du miel concernant ses activités antioxydantes, antimicrobiennes mais aussi de l'associer à différents miels surtout par la coloration. L'étude perspective s'articulera autour de trois parties :

Une première partie portera sur les connaissances bibliographiques sur le miel ou ses différentes propriétés seront abordées.

La seconde partie sera basée sur le matériel d'étude et des méthodes analytiques utilisées pour les analyses physico-chimiques et les activités antioxydantes, antibactériennes ainsi que les analyses polliniques seront évoquées.

La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus avec leur discussion.

Au cours des dernières années, les apiculteurs et les scientifiques ont découvert la vie sociale des abeilles qui est très évoluée. Elles produisent le miel connu de tous. Leur rôle dans notre environnement est très important vu qu'elles interviennent activement dans le processus qui permet aux plantes de se reproduire.

I-1 Abeille

L'abeille fait partie de la grande classe des insectes et plus précisément de l'ordre des Hyménoptères. L'espèce la plus connue est l'*Apis mellifera*, c'est-à-dire l'abeille à miel, elle vit en famille ou colonies d'environ 20 000 à 50 000 individus, comprenant une reine, plusieurs milliers de faux bourdons (au printemps) et des ouvrières (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

I-1-1 Fabrication du miel

Pour se reproduire, les fleurs ont besoin d'être polonisées, elles doivent recevoir sur leur pistil (élément femelle) le pollen produit par les étamines (élément mâle) d'autres fleurs. Cette pollinisation se fait principalement par l'intermédiaire des abeilles qui déplacent le pollen en se promenant de fleur en fleur.

Les fleurs ont donc besoin des abeilles pour se reproduire. Pour les attirer elles produisent une substance sucrée : le nectar, l'abeille aspire ce nectar et le stocke dans le jabot pour le rapporter à la ruche. Les abeilles butinent également le miellat, cette substance se présente sous formes de gouttelettes sucrées fixées sur les feuilles des végétaux. Le miellat est fabriqué par de petits animaux comme les pucerons. Ces derniers se nourrissent de la sève et rejettent ce qu'ils ont en trop sous la forme de ces petites gouttelettes. De retour à la ruche l'abeille mélange le nectar et le miellat à sa salive puis malaxe le tout. Elle passe ensuite ce mélange dans le jabot d'une autre abeille et ainsi de suite (Persano Oddo et *al.*, 1999). Au fur et à mesure qu'il passe d'abeille en abeille, ce mélange s'enrichit, se transforme, se concentre pour devenir du miel (Hoyet, 2005; Ouchemoukh, 2012).

I-2 Généralité sur le miel

I-2-1 Définition

Le miel est une substance naturelle sucrée élaborée par les abeilles mellifère, il est obtenu à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de la sève des

plantes ou se trouvant sur elles, que les abeilles butinent, transforment, combinent, avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent murir dans les rayons de la ruche (Codex Alimentarius, 2001).

I-2-2 Origines

Le miel est élaboré par les abeilles à partir des sucres produits par des végétaux, soit sous forme de nectar, soit sous forme de miellat (Liu et *al.*, 2013).

I-2-2-1 Miel de nectar

Le nectar s'agit d'une solution aqueuse plus ou moins concentrée fabriquée par les tissus glandulaires ou nectaires de la fleur. C'est un mélange chimique complexe constitué de sucres environ 90 %, les plus courants étant le saccharose, glucose et le fructose (Hoyet, 2005). Les proportions de ces sucres varient d'une plante à une autre et influent sur la qualité du miel. Les butineuses récoltent ce nectar en y ajoutant leur salive chargée d'une enzyme, l'invertase qui entame la transformation du saccharose en fructose et en glucose (Ouchemoukh, 2012).

Le nectar contient d'autres substances telles que l'eau, les protéines, les acides aminés, les phénols, les alcools, les pigments et les vitamines, tous ses éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (Hoyet, 2005).

I-2-2-2 Miel de miellat

Le miellat s'agit d'un liquide sucré excrété par plusieurs espèces d'insectes parasites vivant sur la plante, tels que les pucerons, des cochenilles ou des autres hémiptères (Jean-Prost et Le Conte, 2005). Ces insectes munissent d'un appareil buccal piqueur suceur, perforent les tissus de la plante jusqu'aux faisceaux dans lesquels circule la sève élaboré, composée de glucides, de substances azotées, de sels minéraux, d'acides et de vitamines. Celle-ci passe dans l'estomac et subit dans le tube digestif des transformations qui en font un miellat rejeté par l'anus. Les butineuses recueillent le miellat par léchage et remplissent progressivement leur jabot. Ce dernier plein, elles regagnent la ruche (Hoyet, 2005).

I-2-3 Type de miel

Il existe deux catégories de miel : les miels monofloraux et les miels polyfloraux.

Le miel provenant d'une fleur ou d'une plante est dite monoflorale, lorsque le pourcentage des grains de pollen de cette plante ou fleur est supérieur à 45 % (Ouchemoukh, 2012).

Selon Fallico et *al.* (2004), les miels monofloraux sont mieux appréciés pour leur saveur et arôme fortement caractéristiques. La détermination de l'origine botanique est basée sur plusieurs méthodes, la plus fiable étant l'analyse pollinique (Popek, 2002).

Les miels polyfloraux, comme leur nom l'indique, sont issus de plusieurs espèces végétales différentes, ils sont donc, en règle générale, désignés soit par leur origine géographique, soit par un type de paysage floral (Desmoulière et Bonté, 2013).

L'origine florale d'un miel est importante car elle détermine les propriétés organoleptiques de celui-ci (couleur, goût, texture).

I-2-4 Composition chimique

Le miel est l'unique produit sucrant naturel, sa composition chimique est relativement bien connue malgré sa complexité. Les miels sont principalement composés de sucre mais également d'autres constituants tels que : les protéines, les sels minéraux, les vitamines, et autres substances phyto-chimiques (Al et *al.*, 2009; Ferreira et *al.*, 2009). Certaines de ces substances sont dérivées des plantes, d'autres sont dues à la maturité du miel et d'autres encore sont additionnées par l'abeille (Anklam, 1998). La composition du miel est étroitement associée à son origine botanique, qui est liée essentiellement au secteur géographique du sol (Baroni et *al.*, 2009).

I-2-4-1 Eau

Le miel contient de l'eau avec un pourcentage optimum de 17 à 18 % (Fallico et *al.*, 2004). Un miel de qualité contient une humidité qui ne dépasse pas 18 %, une teneur en eau plus importante affecterait la conservation du miel avec un risque de fermentation. L'humidité du miel est étroitement liée aux conditions climatiques et à son degré de maturité (Baroni et *al.*, 2009).

I-2-4-2 Glucides

Des glucides ou sucres, présents en grande quantité : 70 à 80 % (Ouchemoukh et *al.*, 2007). Les sucres simples représentent la plus grande partie de la composition du miel

avec une prédominance pour le fructose et le glucose (Abramović et *al.*, 2008; Baroni et *al.*, 2009). Une petite quantité de disaccharides (principalement saccharose et maltose) et des oligosaccharides sont également présent (Abramović et *al.*, 2008).

I-2-4-3 Acides organiques

Tous les miels sont acides. Ils contiennent des acides organiques libres ou combinés sous forme de lactone. Cette acidité se situe entre 10 et 60 méq / kg. C'est l'acide gluconique, issu de la transformation enzymatique du glucose qui prédomine dans le miel (Missio da silva et *al.*, 2016). Mais une vingtaine d'acides organiques tels que les acides Pyruvique, malique, citrique, succiniques et fumarique y sont également représentés (Anklam, 1998).

I-2-4-4 Acides aminés et protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel 0,2 %, ils sont issus de deux sources, l'une animale (abeilles) et l'autre végétales (pollen) (Anklam, 1998). Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines. On trouve également entre 50 à 80 % d'acides aminés et dont la proline est la plus abondante (Ouchemoukh et *al.*, 2007).

I-2-4-5 Enzymes

Elles proviennent soit des nectars, soit des sécrétions salivaires de l'abeille. Les plus connues sont la gluco-invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides, et les amylases alpha et bêta qui permettent la dégradation de l'amidon. D'autres enzymes existent également dans le miel telles que la catalase, la phosphatase et la glucose oxydase (Persano Oddo et *al.*, 1999).

I-2-4-6 Vitamines

Le miel ne contient que très peu de vitamines, essentiellement des vitamines du groupe B prévenant des grains de pollen en suspension. De la vitamine C (acide ascorbique) y est également présente (Missio da silva et *al.*, 2016).

I-2-4-7 Lipides

Ils sont en faible quantités, issu du nectar. Ils sont représentés par des glycérides et des acides gras (acide palmitique, oléique et linoléique) (Ouchemoukh, 2012).

I-2-4-8 Sels minéraux

Leur taux est compris entre 0,1 et 1 %. Les miels foncés en contiennent d'avantage que les miels clairs. On retrouve principalement du potassium, sodium, calcium, magnésium, manganèse, le zinc et le fer (Baroni et *al.*, 2009).

I-2-4-9 Pollen

Le pollen, élément male des plantes à fleurs, se présente sous forme de grains microscopiques contenus dans les anthères des étamines. Chaque grain de pollen renferme des glucides, protides, acides aminés, l'eau, des lipides et des sels minéraux. Il comporte également des pigments et des vitamines.

L'identification des grains de pollen repose sur leur examen microscopique. Couleur, forme, taille, pores et aspérités différencient la plupart d'entre eux (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

I-2-4-10 Constituants divers

A côté des constituants principaux déjà énumérés, le miel contient en très grands nombre mais en faibles quantités des substances plus ou moins bien connues tels que les phénols (flavonoïdes et acides phénoliques), qui confèrent au miel ces propriétés bioactives (Al et *al.*, 2009).

I-2-5 Propriétés physico-chimiques

I-2-5-1 pH (potentiel d'Hydrogène)

Le pH du miel est acide ; il oscille entre 3 et 6. Cette acidité est due essentiellement à la présence des acides organiques, en particulier l'acide gluconique, ainsi que d'ions inorganiques (Ouchemoukh et *al.*, 2007).

Les miels de nectar possèdent le plus souvent des valeurs de pH faibles (3,3 à 4,5) tandis que les miels de miellat ont un pH élevé (Pesenti et *al.*, 2008).

I-2-5-2 Couleur

La couleur du miel est un paramètre de qualité, elle est due à la présence de plusieurs substances telle que les caroténoïde, les flavonoïdes et les polyphénols (Ribeiro et *al.*, 2014). De même que les minéraux et les acides aminés (Amiot et *al.*, 1989).

Selon Betoncelj et *al.* (2007), la couleur foncée du miel indique un taux élevé en polyphénols totaux, et par conséquent une forte capacité antioxydante.

I-2-5-3 Indice de réfraction et humidité

Il oscille entre 1,47 et 1,50 pour une teneur en eau de 13 à 18 % à 20 °C. Cette propriété est d'ailleurs utilisée pour mesurer la teneur en eau d'un miel en se référant à la table de CHATAWAY. L'humidité sert essentiellement à estimer le degré de maturité du miel et renseigne également sur les méthodes de sa conservation (Abramović et *al.*, 2008).

I-2-5-4 Conductivité électrique

La conductivité électrique est l'un des meilleurs paramètres pour la différenciation entre les miels de différentes origines florales. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel; les miels de miellat sont, en général, beaucoup plus minéralisés que les miels de nectar, donc ont une conductivité plus élevée, car celle-ci est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et des protéines (Ouchemoukh et *al.*, 2007).

I-2-5-5 Teneur en proline

Ouchemoukh et *al.* (2007), ont rapporté que la proline est un bon indicateur de falsification, cet acide aminé est également considéré comme un critère de maturité du miel, étant donné qu'il est additionné par les abeilles à la fin de son élaboration.

I-2-5-6 Teneur en HMF (Hydroxyméthylfurfural)

L'HMF est une substance issue de la transformation du fructose en milieu acide, est présent dans les miels anciens ou ayant subi un surchauffage (Bath et Singh, 1999). Il peut donc constituer un marqueur de sa conservation. L'analyse de la quantité de HMF est donc une excellente méthode pour apprécier la qualité du miel (Gonnet, 1963).

I-2-5-7 Pouvoir rotatoire

Tous les sucres dévient la lumière polarisée. Certains à droite comme le D-glucose et le saccharose, d'autre à gauche comme le D (-) fructose et en raison de leur composition en sucres, tous les miels de nectar possèdent un pouvoir rotatoire négatif « lévogyres » alors que c'est l'inverse pour les miellats qui sont « dextrogyres » C'est un excellent moyen pour les différencier (Nanda et *al.*, 2003).

I-2-6 Propriétés biologiques du miel

I-2-6-1 Propriété cicatrisante

Le miel est connu depuis des siècles, comme étant un produit favorisant la cicatrisation des plaies (Hoyet, 2005).

Par sa viscosité et au contact d'une plaie, le miel réalise une barrière protectrice et contribue à maintenir un milieu humide du fait de sa teneur en eau, l'humidité permet une restauration plus rapide des cellules épithéliales. Et le recouvrement par une nouvelle couche de la peau. De plus, du fait de son hyper-osmolarité au niveau des plaies consécutive à la forte teneur en sucre, crée un appauvrissement de l'eau disponible pour les germes et bactéries mettant un péril leur survie (Werner et lacourreye, 2011).

Le miel est considéré comme l'agent potentiel d'acidification efficace des plaies du fait de son pH acide. Le pH acide du miel permet un apport supplémentaire en oxygène, ce qui va favoriser l'activité fibroblastique en optimisant leur prolifération.

Lors de la dégradation du glucose du miel en présence d'eau et d'oxygène par la glucose oxydase, il y'a formation d'acide gluconique et d'eau oxygéné (H_2O_2). Ce H_2O_2 est communément utilisé dans la prise en charge des plaies pour ses propriétés antiseptiques. En effet, au contact du sang et des tissus, elle se décompose en eau et en oxygène ($H_2O_2 = H_2O + O_2$) créant ainsi une « microeffervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (détersion), de plus l'eau oxygéné favorise l'angiogenèse et la prolifération des fibroblastes et des cellules épithéliales qui participeront à la réparation tissulaire (Couquet et *al.*, 2013).

I-2-6-2 Propriété antibactérienne

Le miel est bien connu pour son activité antibactérienne, Les chercheurs ont montré que c'est l'action combinée de propriétés physiques et chimiques qui confère au miel son activité antibactérienne (Hoyet, 2005).

L'effet osmotique : Le miel est une solution hypertonique saturée en monosaccharides tels que le glucose et le fructose. Par effet osmotique, les molécules de sucres vont donc interagir avec les molécules d'eau, laissant ainsi très peu d'eau disponible pour la survie des bactéries. Cette déshydratation provoque également la lyse de la membrane des

bactéries, aboutissant à l'inhibition de leur croissance puis à leur mort (Couquet et *al.*, 2013).

L'acidité : Le pH du miel est acide. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone (forme cyclique de l'acide gluconique) ce qui inhibe le développement de nombreux microorganismes pathogènes. De ce fait, il renforce les propriétés antibactériennes du miel (Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991).

Peroxyde d'hydrogène : il est formé sous l'action de la glucose oxydase qui est secrété par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille. Il empêche le développement des bactéries au sein du miel riche en eau, il possède la capacité de dégrader l'ADN bactérien. En outre le bioxyde d'hydrogène peut être éliminé par la catalase, antagoniste de la glucose oxydase (Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991).

Les inhibines non peroxydes : sont des substances antibactériennes avec différentes origines chimiques, leur rôles est très important car elles sont dans une large mesure insensibles à la chaleur, à la lumière et à la durée de stockage. Elles sont nombreuses telles que les lysozymes, les flavonoïdes et les dérivés phénoliques (Liu et *al.*, 2013). Couquet et *al.* (2013), ont affirmé la présence de methylglyoxal (MGO) et la défensine-1, facteurs antibactériens retrouvés dans le miel.

I-2-6-3 Propriété anti-inflammatoire

Lorsque une agression infectieuse se produit dans l'organisme, aussitôt une réaction de défense se met en place c'est l'inflammation (Hoyet, 2005).

La prolifération des lymphocytes T et B dans le sang ainsi que l'activation des phagocytes est stimulé par le miel à des concentrations de 0,1 %. A une concentration de 1 % le miel peut stimuler les monocytes à sécréter des cytokines (TNF α , IL-1 et IL-6) qui activent la réponse immunitaire contre l'infection (Tonks et *al.*, 2001). Par ailleurs, l'inflammation au sein d'une plaie peut générer des radicaux libres hautement réactifs, et ce en grande quantité. Ces radicaux donnent parfois lieu à des réactions en chaîne susceptibles d'engendrer des altérations au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides.

Les polyphénols contenant dans le miel joueront le rôle d'antioxydants. Parmi eux on trouve les acides phénoliques mais surtout des flavonoïdes qui outre leurs propriétés anti inflammatoire, présentant une forte activité antiradicalaire (Hoyet, 2005).

I-2-6-4 Propriété antioxydante

Dix mille fois par jour, chacune des cellules est attaquée par des composés oxygénés réactifs : les radicaux libres, dangereux pour les cellules. À terme, ces agressions peuvent provoquer le déclenchement d'un infarctus du myocarde (crise cardiaque) ou d'un cancer, la cataracte, des maladies du système nerveux, diabète, vieillissement accéléré (Mouhoubi-Tafinine et *al.*, 2016). Ces radicaux étant présents pratiquement partout, il est impossible de les éviter, même le corps en produit. Ils entrent dans l'organisme par les aliments, l'air, la fumée de cigarette, la pollution et même les médicaments. L'homme est donc exposé à ce que l'on appelle un « stress d'oxydation ».

Les radicaux libres sont constitués d'un électron dit « libre » (Mouhoubi-Tafinine et *al.*, 2016). Ils prennent donc l'électron libre d'autres molécules, c'est ce qu'on appelle l'oxydation, et les transforment à leur tour en radicaux libres. C'est à ce moment là qu'interviennent les antioxydants, ils empêchent l'oxydation des cellules en neutralisant les radicaux libres, évitant ainsi que les membranes cellulaires soient détruites et que les enzymes soient endommagées et par conséquent inefficaces. Ils permettent aux cellules de garder leur intégrité, de préserver leurs gènes et donc de vivre sans dangerosité pour elle-même et les tissus alentours. Les antioxydants sont donc des régulateurs du taux de pro-oxydants dans l'organisme (Ouchemoukh, 2012).

L'activité antioxydante est la capacité et le potentiel du miel pour réduire les réactions oxydatives dans les systèmes de production alimentaire et la santé humaine. Le miel est connu pour être riche en antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, notamment la glucose-oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les flavonoïdes (chrysin, quercétine et kaempférol), et les acides phénoliques (caféique, coumarique et ferulique) (Meda et *al.*, 2005; Ouchemoukh, 2012).

Selon al-Mamary et *al.* (2002), Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces des radicaux pyroxyles à cause de leur structure contenant un anneau aromatique et un groupe hydroxyle. L'action des composés phénoliques est peut être liée à leur capacité de réduire et de chélater l'ion ferrique qui catalyse la peroxydation des lipides.

II-1 Echantillonnage

Six échantillons de miel sont récoltés dans différentes régions de Bejaia et un autre échantillon provient de la wilaya de Tizi Ouzou (Tableau I), ces derniers ne sont soumis à aucun traitement thermique ou à aucune autre opération susceptible d'altérer leurs compositions. Ils sont conservés à la température ambiante jusqu'à leur analyse. La figure 01 représente la photographie des échantillons de miel récoltés.

Tableau I : Présentation des échantillons de miel étudiés.

Miels	Région	Etat	Couleur
M1	Bejaia (Beni Ouartilane)	Très cristallisé	Jaune claire
M2	Bejaia (Toudja)	Liquide	Marron foncé
M3	Bejaia (Amizour)	Semi-cristallisé	Brun
M4	Bejaia (Adekar)	Liquide	Jaune claire
M5	Bejaia (Ait Bimoune)	Cristallisé	Marron foncé
M6	Bejaia (Kherata)	Semi-cristallisé	Jaune claire
M7	Tizi Ouzou	Semi-cristallisé	Marron foncé

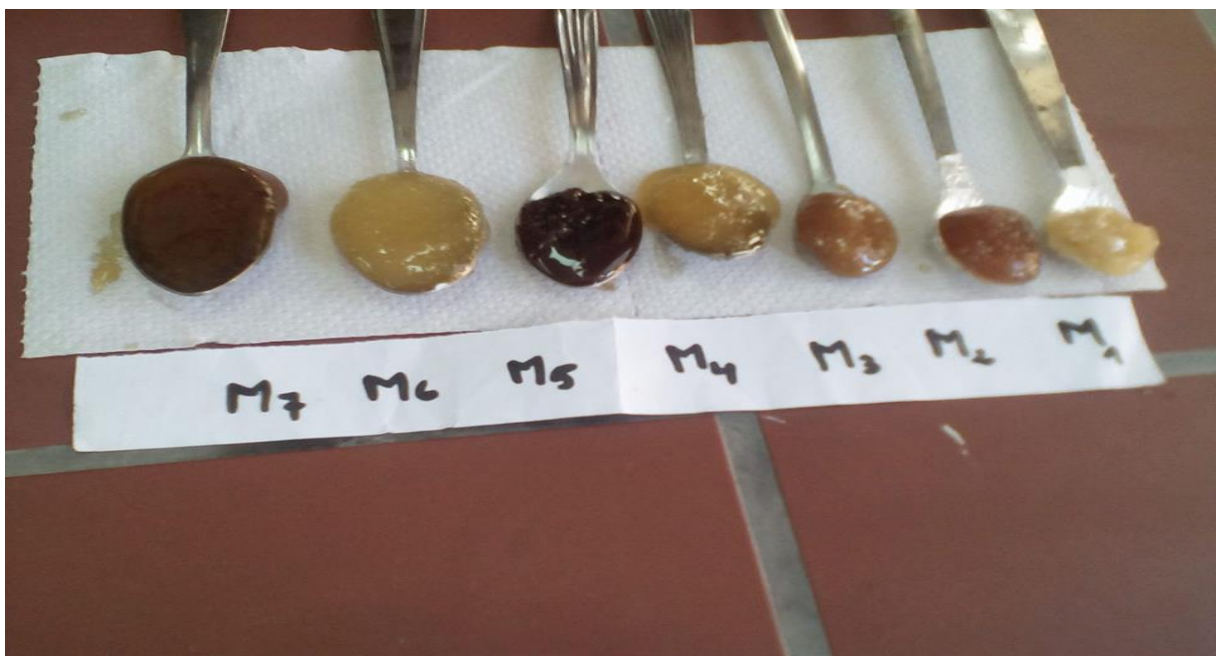


Figure 01 : Photographie des échantillons de miel.

II-2 Méliissopalynologie

La source florale des échantillons de miel est déterminée par l'analyse pollinique. Cette méthode consiste à séparer les grains de pollen de la matière qui les entoure afin de pouvoir observer la morphologie sur une lame microscopique. Selon le Protocole de la commission internationale de botanique apicole (Louveaux et *al.*, 1978), 3 grammes de miel sont dissout dans 12 ml d'eau distillée. La solution est centrifugée a 4500 tours / min pendant 10 minutes. Le surnagent est éliminé et le culot obtenu est rincé à nouveau avec 10 ml d'eau distillée et centrifugé dans les mêmes conditions. 100 μ l de culot récupéré sont étalés sur une lame en verre, séchés, puis inclus dans la gélatine fuchinée et recouvert d'une lamelle. Après solidification, l'examen est fait au microscope photonique (G \times 40) en se référant à une banque de données numériques et bibliographiques du CETAM (Centre d'Etude Technique Apicoles de Moselle, France).

II-3 Analyses physico-chimiques

II-3-1 Humidité et Brix

La détermination de la teneur en eau du miel est basée sur la mesure optique de l'indice de réfraction, selon la méthode au réfractomètre rapporté par Bogdanov et *al.* (1997).

Quelques gouttes de miel liquide sont placées sur la platine du prisme de refractomètre de type ABBE étalonnée préalablement avec de l'eau distillée. L'indice de réfraction ainsi que le pourcentage du brix sont lus à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure. La détermination de la teneur en eau est obtenue par correspondance à la table de CHATAWAY (Annexe I).

II-3-2 pH (potentiel d'hydrogène)

Le pH du miel est déterminé selon la méthode décrite par Bogdanov et *al.* (1997). Une quantité de 2,5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée, après avoir homogénéisé la solution, le pH est lu à l'aide de pH-mètre.

II-3-3 Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique de chaque échantillon du miel est effectuée à l'aide d'un conductimètre selon la méthode de Bogdanov et *al.* (1997). La conductivité électrique est mesurée sur une solution de miel à 20 % de matière sèche. Une masse de

miel équivalente à $M = 5 \times 100 / MS$ (ou MS est la teneur de miel en matière sèche, est dissoute dans de l'eau distillée et le volume est ajusté à 25 ml. La cellule de mesure de conductimètre est introduite dans la solution de miel et la valeur de la conductivité électrique est déterminée directement à partir de l'appareil et les résultats sont exprimés selon cette formule :

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

CE : conductivité électrique.

A : (la valeur mesurée $\times 0.032$) $\times (T^\circ - 20C^\circ)$.

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

0.032 : facteur de correction.

II-3-4 couleur

La détermination de l'intensité de la couleur du miel s'est faite selon la méthode décrite par Bath et Singh (1999). Une masse de 1 g de miel est dissout dans 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation la densité optique est lue avec spectrophotomètre à 450 nm.

II-3-5 Protéine

La méthode utilisée est celle de Bradford (1976). Une solution de miel à 50 % est préparée en introduisant 1 g de miel dans 1 ml de l'eau distillée. Un volume de 100 μ l de chaque solution de miel est homogénéisé avec 5 ml de réactif de Bradford (annexe XI) dans un tube à essai. Après 2 min, le bleu de comassie G250 de couleur vert foncé devient bleu en se fixant aux groupements NH_3^+ des protéines en donnant une couleur bleu et l'absorbance est lue à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage réalisée avec le sérum-albumine bovine (BSA) comme protéine standard (Figure 01, annexe II) permet de déterminer la teneur en protéine, les résultats sont exprimés en mg par 100 g de miel.

II-3-6 Proline

La teneur en proline du miel est déterminée selon la méthode rapportée par Bogdanov et al. (1997). Des tubes des échantillons contiennent 500 μ l de la solution du miel (5 %) dont 1 ml d'acide formique et 1 ml de la ninhydrine (3 %) y sont additionnés. Les tubes standards comportent 500 μ l de la solution de proline. Ces derniers sont transférés au bain marie à 70 °C pendant 10 min après 15 min d'agitation et de chauffage à 100 °C. 5 ml de

2-propanol (50 %) y sont ajoutés. Après 45 min d'incubation les absorbances sont lues à 510 nm.

Les concentrations en proline sont déterminées selon l'équation suivante :

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

Es : Absorbance de la solution d'échantillon.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

E2 : quantité prise du miel en Kg.

80 : Facteur de dilution.

II-3-7 Hydroxymethylfurfural (HMF)

La teneur en HMF du miel est déterminée selon la méthode de Bogdanov et *al.* (1997). Une masse de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. 1 ml de solution de carrez I (solution d'hexacyanoferrate de potassium à 15%) et 1 ml de carrez II (solution d'acétate de zinc à 30%) sont additionnés avec homogénéisation. Le mélange est transféré dans une fiole de 50 ml puis le volume est ajusté avec de l'eau distillée. Après filtration, les premiers 10 ml du filtrat sont écartés. 5 ml du filtrat obtenu sont introduits dans un premier tube à essai puis additionné de 5 ml d'eau distillée (tube d'analyse). Dans un deuxième tube à essai (tube de référence), 5 ml de sodium bisulfate à 0,2 % sont ajoutés à 5 ml du filtrat obtenu. Après agitation, l'absorbance de la solution d'analyse est lue contre celle de la solution de référence à 284 nm et 336 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. La teneur en HMF est calculée selon la formule suivante :

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

A₂₈₄ : Absorbance à 284nm.

A₃₃₆ : Absorbance à 336 nm.

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

149,7 : Constante.

II-3-8 Pouvoir rotatoire

La méthode utilisée est celle de Bogdanov et *al.* (1997). Elle est basée sur la mesure directe par un polarimètre (polaser-S) des solutions aqueuses de miel. Une quantité de 12 g est dissoute dans de l'eau distillée et un volume de 1 ml de la solution d'hexacyanoferrate

de potassium 15 % (Carrez I) et 1 ml de la solution d'acétate de zinc 30 % (Carrez II) y sont additionnés. Le volume est ajusté à 100 ml de l'eau distillée. Après 24 h, les solutions sont filtrées. Le filtrat est versé dans le polarimètre, la valeur affichée sur l'appareil à température de 20 °C est la valeur du pouvoir rotatoire.

II-4 Dosages phyto-chimiques

II-4-1 Composés phénoliques totaux

La méthode de Naithani et *al.* (2006) est utilisée pour déterminer la teneur en composés phénoliques. Cette technique est basée sur la réduction de l'ion phosphomolybdate du réactif de folin-ciocalteu par les composés phénoliques contenant dans le miel. 100 µl d'une solution de miel (0,1 g / ml) sont mélangé avec 100 µl du réactif de folin-ciocalteu dans un tube à essai. Après agitation, 2 ml de la solution de carbonate de sodium (2 %) sont ajoutés. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 750 nm.

La teneur du miel en composés phénolique est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Figure 02, Annexe II). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG / 100 g).

II-4-2 Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué suivant la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium décrite par Al et *al.* (2009). Elle consiste à mélanger 1 ml de la solution du miel (0,5 g / ml) dilué avec 4 ml de l'eau distillée, accompagné de 0,3 ml de la solution de nitrite de sodium (NaNO_2 , 5 %). Après 5 min, un volume de 0,3 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10 %) est ajouté. 6 min plus tard, 2 ml de la solution hydroxyde de sodium (NaOH , 1M) y sont additionnés. Par la suite l'absorbance du mélange est lue à 510 nm.

La catéchine est utilisée comme standard pour réaliser la courbe d'étalonnage qui a permis de quantifier les flavonoïdes (Figure 03, annexe II). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent catéchine par 100 g de miel (mg EC / 100 g).

II-5 Etude de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des miels est déterminée selon deux méthodes, la première consiste à estimer le pouvoir antiradicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation des radicaux libres (DPPH et ABTS) par les extraits de miel et la deuxième sert à évaluer le pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques.

II-5-1 Activités antiradicalaires

II-5-1-1 Activité anti ABTS⁺ (acide 2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfunique)

L'activité antiradicalaire des différents échantillons de miel est estimée à partir de leurs capacités à inhiber le radical cationique ABTS⁺ qui est formé par l'oxydation de l'ABTS incolore avec le persulfate de potassium conduisant à l'arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS formant ainsi une solution de couleur bleu-vert (Re et al., 1999). La présence des donneurs d'électrons réduit le radical ABTS⁺ en un radical ABTS incolore d'où la décoloration de la solution et le maximum d'absorbance est à 734 nm.

Le test ABTS est effectué suivant la méthode rapportée par (Re et al., 1999). Un volume de 0,1 ml de la solution aqueuse de miel (0,025 g / ml) est ajouté à 1 ml de la solution ABTS (7 mM) (Annexe XI). Après 7 min d'incubation, l'absorbance est lue à 734 nm. La différence d'absorbance entre la solution d'ABTS en présence et en absence de l'échantillon reflète le potentiel des composés responsables de cette activité à réduire ce radical. Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante:

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

Abs_c: Absorbance du contrôle (1 ml de solution ABTS + 100 µl d'éthanol).

Abs_e: Absorbance de l'échantillon.

II-5-1-2 Activité anti DPPH (2,2-diphenyl-1-picryldehydrazyl)

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH, Ce dernier est un radical libre stable grâce à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule ce qui empêche la polymérisation et favorise le développement d'une couleur violette foncée (Figure 02). La présence des agents antioxydants entraîne la

libération d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence d'un groupement picryl et l'absorbance est lue à 517 nm (Doukani et *al.*, 2014).

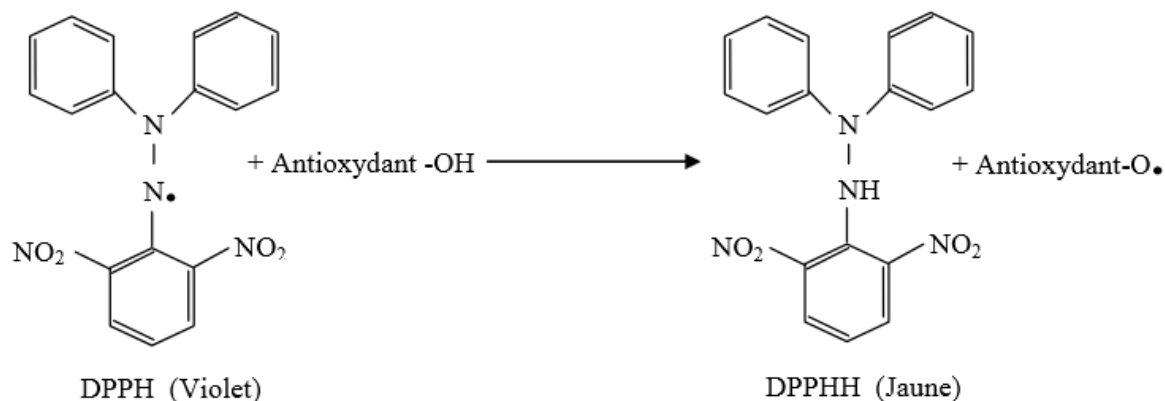


Figure 02 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi et *al.*, 2015).

L'évaluation de l'activité antiradicalaire via le radical DPPH est réalisée selon la méthode décrite par (Meda et *al.*, 2005). Un volume de 500 μ l de la solution de miel (0.025 g / ml) est mélangé avec 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH ($6 \cdot 10^{-5}$ M). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15 min. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1 ml de la solution de DPPH et 500 μ l de méthanol.

La diminution de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

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

Abs_t : Absorbance de témoin.

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

II-5-2 Activité réductrice

II-5-2-1 Activité chélatrice de fer (FRAP)

Le test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) est l'une des analyses les plus largement citées pour évaluer la capacité antioxydante. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des échantillons de miel testés à réduire le complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-triazine (TPTZ-Fe³⁺) en forme ferreux (TPTZ-Fe²⁺) de couleur bleu-violet dont le maximum d'absorbance est à 593 nm (Alvarez-Suarez et *al.*, 2010).

Un volume de 500 µl de la solution de miel (2,5 %) est mélangé avec 750 µl de la solution de FRAP (Annexe XI), la lecture de l'absorbance est faite à 593 nm après 5 min d'incubation à 37 °C. Les résultats sont exprimé en mg EAG / 100 g (Figure 03, annexe II).

II-5-2-2 Pouvoir réducteur

En présence de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$], les antioxydants réduisent le Fe^{3+} en Fer ferreux Fe^{2+} . La forme réduite donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Canadanovic-Brunet et *al.*, 2014).

L'étude du pouvoir réducteur du miel est réalisée selon le Protocole rapporté par Li et Lin (2010). Un volume de 500 µl de la solution de miel (0,05 g / ml) est additionné de 500 µl du tampon phosphate (PH = 6,6 ; 0,2 M) (Annexe XI) et 500 µl d'hexacyanoferrate de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%. Après 20 min d'incubation au bain marie à 50 °C, 500 µl de la solution d'acide trichloroacétique (10 %) sont ajoutés. Ensuite, 500 µl du mélange est transféré dans un tube à essai et additionné de 800 µl d'eau distillée et 100 µl de la solution de chlorure ferrique $FeCl_3$ (0,1 %). L'absorbance est mesurée à 700 nm après 10 min. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g d'extrait (mg EAG / 100 g) (Figure 05, annexe II).

II-6 Etude de l'Activité antibactérienne

Les échantillons de miel sont examinés pour leurs pouvoir antibactérien *in vitro* selon deux techniques l'une est la diffusion en gélose en testant le profil de sensibilité dans un milieu solide, la seconde est la méthode de micro-dilution en milieu liquide dans le but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) comme évoqué par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), sur 2 souches bactériennes de référence à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 2592 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, et une souche a Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II-6-1 Méthode de diffusion en gélose

Selon la recommandation de CLSI (document M02-A12) L'activité antibactérienne est réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur disques de papier filtre.

Les différentes souches sont repiquées par la méthode des stries, puis incubée à 37 °C pendant 18 à 24 h afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées, qui servent par la

suite à préparer l'inoculum en les trempant dans des tubes de solution d'eau physiologique stérile (0,9 %) afin d'avoir une densité cellulaire initiale d'environ 10^7 bactéries / ml voisine à celle de 0,5McFarland.

L'ensemencement des bactéries est effectué sur le milieu Muller-Hinton gélosé (Annexe XI) dans des boîtes de pétri par écouvillonnage avec la suspension préparée.

Dans des conditions aseptiques, des disques en papier absorbant de whatman de 6 mm de diamètre stérilisés à l'autoclave (121 °C pendant 15 min) sont déposés fermement à la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince, ces derniers sont imprégnés de 20 µl de chaque solution de miel, le nombre de disque déposés par boîte est 3 de fait du chevauchement des interfaces des zones d'inhibition, l'un est pour le témoin négatif fait de l'eau distillée stérile et les 2 autres disques pour les échantillons de miel, par la suite les boîtes de pétrie sont incubées à 37 °C pendant 24 h, la mesure de diamètre des zones d'inhibition s'est faite à l'aide d'une règle. Les manipulations sont répétées 3 fois pour chaque test.

II-6-2 Technique de micro-dilution en milieu liquide

La détermination de la CMI est effectuée selon la méthode de microdilution sur plaque recommandée par le CLSI (document M07-A10).

Cinq dilution de gradient 2 de chaque solution de miel sont réalisées à partir d'une solution mère 1 g / 1 ml (Tableau II) les bactéries sont mises en suspension dans un bouillon Muller-Hinton après 18 - 24 h de culture sur un milieu gélosé, chaque puits de la microplaque reçoit 20 µl de chaque série de dilution des différents échantillons et 80 µl de la suspension. Le témoin négatif comporte de l'eau distillée stérile et la suspension. Les CMI sont déterminées après 24 h d'incubation à 37 °C.

Tableau II : Séries de dilution de chaque solution de miel.

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

II-7 Analyse statistique

Le programme Microsoft Office Excel 2007 est utilisé pour calculer les moyennes et les écarts types des résultats obtenus sachant que ces derniers sont la moyenne de 3 essais à l'exception de l'humidité et du pouvoir rotatoire (2 essais).

L'étude de la variance à un seul critère de classification entre les différents échantillons de miel est réalisée par le logiciel STATISTICA version 7.1. Les corrélations entre les différents paramètres étudiés sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation.

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

Grace à ce logiciel, les données collectées sont traités en utilisant une combinaison de méthodes statistiques. L'approche basée sur l'utilisation de l'analyse en composante principales (ACP).

III-1 Analyse pollinique

La méliissopalynologie est une science qui se propose de déterminer l'origine géographique et botanique du miel, c'est une étude qualitative et quantitative des éléments figurés présents dans le miel. Selon les recommandations de Louveaux et *al.* (1978), les pollens identifiés sont classés selon leur fréquence pollinique dans les catégories suivantes : pollen dominant (>45 %) ; pollen accompagnement (16 - 45 %) ; pollen minoritaire (3 - 15 %) ; pollen très minoritaire (< 3%).

Les résultats des analyses polliniques récapitulés dans le tableau III révèlent que 5 miels sont des miels polyfloraux (M1, M3, M4, M6 et M7), Ces échantillons renferment des pollens d'accompagnement dont la famille de *Fabaceae* est présente dans tous les miels, ainsi que *Bracecaceae* dans les miels M1 et M4 ; *Rhamnaceae* dans le M3 et M7, enfin *Rosaceae* et *Apiaceae* dans la variété 6.

L'analyse pollinique montre aussi l'existence de 2 miels monofloraux dont le pollen dominant de *Fabaceae* est trouvé dans le M2 et *Asteraceae* dans le M5. Ouchemoukh et *al.* (2007) et Makhloufi et *al.* (2010) ont aussi montré l'existence des miels monofloraux dans le nord algérien. En outre Chefour et *al.* (2009) ont démontré que les familles les plus réponsus sont *Asteraceae*, *Rosaceae* et *Apiaceae* dans certains miels algériens.

Autres études ont révélé l'existence de plusieurs autres grains de pollen qui sont absent dans les miels analysés comme *Hypoestes* qui est présent dans les miels du l'Ethiopie rapporté par Belay et *al.* (2015) ce qui confirme l'origine géographique et botanique.

La famille botanique de *Fabaceae* est présente dans tous les miels analysés, cela confirme la richesse de la région en cette famille de plantes.

La richesse du miel en pollen dépend essentiellement des conditions climatiques, du rapport plante-abeille, de la disponibilité et le diamètre du pollen, de la force de la colonie d'abeilles, de la localisation de la ruche, de la saison et du mode d'extraction du miel (Makhloufi et *al.*, 2010).

III-2 Analyses physico-chimiques

III-2-1 Humidité

L'humidité du miel est l'une des données les plus importantes à connaître car elle détermine sa qualité d'après sa cristallisation et sa fermentation (Moniruzzaman et *al.*, 2014). Un miel de bonne qualité doit avoir un taux d'humidité faible.

La teneur en eau des échantillons de miel analysés varie de $12,44 \pm 0,24$ (M7) à $19,96 \pm 0,16$ (M5) ce qui correspond respectivement à des indices de réfraction de 1,5058 à 1,4866. Ces valeurs obtenues sont inférieures à la limite maximale fixée par le codex Alimentaire (2001), à savoir 20 %, au-dessus de seuil, le miel risque de se fermenter rapidement ou de mal cristalliser. Cela indique que les échantillons de miel analysés sont révélés d'un bon stockage, d'une bonne maturation et d'un très faible risque de fermentation.

Les humidités obtenues sont en accord avec la gamme des résultats rapportés par Habib et *al.* (2014) (13,63 à 20,60), Makhloufi et *al.* (2010) (13,9 à 20,2). Et Moniruzzaman et *al.* (2013) (11,59 à 19,06).

D'après Fallico et *al.* (2004), un miel de qualité contient une humidité qui ne dépasse pas 18 %. Tous les miels analysés présentent un faible risque de fermentation, à l'exception le M5 qui dépasse légèrement 18 %, cet échantillon peut donc se fermenter car c'est un miel monofloral, provient d'une région froide (Ait Bimoune) a l'humidité la plus élevée (19,96).

Pour le miel polyfloral (M7) d'origine Tizi Ouzou, présente une humidité la plus faible $12,44 \pm 0,24$, et diffère significativement de celle des autres miels. Ce dernier assure sa capacité à résister à la fermentation quel que soit le nombre de levure présentes dans le miel assurant ainsi sa meilleure qualité pour une longue durée de stockage.

L'analyse de la variance des miels démontre une différence significative ($p < 0,05$) entre les échantillons M2, M3, M4, M5 et M7, cependant le M1 et M6 n'enregistrent aucune différence significative.

Les variations d'humidité des miels analysés peuvent être due à l'origine florale (la teneur en eau de nectar et/ou de miellat), à la force des colonies d'abeilles, à la méthode de récolte et aux conditions environnementales (Ouchemoukh, 2012).

III-2-2 Brix

Le brix est l'un des paramètres physico-chimique du miel, il est calculé dans le but d'estimer le taux des glucides que les miels possèdent.

Les valeurs de la matière sèche des miels étudiés sont comprises entre 78,42 (M5) et 93,4 (M6) avec une moyenne de $83,87 \pm 0,56$. Ces valeurs sont dans la fourchette fixée par le Codex Alimentarius (2001), cela confirme la pureté des échantillons de miel analysés. Ces résultats concordent avec les valeurs obtenues par Habib et *al.* (2014) (79 à 84,10 %), et distincts de ceux rapportés par Moniruzzaman et *al.* (2013) (55,33 à 64,93).

La faible teneur en matière sèche des miels étudiés peut être due à la conversion des sucres en acides inorganiques ou la conversion du glucose en acides gluconiques (Moniruzzaman et *al.*, 2013).

III-2-3 pH

Le pH des échantillons de miel analysés varie de $3,46 \pm 0,03$ (M6) à $4,80 \pm 0,16$ (M7). Ces valeurs sont similaires avec celles de la recommandation du Codex Alimentarius (2001). Ce qui confirme le caractère acide de ces miels.

Les résultats obtenus sont conformes avec ceux représentés par Belay et *al.* (2013) qui ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5, par contre ceux provenant de miellat sont compris entre 5 et 5,5.

La plupart des miels analysés sont acides ($\text{pH} < 4,5$), excepté le miel (M7) dont le pH est de 4,80, cet échantillon peut être un mélange de miel de nectar et de miellat.

Les valeurs de pH obtenus sont en accord avec les pH des miels algériens rapportés par Ouchemoukh et *al.* (2007) (3,49 - 4,43), elles sont également similaire à celles rapportées pour d'autres échantillons de miels provenant de l'Inde (3,70 - 4,40) et de Maroc (3,69 - 4,67) obtenus par Saxena et *al.* (2010) et Bettar et *al.* (2015), respectivement. Cela confirme que l'acidité n'est pas lié à l'origine géographique.

Les miels étudiés présentent une différence significative, ils sont classés selon l'ordre décroissant suivant : $M7 > M1 > M5 > M3 = M2 > M4 = M6$.

La variation de pH est due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (Doukani et *al.*, 2014).

III-2-4 Conductivité électrique

Les miels conduisent l'électricité car ils renferment les molécules ionisables, cette propriété représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel que ça soit issu du nectar ou de miellat. Les miels de nectar doivent avoir des valeurs inférieures à 0,8 mS / cm, des valeurs plus élevées sont généralement associés aux miels de miellat et les valeurs médianes correspondent à des mélanges de deux origines (Doukani et *al.*, 2014). Cependant, la conductivité électrique seule ne suffit pas à une appellation florale.

La conductivité électrique des miels analysés oscillent entre $0,26 \pm 0$ mS / cm (M6) à $0,99 \pm 0,04$ mS / cm (M2). Tous les échantillons mesurés ont une conductivité électrique au-dessous de la limite préconisée (0,8 mS / cm), ce qui suggère que les miels sont probablement issus du nectar, excepté le M2 qui est peut être à l'origine d'un mélange de nectar et de miellat vu que sa conductivité électrique dépasse légèrement 0,8 mS / cm.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Ouchemoukh (2012) (0,21 à 0,89 mS / cm), différent de ceux obtenus par Habib et *al.* (2014) (0,15 à 0,69 mS / cm) et Lazarević et *al.* (2012) (0,16 à 0,64 mS / cm).

Le miel monofloral de *fabaceae* (M2) est le meilleur conducteur du courant électrique comparativement à d'autres variétés de miel.

Les échantillons présentent une différence hautement significative ($p < 0,01$) dans leur conductivités, Ils sont classés comme suit : $M2 > M3 > M7 > M5 > M4 > M1 > M6$.

Les différentes conductivités électriques des miels étudiés peuvent s'expliquer par la variabilité de l'origine botanique et de la composition chimique (teneur en minéraux, protéines et autres substances ionisables) de ces miels (Ouchemoukh, 2012).

III-2-5 Couleur

La couleur est une caractéristique sensorielle primordiale des miels qui détermine le choix du consommateur, ils ont tendance à choisir les miels foncés et non pas les miels

clairs, cette caractéristique dépend de l'origine de produit. D'après les ouvrages, les miels de couleur sombre possèdent des propriétés biologiques plus importantes que les miels de couleur claire (Amiot et *al.*, 1989).

La couleur des miels étudiés varie du jaune clair au marron foncé. Les résultats obtenus pour ce paramètre enregistrent une coloration allant de $0,42 \pm 0,05$ (M6) à $1,70 \pm 0,06$ (M5) avec une moyenne de $1,05 \pm 0,05$. Ces derniers sont dans l'intervalle des valeurs rapportées par Serem et Bester (2012) (0,320 à 2,160) pour des miels d'Afrique du sud.

Ces variations significatives peuvent être expliquées par la différence de l'origine botanique, la teneur en minéraux, ainsi qu'à d'autres substances telles que les caroténoïdes, polyphénols et les flavonoïdes qui sont également connus pour leurs propriétés antioxydantes.

Les miels M2, M3 et M7 qui ne présentent aucune différence significative, possèdent une couleur sombre ceci peut être interprété comme un indice fort de la présence des pigments et à la diversité florale des régions (M3 et M7) et même la richesse en composition chimique. Les miels polyfloraux (M6 et M4) de couleur jaune clair ne présentent aucune différence significative, ceci peut être expliqué que ces miels appartiennent aux régions pauvre en végétation riche en pigments, cela confirme que la couleur est étroitement liée à l'origine botanique.

Ouchemoukh et *al.* (2007) ont signalé que la couleur est liée à la teneur en polyphénols de miel, en minéraux ainsi que les acides, plus un miel est de couleur foncé, plus il est riche en ces composés.

Cette couleur change généralement avec le temps de conservation. Ce changement peut être due au contact avec des métaux et l'exposition soit à des températures élevées ou à la lumière d'où le déroulement des réactions d'oxydations (Moniruzzaman et *al.*, 2013; Doukani et *al.*, 2014).

III-2-6-Protéine

Le dosage des protéines de miel est un caractère qui ne figure pas dans les normes internationales. Cependant, leur richesse donne une valeur nutritionnelle aux miels.

Les échantillons de miel analysés présentent des teneurs en protéine allant de 18,28 (M6) à 44,97 (M3) mg EBSA / 100 g avec une moyenne de $27,84 \pm 1,58$ mg EBSA / 100 g.

Ces valeurs sont dans la fourchette fixée par Alvarez-Suarez et *al.* (2010) sur les miels de Cuba (12 - 92,3 mg EBSA / 100 g), cet intervalle de valeurs est distinct de celui rapporté par Chefour et *al.* (2009) (220 – 960 mg / 100 g) sur les miels algériens.

Le miel (M3) polyfloral provenant d'Amizour est le plus riche en protéine, ce qui peut être expliqué par la richesse du miel en pollen qui lui confère une valeur nutritionnelle élevée, cette teneur diffère significativement de celle des autres miels. Le M2, M3 et M5 sont significativement distincts, exception est faite pour les échantillons polyfloraux M6 et M4 de couleur jaune claire qui possèdent des teneurs en protéines similaire.

Ces différences observées peuvent être référées à l'origine botanique, au type de pollen, la présence des enzymes introduites par les abeilles à partir du nectar pendant le processus de maturation du miel (Alvarez-Suarez et *al.*, 2010; Habib et *al.*, 2014).

Il a été démontré que la richesse en protéine essentiellement en peptones, albumines, globulines et nucléoprotéines provenaient de la plante et/ou de l'abeille (Amri et *al.*, 2007).

III-2-7 Proline

La proline est l'acide aminé libre le plus abondant dans le miel, il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière, durant la conversion du nectar et/ou du miellat en miel. Il tire son origine du pollen que l'abeille butine (Ouchemoukh et *al.*, 2007). La détermination de la teneur en proline donne des informations sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications (Amri et *al.*, 2007).

Les concentrations en proline dans des différents miels analysés sont comprises entre 270,08 (M2) à 545,71 (M6) avec une moyenne de $363,56 \pm 23,09$ mg / kg, ces valeurs sont au-dessus de la valeur recommandée par Bogdanov et *al.* (1997) (180 mg / kg), limite minimale pour les miels authentiques. Ce qui affirme que ces miels sont mûrs et ils ne sont pas adultérés.

La variété 6 présente le taux de proline le plus élevé 545,71 mg / kg qui diffère significativement de celles des autres variétés. Il n'existe pas de différence significative dans la concentration en proline entre les 3 miels de Bejaia (Ait Bimoune M5, Amizour M3 et Adekar M4) et celui de Tizi Ouzou (M7).

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Kropf et *al.* (2010) sur quelques miel de Slovénie (265 à 552 mg / kg), proches de ceux rapportés par

Ouchemoukh et *al.* (2007) sur les miels algériens (202 à 680 mg / kg) et différent de ceux obtenus par Meda et *al.* (2005) sur les miels de Burkina Faso (437,8 à 2169,4 mg / kg), ceci peut être due à la différence de l'origine botanique et à la force de la colonie d'abeille.

III-2-8 HMF

HMF est un composé chimique issu de la dégradation du fructose qui apparaît lors du vieillissement ou du chauffage des miels, critère important utilisé comme paramètre de fraîcheur, d'autant que l'HMF est absent dans les miels frais, mais sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH et la température (Bath et Singh, 1999).

L'analyse spectrométrique des échantillons de miel révèle des teneurs en HMF qui sont situées entre $10,03 \pm 2,75$ (M3) et $78,59 \pm 2,56$ mg / kg (M7) avec une moyenne de $22,81 \pm 1,37$ mg / kg. L'échantillon M5 n'a pas été testé pour cause d'une quantité insuffisante.

Les résultats obtenus pour ce paramètre montrent que les échantillons M1, M2, M3, M4 et M6 sont des miels frais vu que leur teneur en HMF sont conformes à la norme exigée par le Codex Alimentarius (2001), qui est de 40 mg / kg.

Le M7 présente une valeur en HMF supérieur à la norme, ceci pourrait s'expliquer par une détérioration due au stockage dans des mauvaises conditions ou à la chaleur. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Habib et *al.* (2014) (0,17 - 79,26 mg / kg) et Bettar et *al.* (2015) (0,75 à 85,48 mg / kg) et distincts de ceux obtenus par Bath et Singh (1999) (12,33 à 44,5 mg / kg).

Les miels polyfloraux M1, M3 et M6 ne présentent aucune différence significative dans leur teneur en HMF.

Le pH, la source florale, la température, le temps du chauffage et les conditions du stockage sont des facteurs influençant le taux d'HMF (Habib et *al.*, 2014). D'après Ouchemoukh (2012), la formation d'HMF est d'autant plus rapide que les miels sont plus acides. Une telle relation est obtenue dans cette étude entre la teneur en HMF et le pH avec une corrélation très hautement significative ($r = 0,80$).

III-2-9 Pouvoir rotatoire

En raison de la fraction de masse élevée en fructose, le miel de nectar tourne l'angle de lumière polarisée vers la gauche (lévogyre), d'une part ; d'autre part, en raison de la

fraction de masse plus élevée d'oligosaccharide, le miel de miellat tourne l'angle de lumière polarisée vers la droite (dextrogyre). La mesure de la rotation optique est employée pour distinguer le miel de nectar et le miel de miellat (Lazarević et *al.*, 2012).

Le pouvoir rotatoire est testé sur tous les échantillons appart le M1 et le M5 à cause d'une quantité insuffisante. Tous les miels analysés sont lévogyres, les résultats du pouvoir rotatoire des échantillons varient de $-8,07 \pm 0,05$ (M4) à $-3,81 \pm 0,05$ (M3) (tableau IV) ce qui suggère que ces miels sont issus de nectar.

Le miel de Tizi Ouzou (M7) possède un pouvoir rotatoire lévogyre, diffère de celui rapporté par Ouchemoukh (2012) sur un miel de la même région. Le miel d'Adekar est aussi très lévogyre par rapport aux autres miels.

Tableau IV : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons	Pouvoir rotatoire
M1	/
M2	$-5,84 \pm 0,14$
M3	$-3,81 \pm 0,05$
M4	$-8,07 \pm 0,05$
M5	/
M6	$-6,37 \pm 0,01$
M7	$-4,85 \pm 0,10$

III-3 Analyses phyto-chimiques

III-3-1 Composés phénoliques totaux

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

Les résultats obtenus montrent que la concentration en polyphénols enregistrée dans les miels analysés varient considérablement de $54,94 \pm 2,86$ (M4) à $146,23 \pm 3,59$ mg d'EAG / 100 g de miel (M5) avec une moyenne de $103,51 \pm 4,90$. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Al-Mamary et *al.* (2002) sur les miels de Yémen ($56,32 - 246,21$ mg EAG / 100 g), différent de ceux obtenus par Perna et *al.* (2013) ($10,65-15,05$ mg EAG / 100 g) et Doukani et *al.* (2014) ($166,11$ à $427,14$ mg EAG / 100 g).

Généralement la concentration en composés phénoliques des miels clairs est inférieure à celle des miels foncés (Berreta et al., 2005). En effet, ceci est constaté dans la présente étude, les valeurs les plus faibles sont enregistrées dans les miels clairs (M1, M4 et M6) et les plus fortes concentrations de polyphénols sont établies pour les miels sombres (M2, M3, M5 et M7). Les deux échantillons M2 et M7 ne présentent aucune différence significative mais aussi M2 et M3.

La teneur en phénols totaux des miels polyfloraux varie de 54,94 à 128,92 mg EAG / 100 g de miel avec une moyenne de $91,58 \pm 5,84$ mg EAG / 100 g. Ces valeurs se distinguent de celles de Meda et al. (2005) (32,59 à 93,66 mg EAG / 100 g). Les deux miels monofloraux étudiés ont un taux en polyphénols de 120,42 (M2, *Fabaceae*) et 146,23 mg EAG / 100 g de miel (M5, *Asteraceae*). Ces teneurs sont différentes de celles d'Alvarez-Suarez et al. (2010) (213,9 à 595,8 mg EAG / kg).

Les miels multifloraux (M1, M3, M4, M6 et M7) présentent des teneurs en polyphénols différentes malgré leur contenance en pollen d'accompagnement de *Fabaceae* (22 %, 31 %, 25 %, 22 % et 23 % respectivement). Ceci peut être expliqué par la quantité et la qualité des pollens mineurs existants. Ces miels polyfloraux montrent une différence significative.

Les résultats obtenus soulignent des teneurs très variables en composés phénoliques totaux des miels suivant leur origine, qui se traduisent par des différences marquées de leur couleur. Cette composition dépend de la source végétale, de la zone géographique et même des facteurs saisonnière et environnementaux (Bath et Singh, 1999; Habib et al., 2014).

III-3-2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés à faible poids moléculaires responsable de l'arôme et du potentiel antioxydant du miel (Mouniruzzaman et al., 2014).

Le taux de flavonoïdes des miels analysés indique un intervalle allant de $10,79 \pm 2,07$ (M1) à $60,05 \pm 3,55$ mg EC / 100 g (M5) avec une moyenne de $31,64 \pm 2,15$ mg EC / 100g. Ces résultats obtenus sont distincts de ceux d'Escuredo et al. (2013) (4,3 à 9,6 mg EC / 100 g), et Mouhoubi-Tafinine et al. (2016) (2,07 à 10,15 mg / 100 g).

L'échantillon du miel d'Ait Bimoune (M5) est le plus riche en flavonoïdes, il présente une teneur qui diffère significativement de celle des autres miels, tandis que l'échantillon de Beni Ourtilane (M1) enregistre la valeur la plus faible.

Les échantillons de miel qui ont enregistré des teneurs élevées en polyphénols totaux ont montré également des teneurs élevées en flavonoïdes totaux. Ceci est normal car ces derniers sont des dérivés des polyphénols.

III-4 Etude de l'activité antioxydante

III-4-1 Activité antiradicalaire par ABTS

Activité antiradicalaire par ABTS est une méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique ABTS⁺ et le réduire en sa forme neutre ABTS (Isla et *al.*, 2011).

L'activité antiradicalaire des différents échantillons de miels analysés est comprise entre 16,90 (M4) et 90,23 % (M2). Ces résultats sont distincts de ceux obtenus par Isla et *al.* (2011) et Bueno-Costa et *al.* (2016) 40 à 80 % et 8,24 à 111,48 %, respectivement.

Les miels analysés montrent une moyenne de $40,91 \pm 6,50$ % qui est différente de celle trouvée par Perna et *al.* (2013) ($59,17 \pm 1,69$ %) des miels italiens. Cette différence est due probablement à la diversification végétale entre l'Algérie et l'Italie donc une composition chimique différente.

L'échantillon du miel d'Adekar (M4) présente la plus faible activité antiradicalaire ($16,90 \pm 3,98$ %), ceci est probablement due à sa teneur faible en composé phénolique, Néanmoins le miel monofleur (*Fabaceae*, M2) indique la plus forte capacité antioxydante ($90,23 \pm 1,09$ %) qui distingue significativement par rapport aux autres miels, témoignant de ce fait du contraire concernant sa teneur en composés antioxydants.

La variation de l'activité antioxydante est due à la quantité des composés phénoliques présents dans le miel. En outre Al-Mamary et *al.* (2002) ont signalé que la plus grande influence sur l'activité antioxydante du miel est accordée à son origine botanique.

III-4-2 Activité antiradicalaire par DPPH

L'activité antiradicalaire est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 517 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donateurs d'hydrogènes présents dans l'échantillon (Doukani et *al.*, 2014).

Le pourcentage d'inhibition des échantillons de miels analysés varient entre 18,93 (M1) et 82,55 % (M2). Cet intervalle de valeurs est différent de celui signalé par Doukani et *al.* (2014) (3,42 - 22,06 %). Les miels polyfloraux analysés enregistrent une moyenne de $45,51 \pm 1,14$ %, cette dernière est différente de celle trouvée par Ouchemoukh (2012) ($25,33 \pm 18,5$ %).

L'échantillon du miel monfleur M2 révèle une intéressante activité antioxydante (82,55 %) qui diffère significativement en comparaison avec d'autres miels, ceci est probablement dû à la contenance de la plus grande quantité de composés accepteurs de radicaux libres et le plus grand potentiel antioxydant. Par contre un faible pourcentage d'inhibition caractérise le miel multifleur M1 (18,93 %).

Selon Beretta et *al.* (2005), Le potentiel antioxydant du miel est proportionnel avec la teneur en polyphénols présents, ce qui peut expliquer que le piégeage des radicaux élevés peut être dû à son contenu en composés phénoliques. Ils ont aussi constaté plusieurs composés contribuant à la capacité antioxydante des miels tels que les acides aminés, acide ascorbique, acides organiques et les enzymes (Bath et Singh, 1999). Par ailleurs la quantité de ces composés varie largement en fonction de l'origine florale et géographique du miel (Doukani et *al.*, 2014).

III-4-3 Activité chélatrice de fer

Est un test simple employé couramment pour déterminer la capacité antioxydante du miel. Le principe consiste à la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique en fer ferreux (Fe^{3+} / Fe^{2+}) (Moniruzzaman et *al.*, 2013).

Les résultats obtenus montrent que la capacité de réduire le fer varie considérablement entre les échantillons analysés et oscille entre $22,79 \pm 4,23$ (M6) et $193,56 \pm 5,26$ mg EAG / 100 g (M5) avec une moyenne de $86,84 \pm 7,03$. Ces valeurs sont incluses dans l'intervalle rapporté par Doukani et *al.* (2014) (8,3-240 mg EAA / 100 g).

Le miel M5 présente la capacité réductrice la plus importante $193,56$ mg EAG / 100 g qui se distingue significativement par rapport à celles des autres miels, ce qui indique sa grande réduction du fer ferrique en fer ferreux et son puissant potentiel antioxydant, ceci est probablement due à sa teneur élevée en composés phénoliques. Le miel M6 indique la plus faible activité $22,79$ mg EAG / 100 g, il est significativement différent par rapport aux

autres échantillons, témoignant ainsi sa faible capacité antioxydante d'où la confirmation de la non richesse en phénols pour ce miel.

Les miels M2, M3 et M7 présentent une faible capacité réductrice malgré leur teneur élevée en composés phénoliques et n'enregistrent pas de différences significatives entre eux. Cette faible capacité antioxydante est probablement due à leurs compositions chimiques essentiellement en leur teneur en proline.

Bien que la plupart des activités antioxydantes proviennent de différents composés phénoliques, l'activité antioxydante n'est pas toujours en corrélation avec la présence de grandes quantités de ces composés phénoliques (Bravo, 1998; Cai *et al.*, 2004) et selon Al *et al.* (2009) et Ferreira *et al.* (2009), les antioxydants présents dans le miel peuvent être enzymatiques (catalase, glucose oxydase) ou non enzymatiques (caroténoïdes, acides aminés, protéines, acides organiques et composés phénoliques).

III-4-4 Pouvoir réducteur

Tous les échantillons analysés ont la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en Fer ferreux (Fe^{2+}). L'analyse des résultats enregistre un pouvoir réducteur allant de $36,14 \pm 0,88$ (M1) à $47,74 \pm 4,40$ mg EAG / 100 g (M7) avec une moyenne de $40,68 \pm 2,36$ mg EAG / 100 g.

Les miels M3 et M5 ont la même capacité réductrice ($p < 0,05$) : 40,92 et 39,18, respectivement, et ceci peut être expliqué par leur teneur semblables en polyphénols.

Les échantillons M1, M2, M3, M4 et M5 ne révèlent aucune différence significative dans leur capacité à réduire le fer.

La capacité réductrice élevée pour le miel de Kheratta (M6) n'est pas due qu'à sa teneur élevée en composés phénoliques totaux, cette forte activité revient probablement à sa richesse en proline.

Les résultats obtenus dans cette présente étude sont distincts de ceux rapportés par Canadanovic-Brunet *et al.* (2014) (39,06 à 120 mg EAG / 100 g).

III-5 Etude de l'activité antibactérienne

III-5-1 Test de sensibilité en milieu solide

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne est basée sur la mesure des diamètres en (mm) des zones d'inhibition selon le degré de sensibilité des germes utilisés aux miels, en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par Ponce et al. (2003), à savoir des souches extrêmement sensibles, très sensibles, sensibles et résistantes (Tableau II, annexe XIII).

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les 3 souches bactériennes sont affectées par les différents miels (Tableau I, Annexe XIII). Ces diamètres varient de $15,67 \pm 5,51$ (M3) à $27,00 \pm 3,00$ mm (M7) pour *S. aureus*, de $10,33 \pm 1,15$ (M6) à $12,67 \pm 2,08$ mm (M1) pour *K. pneumoniae* et de 0,00 (M3 et M7) à $10,67 \pm 1,53$ mm (M1) pour *E. coli*. Ces résultats sont différents de ceux mesurés par Voidarou et al. (2011) sur *S. aureus* (0,9 à 12,88 mm).

La comparaison des moyennes démontre que la souche *S. aureus* (22,29 mm) est la plus sensible à l'effet des échantillons de miels analysés, *K. pneumoniae* (11,76 mm) est moyennement sensible tandis que *E. coli* (6,52 mm) est faiblement sensible et parfois résistante (M3, M7). Ceci peut être expliqué par les différents mécanismes de résistance des bactéries en relation avec la morphologie et la structure des parois des cellules bactériennes puisque les échantillons possèdent un effet inhibiteur sur la bactérie Gram+ et moindre sur les bactéries Gram- d'une part et de la composition de miel lui-même d'autre part.

Les miels M5 et M7 riches en polyphénols totaux montrent une forte activité antibactérienne, ils ne présentent aucune différence significative pour *S. aureus* et *K. Pneumoniae*, par contre le Miel (M1) qui est pauvre en flavonoïdes possède un grand diamètre d'inhibition mais le M3 dont la teneur élevée en polyphénols révèle une faible capacité inhibitrice. Ceci montre que les composés phénoliques et les flavonoïdes ne sont pas les seuls facteurs principaux du processus antibactérien des miels.

D'autres paramètres interviennent dans l'activité antibactérienne tels que le pH, l'acidité, le peroxyde d'hydrogène ainsi que le contenant important en enzyme (Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991).

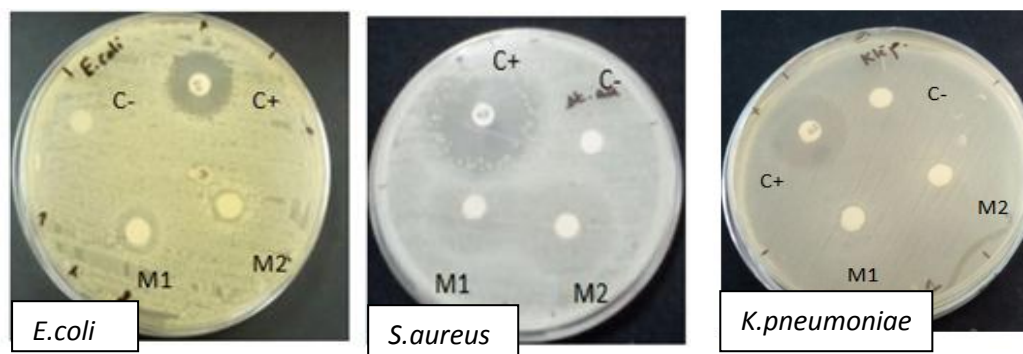


Figure 03 : Effets de quelques miels sur les 3 souches bactériennes.

L'analyse statistique montre l'existence d'une corrélation significative entre les diamètres de zones d'inhibition (*K. Pneumoniae*) et la couleur ($r = 0,46$) (Figure 01, annexe VIII).

L'activité antioxydante testée par le test FRAP montre également une corrélation significative ($r = 0,50$) avec les diamètres d'inhibition d'*E. Coli*. (Figure 02, annexe VIII).

III-5-2 Détermination de la CMI

La CMI est la concentration la plus basse d'un agent antimicrobien qui empêche la croissance visible d'un microorganisme après incubation durant la nuit (Al-habsi et Niranjana, 2012).

Les valeurs de la CMI (tableau VII) des échantillons de miel vis-à-vis *E. Coli* sont comprises dans deux intervalles ($250 < \text{CMI} \leq 500$) pour M4 et M6, ($125 < \text{CMI} \leq 250$) pour M1 et M5 par contre M2, M3 et M7 ont une CMI supérieure à 1000 mg / ml. Cette variation est peut être due à la différence dans la composition des composés actifs du miel. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Chauhan et al. (2010) (0,625 à 5,00 mg / ml contre *E. Coli*).

Tous les miels présentent une CMI inférieure à 63 mg / ml pour *S. aureus* à l'exception de M4 dont la CMI est dans l'intervalle ($500 < \text{CMI} \leq 1000$), ce qui montre à nouveau que *S. aureus* est la souche la plus sensible à l'effet du miel. Ces valeurs sont différentes de celles de Bueno-Costa et al. (2016) (10 - 300 mg / ml contre *S. aureus*).

Les CMI obtenus avec *K. pneumoniae* sont dans l'intervalle ($500 < \text{CMI} \leq 1000$) pour M4, M6 et M7, ($250 < \text{CMI} \leq 500$) pour M3, ($125 < \text{CMI} \leq 250$) pour M5 et ($63 < \text{CMI} \leq$

125) pour M1, par contre la CMI de M2 est supérieure à 1000 mg / ml, ce qui indique que *K. pneumoniae* a une sensibilité intermédiaire.

Cortopassi-Laurino et Geli (1991), Suggèrent que cette activité du miel est associée à une haute concentration en sucres, à de basses valeurs de pH et à l'accumulation de bioxyde d'hydrogène.

Tableau VII : Résultats des microplaques des miels analysés.

Souches Miels	CMI mg/ml							
	T	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	125<CMI≤250	CMI>1000	CMI>1000	250<CMI≤500	125<CMI≤250	250<CMI≤500	CMI>1000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC259224	-	CMI≤63	CMI≤63	CMI≤63	500<CMI≤1000	CMI≤63	CMI≤63	CMI≤63
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603	-	63<CMI≤125	CMI>1000	250<CMI≤500	500<CMI≤1000	125<CMI≤250	500<CMI≤1000	500<CMI≤1000

III-6 Corrélations

III-6-1 Corrélations paramètres physico-chimiques et propriétés antioxydantes

L'analyse statistique des résultats de la présente étude indique l'existence d'une corrélation très hautement significative ($p < 0,001$) entre la conductivité électrique et l'activité antioxydante $r = 0,82$ avec l'ABTS ; $r = 0,78$ avec le DPPH (Figure 01 et 02 respectivement, annexe III).

Le taux en protéine des miels étudiés manifeste une corrélation très hautement significative avec la couleur ($r = 0,74$), (Figure 03, annexe III) cette valeur est différente de celle d'Ouchemoukh (2012) ($r = 0,64$).

De même qu'une corrélation hautement significative ($r = 0,64$) est également constatée entre la couleur et la conductivité électrique (Figure 01, annexe IV). Selon Kaškonienė et al. (2010), les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs. Ce coefficient de corrélation est proche de celui trouvé par Ouchemoukh (2012) ($r = 0,57$).

La proline manifeste une corrélation significative avec le pouvoir réducteur ($r = 0,53$), (Figure 02, annexe IV) cela est confirmé par les études de Meda et *al.* (2005) qui ont rapporté l'existence d'une meilleure corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en proline à un coefficient de corrélation $r = 0,75$, distinct de celui de la présente étude.

III-6-2 Corrélations couleurs, antioxydants et activités antioxydantes

Une très forte corrélation ($p < 0,001$) est établie entre la couleur des différents miels étudiés et les composés phénoliques ($r = 0,94$), les flavonoïdes ($r = 0,85$) (Figure 01 et 02 respectivement, annexe V), ces résultats sont en accord à certains travaux des auteurs dont Alvarez-Suarez et *al.* (2010) et Ouchemoukh (2012) qui ont rapportés l'existence de corrélation très hautement significative entre la couleur, les polyphénols et les flavonoïdes ($r = 0,95 ; 0,97$ et $r = 0,74 ; 0,81$, respectivement).

La couleur des miels montre une corrélation significative avec l'activité antiradicalaire en utilisant l'ABTS ($r = 0,49$) (Figure 03, annexe V), cette corrélation est différente de celle trouvée par Ouchemoukh (2012) $r = 0,68$ à $p < 0,001$.

De nombreuses études ont montré que l'activité antioxydante est fortement corrélée avec la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante des miels foncés est plus élevée que celle des miels clairs (Al-Mamary et *al.*, 2002; Beretta et *al.*, 2005). Et les résultats de la présente étude les confirment bien.

III-6-3 Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

L'analyse de la matrice de corrélation révèle des relations significatives et hautement significatives entre les antioxydants et le potentiel antioxydant.

La teneur en flavonoïdes signale une corrélation hautement significative avec l'activité antiradicalaire (Test d'ABTS) dont le coefficient de corrélation $r = 0,55$ (Figure 01, annexe VII). Ce résultat est différent de celui rapporté par Perna et *al.* (2013) ($r = 0,71$).

De même que des corrélations observées à $p < 0,05$ sont signalées entre les composés phénoliques et le test d'ABTS ($r = 0,52$) ainsi que les flavonoïdes et l'activité antioxydante ($r = 0,49$ test avec DPPH) (Figure 01 et 02, annexe VI et VII, respectivement). Ceci est en accord avec les résultats de Perna et *al.* (2013) entre les flavonoïdes et le DPPH ($r = 0,45$), et distinct de la valeur de corrélation obtenue par Alvarez-Suarez et *al.* (2010) entre les polyphénols et l'activité antioxydante ($r = 0,96$).

Le taux en polyphénols manifeste une corrélation très hautement significative avec les flavonoïdes ($r = 0,78$) (Figure 02, annexe VI). Ce coefficient est différent de celui de Perna *et al.* (2013) ($r = 0,36$), et Al *et al.* (2009) ($r = 0,84$).

III-7 Analyse en composante principale

Afin d'obtenir une meilleure représentation des différents échantillons l'analyse de la composante principale (ACP) est réalisée.

L'analyse de l'ACP permet de réduire la complexité des résultats relatifs aux caractères physico-chimiques des différents échantillons de miels. Le tracé des poids factoriels des relations simultanées entre les différentes propriétés étudiées (Figure 04) montre l'existence de 3 groupes, le premier est corrélé possédant Humidité, pouvoir rotatoire, FRAP et les zones d'inhibition d'*E. coli*. La matrice de corrélation a confirmé la corrélation significative entre FRAP et les diamètres d'inhibition d'*E. coli*, en outre, protéines, Flavonoïdes, Polyphénols, couleur, les zones d'inhibition de *K. Pneumoniae*, conductivité électrique, ABTS, DPPH et Ph forment un groupe très lié. L'analyse statistique a révélé l'existence d'une corrélation très hautement significative entre couleur, phénols et flavonoïdes et significative entre couleur et les diamètres d'inhibition de *K. pneumoniae*, mais aussi entre couleur et ABTS, enfin les paramètres ; pouvoir réducteur, proline, Brix et les diamètres d'inhibition de *S. aureus* sont également liés, le traitement statistique a confirmé aussi la corrélation significative entre le pouvoir réducteur et la proline, de même Meda *et al.* (2005) a signalé une corrélation entre ces deux derniers.

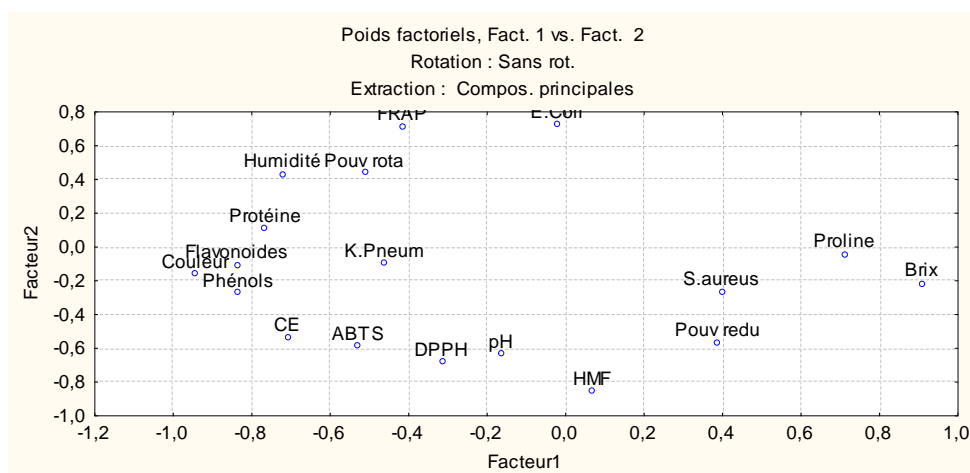


Figure 04 : Représentation du plan factoriel de l'analyse en composante principale.

Tableau III : Spectre pollinique et pourcentage de pollens des miels analysés.

Echantillons	Pollen dominant (> 45 %)	Pollen d'accompagnement (16 - 45 %)	Pollens minoritaires (3 - 15 %)	Pollens très minoritaires (< 3 %)	Origine botanique
M1	Absence	<i>Braceceae</i> 24 <i>Fabaceae</i> 22	<i>Apiaceae</i> 12, <i>Rhamnaceae</i> 12, <i>Poaceae</i> 7, Autres 6, <i>Rasaceae</i> 4, <i>Cistaceae</i> 4, <i>Lamiaceae</i> 3	<i>Asteraceae</i> 2, <i>Chenopodiaceae</i> 2, <i>Liliaceae</i> 1, <i>Ericaceae</i> 1	Polyfloral
M2	<i>Fabaceae</i> 61	Absence	<i>Rosaceae</i> 15, <i>Asteraceae</i> 10, <i>Chenopodiaceae</i> 5	<i>Rhamnaceae</i> 2, <i>Fagaceae</i> 2, <i>Myrtaceae</i> (<i>Eucalyptus</i>) 1, <i>Ericaceae</i> 1, <i>Lamiaceae</i> 1, <i>Tiliaceae</i> 1, Autres 1	Monofloral
M3	Absence	<i>Fabaceae</i> 31, <i>Rhamnaceae</i> 18	<i>Asteraceae</i> 13, <i>Ericaceae</i> 11, <i>Rosaceae</i> 8, <i>Lamiaceae</i> 6, <i>Braceceae</i> 5, <i>Apiaceae</i> 4, Autres 3	<i>Chenopodiaceae</i> 1	Polyfloral
M4	Absence	<i>Braceceae</i> 31, <i>Fabaceae</i> 25	<i>Apiaceae</i> 10, <i>Cistaceae</i> 10, <i>Rosaceae</i> 8, Autres 5, <i>Poaceae</i> 3, <i>Rhamnaceae</i> 3	<i>Tiliaceae</i> 2, <i>Lamiaceae</i> 2, <i>Cistaceae</i> 1, <i>Rutaceae</i> (<i>Citrus</i>) 1, <i>Ericaceae</i> 1, <i>Myrtaceae</i> (<i>Eucalyptus</i>) 1	Polyfloral
M5	<i>Asteraceae</i> 50	<i>Fabaceae</i> 23	<i>Myrtaceae</i> 7, <i>Apiaceae</i> 6, <i>Lamiaceae</i> 5, <i>Rosaceae</i> 4, Autres 3	<i>Rhamnaceae</i> 2	Monofloral
M6	Absence	<i>Rosaceae</i> 25, <i>Fabaceae</i> 22, <i>Apiaceae</i> 21	<i>Rhamnaceae</i> 8, <i>Tiliaceae</i> 7, <i>Braceceae</i> 7, Autres 3	<i>Liliaceae</i> 2, <i>Lamiaceae</i> 2, <i>Asteraceae</i> 2, <i>Cyperus</i> 1, <i>Fagaceae</i> 1	Polyfloral
M7	Absence	<i>Rhamnaceae</i> 28, <i>Fabaceae</i> 23	<i>Rosaceae</i> 11, <i>Mimosaceae</i> (<i>Acacia</i>) 10, Autres 6, <i>Ericaceae</i> 4, <i>Lamiaceae</i> 3, <i>Asteraceae</i> 3	<i>Liliaceae</i> 2, <i>Tiliaceae</i> 2, <i>Myrtaceae</i> 2, <i>Braceceae</i> 2, <i>Chenopodiaceae</i> 1, <i>Fagaceae</i> 1, <i>Apiaceae</i> 1, <i>Liliaceae</i> 1	Polyfloral

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

Miels	Humidité (%)	pH	Brix (%)	CE (mS/cm)	Couleur	Protéine (mg EBSA/100g)	Proline (mg/kg)	HMF (mg/kg)
M1 Polyfloral	15,46±0,62 ^f	4,13±0,1 ^b	82,85±0,55 ^e	0,31±0,00 ^f	0,86±0,07 ^b	23,13±2,22 ^e	307,20±23,08 ^{bc}	10,43±2,29 ^e
M2 Monofloral	18,16±0,76 ^b	3,84±0,01 ^d	80,40±0,6 ^b	0,99±0,04 ^a	1,34±0,03 ^d	27,80±1,42 ^c	270,08±2,56 ^b	32,19±0,54 ^b
M3 Polyfloral	16,52±0,88 ^c	3,94±0,02 ^d	81,85±0,85 ^e	0,78±0,01 ^b	1,32±0,08 ^d	44,97±4,19 ^a	345,60±16,64 ^{cd}	10,03±2,75 ^e
M4 Polyfloral	13,73±0,79 ^d	3,50±0,02 ^e	84,60±0,9 ^d	0,43±0,01 ^e	0,49±0,03 ^c	20,01±0,17 ^{de}	366,51±22,94 ^d	17,81±0,15 ^c
M5 Monofloral	19,96±0,16 ^a	3,67±0,04 ^c	78,42±0,18 ^c	0,52±0,00 ^d	1,70±0,06 ^a	38,58±0,65 ^b	340,05±19,59 ^{cd}	/
M6 Polyfloral	15,32±0,00 ^f	3,46±0,03 ^e	93,40±0,7 ^a	0,26±0,00 ^g	0,42±0,05 ^c	18,28±1,72 ^d	545,71±75,88 ^a	10,63±1,28 ^e
M7 Polyfolral	12,44±0,24 ^e	4,8±0,16 ^a	85,55±0,15 ^d	0,63±0,02 ^c	1,24±0,04 ^d	22,08±0,66 ^c	370,35±1,96 ^d	78,59±2,56 ^a

Tableau VI : Teneur en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.

Miels	Phénols (mg EAG/100 g)	Flavonoïdes (mg EC/100 g)	ABTS (%)	DPPH (%)	FRAP (mg EAG/100 g)	Pouvoir réducteur (mg EAG /100 g)	Pouvoir rotatoire
M1 Polyfloral	93,55±13,03 ^b	10,79±2,07 ^e	19,47±3,37 ^{bc}	18,93±0,47 ^b	103,81±10,56 ^c	36,14±0,88 ^b	/
M2 Monofloral	120,42±1,47 ^{bet}	46,63±1,96 ^b	90,23±1,09 ^a	82,55±0,27 ^a	55,15±9,04 ^e	36,51±3,33 ^b	-5,84±0,14 ^c
M3 Polyfloral	111,84±3,76 ^f	31,83±2,76 ^f	40,33±4,82 ^{de}	57,09±1,15 ^d	54,56±2,48 ^e	40,92±0,98 ^b	-3,81±0,05 ^a
M4 Polyfloral	54,94±2,86 ^d	22,30±1,24 ^c	16,90±3,98 ^c	39,64±3,47 ^c	129,32±8,71 ^b	38,17±2,90 ^b	-8,07±0,05 ^e
M5 Monofloral	146,23±3,59 ^a	60,05±3,55 ^a	37,36±5,47 ^{de}	43,93±5,39 ^c	193,56±5,26 ^a	39,18±0,09 ^b	/
M6 Polyfloral	68,64±8,58 ^c	16,11±1,72 ^d	31,55±17,18 ^{be}	54,21±0,23 ^d	22,79±4,23 ^d	46,07±3,94 ^a	-6,37±0,01 ^d
M7 Polyfloral	128,92±0,98 ^e	33,75±1,77 ^f	50,56±9,56 ^d	57,71±0,40 ^d	48,66±8,91 ^e	47,74±4,40 ^a	-4,85±0,10 ^b

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

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

Conclusion

L'Algérie possède une diversité végétale très importante et des conditions climatiques favorables à la production du miel. Cette étude a permis d'évaluer les critères de qualité de 7 échantillons de miel algériens dont la majorité provient de la wilaya de Bejaia, le travail est mené en vue de connaître l'origine botanique, les propriétés physico-chimiques et les activités antioxydantes et antibactériennes ainsi que leurs corrélations avec la couleur.

L'analyse pollinique, utilisée pour déterminer l'origine botanique des miels analysés a montré la prédominance de 2 espèces monoflorales (M2 et M5). Le reste des échantillons sont des miels polyfloraux, sans prédominance pollinique.

Concernant l'étude physico-chimique des miels analysés, certains paramètres renseignent sur l'origine botanique dont le pH, la conductivité électrique et le pouvoir rotatoire, la plupart de ces miels sont élaborés à partir de nectar à l'exception de M2 qui pourrait être un mélange de nectar et de miellat. Les résultats obtenus montrent que les miels analysés sont conformes aux normes du Codex Alimentarius indiquant l'authenticité de ces échantillons, à savoir l'humidité ne dépasse pas les 20 % et la teneur en proline est supérieure à 180 mg / kg. D'après la teneur en HMF, les échantillons de miel sont mûrs et authentiques, excepté le M7 qui dépasse la norme exigée par Codex Alimentarius (40 mg / kg) ce qui peut être expliqué par le stockage dans des mauvaises conditions de ce dernier. Les valeurs de la couleur enregistrées augmentent avec la richesse du miel en antioxydants.

Concernant l'estimation du potentiel antioxydant, les miels étudiés sont caractérisés par une activité antioxydante qui est confirmée à travers 4 tests, à savoir DPPH, ABTS, FRAP et le pouvoir réducteur. D'après les résultats de l'activité antibactérienne, toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés.

Le traitement statistique a révélé l'existence de corrélation significative entre couleur et l'activité antiradicalaire évaluée par la méthode d'ABTS, de même qu'une corrélation à $p < 0,05$ est observée entre couleur et les diamètres d'inhibition de *K. pneumoniae*.

Afin de compléter cette étude, les recommandations suivantes sont proposées :

- Identifier les antioxydants du miel par des techniques plus performantes (HPLC).
- Réaliser des études de combinaison entre les miels et autres produits naturels tel que l'huile d'olive afin d'augmenter leurs effets thérapeutiques.
- Étudier d'autres propriétés des miels algériens (antimicrobiennes, thérapeutiques..).

A

- **Abramović, H., Jamnik, M., Burkan, L. et Kac, M. (2008).** Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food control*, 19: 1086–1090.
- **Al, M.L., Dezmirean, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. et Bogdanov, S. (2009).** Physico-chemical and bioactive proprieties of different floral origin honeys from Romania. *Food chemistry*, 112: 863-867.
- **Al-Habsi, N.A. et Niranjan, K. (2012).** Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food Chemistry*, 135: 1448-1454.
- **Al-Mamary, M., Al-Meeri, A. et Al-Habori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.
- **Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. et Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- **Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M. et Tachini M. (1989).** Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et quantification par familles. *Apidologie*, 20 (2): 115-125.
- **Amri, A., Ladjama, A. et Tahar, A. (2007).** Etude de quelques miels produits à l'est Algérien : Aspect physico-chimique et biochimique. *Revue Synthèse*, 17: 57-63.
- **Anklam, E. (1998).** A review of the analytical methods to determine the geographical and botanic origin of honey. *Food chemistry*, 63 (4): 549-562.

B

- **Baroni, M.V., Arrua, C., Nores, M.L., Fayé, P., Diaz, M.P., chiabrando, G.A. et Wunderlin, D.A. (2009).** Composition of honey from cordoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food chemistry*, 114: 727-733.
- **Bath, P.K. et Singh, N. (1999).** A comparison between *helianthus annus* and *Eucaliptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.
- **Belay, A., Solomon, W.K., Bultossa, G., Adgaba, N. et Melaku, S. (2015).** Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 167: 213-219.
- **Belay, A., Solomon, W.K., Bultossa, G., Adgaba, N. et Melaku, S. (2013).** Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.
- **Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. et Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533: 185-191.
- **Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnick, M. et Golob, T. (2007).** Evaluation of phenolic content: antioxydant activity and colour of slovenian honeys. *Food chemistry*, 105: 822-828.
- **Bettar, I., Gonzaler-Miret, M.L., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia, F.J. et Terrab, A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry*.

- **Bogdanov, S., Martin, P., Lullman, C., Borneck, R., Morlot, M., Heritier, J., Vorwohl, G., Russmann, H., Persano-Oddo, L., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A. et Ivanov, T. (1997).** Harmonised methods of the european honey commission. *Apidologie*, 1-59.
- **Bogdanov, S., Ruoff, K et Persano Oddo, L. (2004).** Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4-17.
- **Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- **Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11): 317-333.
- **Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Wendt Bohmer, B., Chaves, F.C., Padilha da Silva, W., Zanusso, J.T. et 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.

C

- **Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. et Corke H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157-2184.
- **Canadanovic-Brunet, J., Gordana Cetkovic, G., Saponjaca, V.T., Stajcic, S., Vulica, J., Djilas, S., Stajner, D. et Popovic, B. (2014).** Evaluation of phenol content, antioxidant activity and sensory characteristics of serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, 62: 1-7.
- **Chauhan, A., Pandey, V., Chacko, K.M., Khandal, R.K. (2010).** Antibacterial activity of raw and processed honey. *Electreonic journal of biology*, 5 (3): 58-66.
- **Chefour, A., Draiaia, R., Tahar, A., Ait Kaki, Y., Benadja, S., et Battesti, M.J. (2009).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some north-east Algerian honeys. *Food Chemistry*, 9 (5): 1276-1293.
- **Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). (2015).** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-10th Edition document M07-A10.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015).** Performance Standards for antimicrobial Disque Susceptibility Tests; approved Standard-12th Edition document M02-A12.
- **Codex Alimentarius Commission. (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12: 1-7.
- **Cortopassi-Laurino, M. et Gelli, D. (1991).** Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. *Apidologie*, 22: 61-73.
- **Couquet, Y., Desmolière, A. et Rigal, M.L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités Pharmaceutiques*, 531: 22-25.

D

- **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels algériens. *Ecologie-Environnement*, 10: 1112-5888.
- **Desmoulière, A. et Bonté, A. (2013).** Le miel, quel intérêt en cicatrisation?. *Actualités Pharmaceutiques*, n° 531.

É

- **Escuredo, O., Seijo, M.C., Salvador, J. et Gonzalez-Martin, M.I. (2013).** Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, 141: 3409-3414.

F

- **Fallico, B., Zappala, M., Arena, E. et Verzera, A. (2004).** Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food chemistry*, 85: 3774-3779.
- **Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M. et Estevinho, L.M. (2009).** Antioxydant activity of portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic. *Food chemistry*, 114: 1438-1443.

G

- **Gonnet, M. (1963).** L'hydroxyméthylfurfural dans les miels. Mise au point d'une méthode de dosage. *Ann. Abeille*, 6 (1): 53-67.

H

- **Habib, H.M., Al Meqbali, F.T., Kamal, H., Souka, U.D. et Ibrahim, W.H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemisrtry*, 153: 35-43.
- **Hoyet, C. (2005).** Le miel : De la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, pharmacie, Université Henri poincaré-Nancy-1, p. 87.

I

- **Isla, M.I., Craig, A., Ordonez, R., Zampini, C., Sayago, J. Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomon, V. et Maldonado, L. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Science and Technology*, 44: 1922-1930.

J

- **Jean-Prost, P. et Le Conte, Y. (2005).** Apiculture: connaître l'abeille, conduire le rucher, 7^{ème} édition. TEC & DOC Lavoisier Ed, 697 p.

K

- **Kaškonien, V., Venskutonis, P.R., Čeksteryte, V. (2010).** Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT-Food Science and Technology*, 43: 801-807.
- **Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraà, L., Benhanifia, M., Islam, M.A., Islam, M.N., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17: 11199-11215.
- **Kropf, U., Korosec, M., Bertoncej, J., Ogrinc, N., Necemer, M., Kump, P. et Golob, T. (2010).** Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, 121: 839-846.

L

- **Lazarević, K.B., Andrić, F., Trifković, J., Tesić, Z. et Milojković-Opsenica, D. (2012).** Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132: 2060-2064.
- **Li, C.H. et Lin, E.S. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of Areca catechu seed. *African Journal of Biotechnology*, 9 (46): 7831-7836.
- **Liu, J-R., Ye, Y-L., Lin, T-Y., Wang, Y-W. et Peng, C-C. (2013).** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139: 938-943.
- **Louveaux, J., Maurizio, A. et Vorwohl, G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59: 139-157.

M

- **Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli-D'albore, G., Choukri, A. et Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.
- **Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, j. et 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: 571-577.
- **Missio da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C. et Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*; 196: 309-323.
- **Moniruzzaman, M., An, C.Y., Rao, P.V., Hawlader, M.N., Amirah, S., Bintimohd, A., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2014).** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-13.
- **Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. et Gan, S.H. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with Manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7: 138.
- **Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., Tamendjari, A. (2016).** Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. *Industrial corps and products*, 88: 85-90.

N

- **Naithani, V., Nair, S. et Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181.
- **Nanda, V., Sarkar, B.C., Sharma, H.K. et Bawa, A.S. (2003).** Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of food composition and Analysis*, 16: 613-619.

O

- **Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, p. 164.
- **Ouchemoukh, S., Louaileche, H et Schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food control*, 18: 52-58.

P

- **Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I. et Gambacorta, E. (2013).** Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of southern Italy. *Journal Of Life Sciences*, 7 (4): 428-436.
- **Persano Oddo, L., Piazza, M.G. et Pulcini, P. (1999).** Invertase activity in honey. *Apidologie*, 30 (1): 57-65.
- **Pesenti, M.E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J-C., Tegoni, M. et Cambillau, C. (2008).** Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change. *Journal of Molecular Biology*, 380: 158-169.
- **Ponce, A.G., Fritz, R., del valle.C. et Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm-Wiss. u-Technol*, 36: 679-684.
- **Popek, S. (2002).** A procedure to identify a honey type. *Food chemistry*, 79: 401-406.

R

- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- **Ribeiro, R.O.R., Mársico, E.T., da Silva Carneiro, C., Guerra Monteeiro, M.L., Junior, C.A.C., Mano, S. et Oliveira de Jesus, E.F. (2014).** Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF ¹H NMR). *Food Science and Technology*, 55: 90-95.
- **Riberau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribéreau-Gayon, P. (1982).** Composés phénoliques. In « traité d'œnologie, science et technique du vin ». *Edition Dunod*, 477-499.

S

- **Salwa, H.A et Maher, A.A.M. (2014).** Antibacterial potential and physicochemical properties. *Global Advanced Research Journals*, 3 (3): 049-058.
- **Saxena, S., Gautam, S. et Sharma, A. (2010).** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118 (2): 391-397.
- **Serem, J.C. et Bester, M.J. (2012).** Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food Chemistry*, 133: 1544-1550.

T

- **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. et Hilali, A. (2015).** Evaluation of antioxidant activity and physic-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa*, *Mater, Environ. Sci*, 6 (4): 1111-1117.

- **Terrab, A., Gonzalez, A.G., Diez, M.J. et Heredia, F.J. (2003).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 218: 88-95.
- **Terrab, A., Recamales, A.F., Hernanz, D. et Heredia, F.J. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88: 537-542.
- **Tonks, A., Cooper, R.A., Price, A.J., Molan, P.C., Jones, K.P. (2001).** Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey. *Cytokine*, 14 (4): 240-242.

V

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

W

- **Werner, A. et Lacourreye, O. (2011).** Le miel en oto-rhino-laryngologie: quand, pourquoi et comment?. *Annales Françaises d'oto-rhino-laryngologie et de pathologie cervico-faciale*, 128: 153-157.

Y

- **Yycel, Y. et Sultanoglu, P. (2013).** Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Biosciencel*, 16-25.

Table de CHATAWAY

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

Courbes d'étalonnages

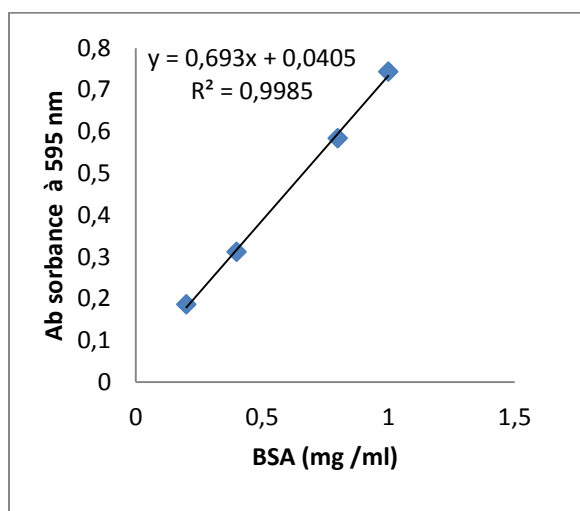


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des protéines.

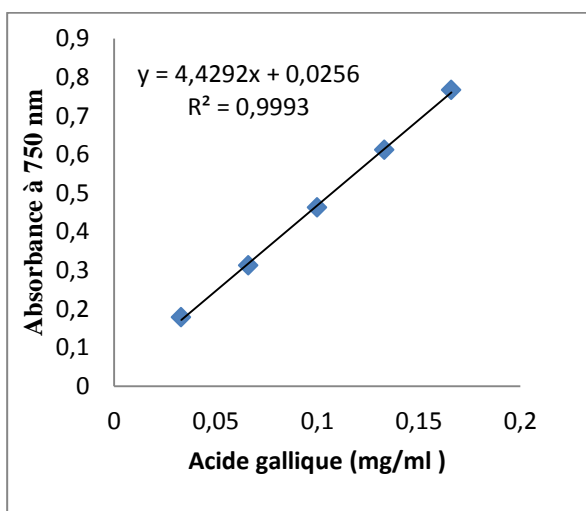


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des phénols totaux.

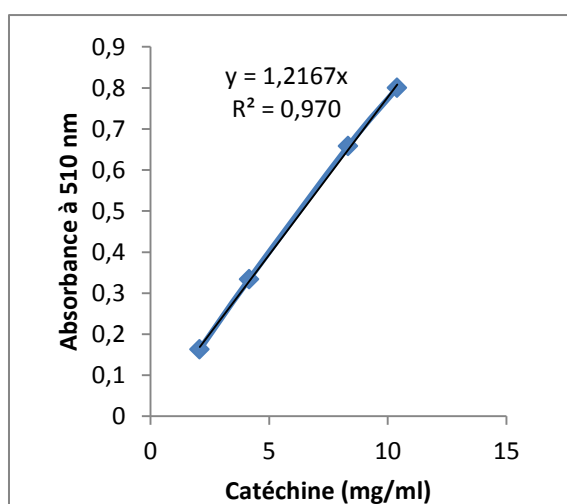


Figure 03 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

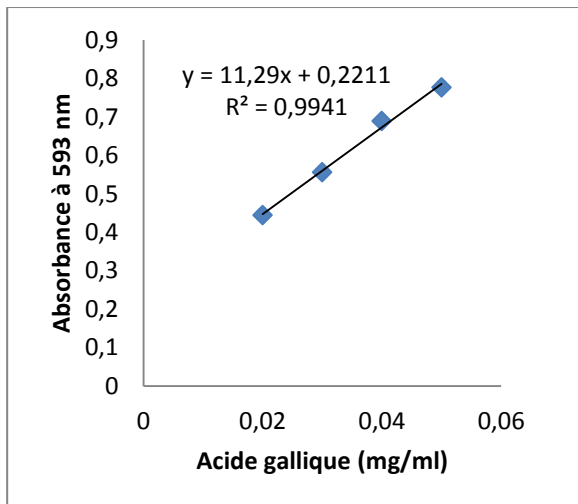


Figure 04 : Courbe d'étalonnage du test FRAP.

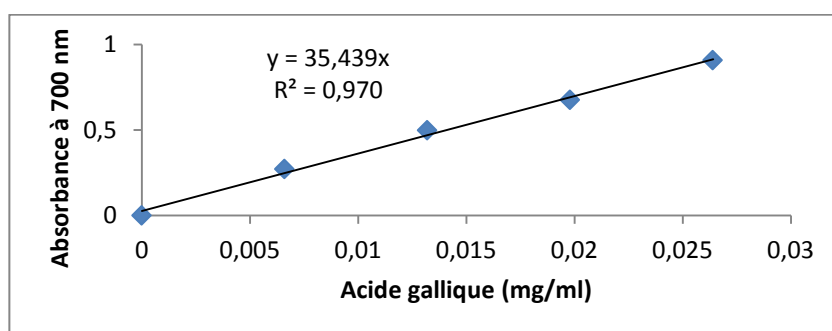


Figure 05 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Corrélations paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes

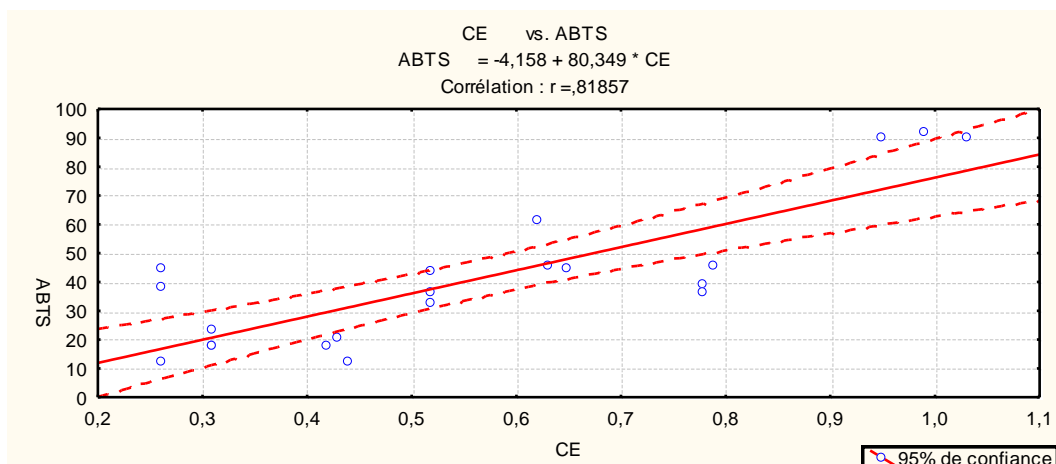


Figure 01 : Corrélation entre la conductivité électrique et ABTS ($p < 0,001$).

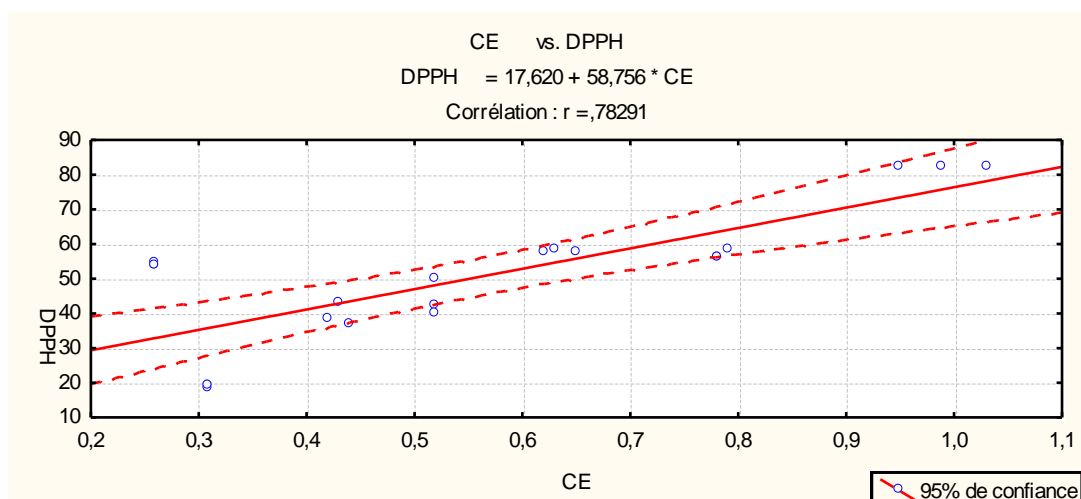


Figure 02 : Corrélation entre conductivité électrique et DPPH ($p < 0,001$).

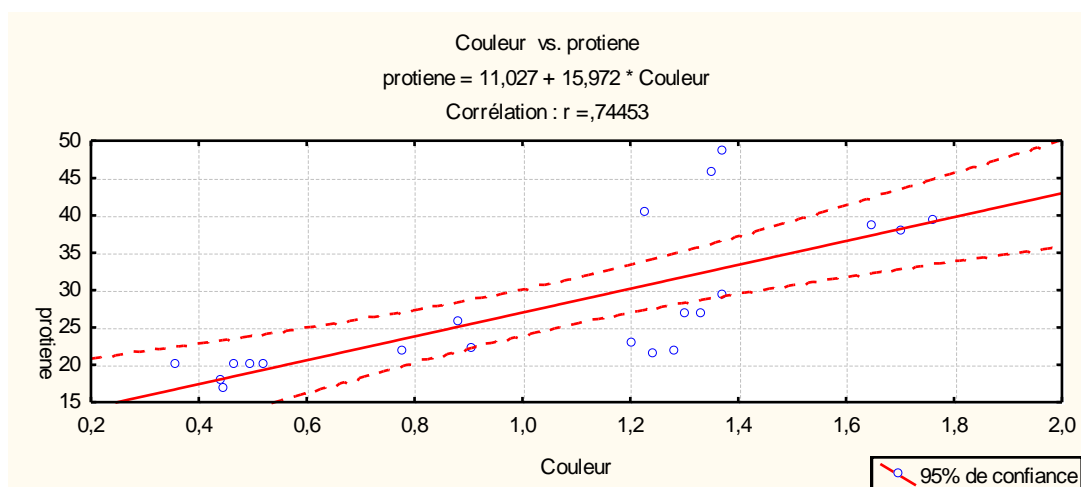


Figure 03 : Corrélation entre couleur et protéine ($p < 0,001$).

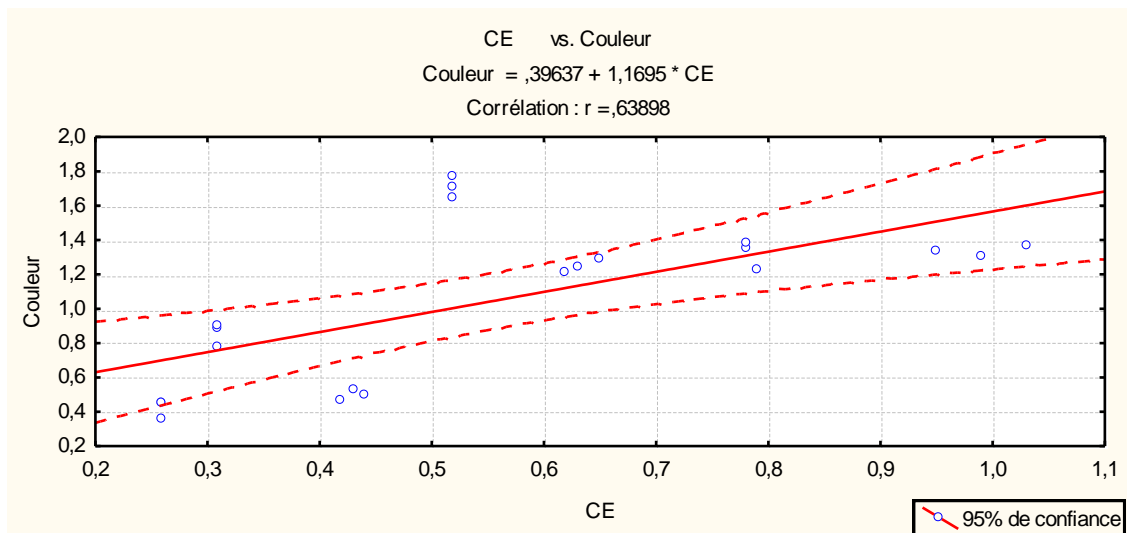


Figure 01 : Corrélation entre conductivité électrique et couleur ($p < 0,01$).

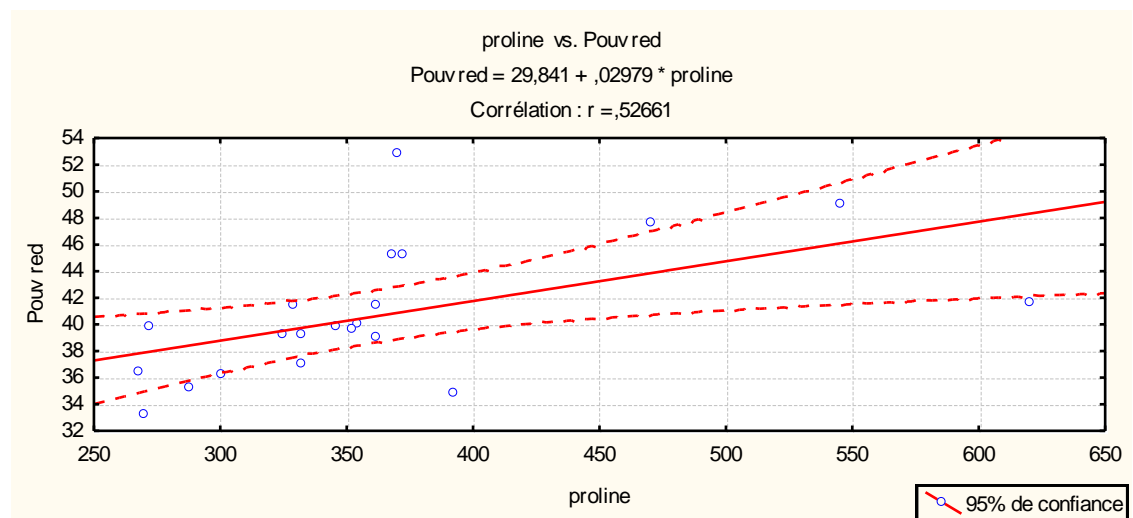
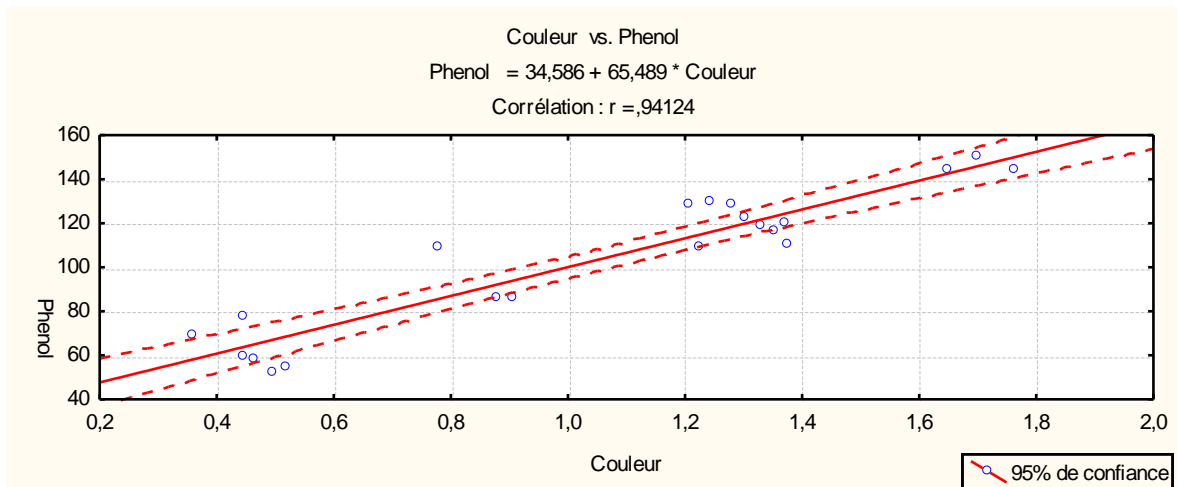
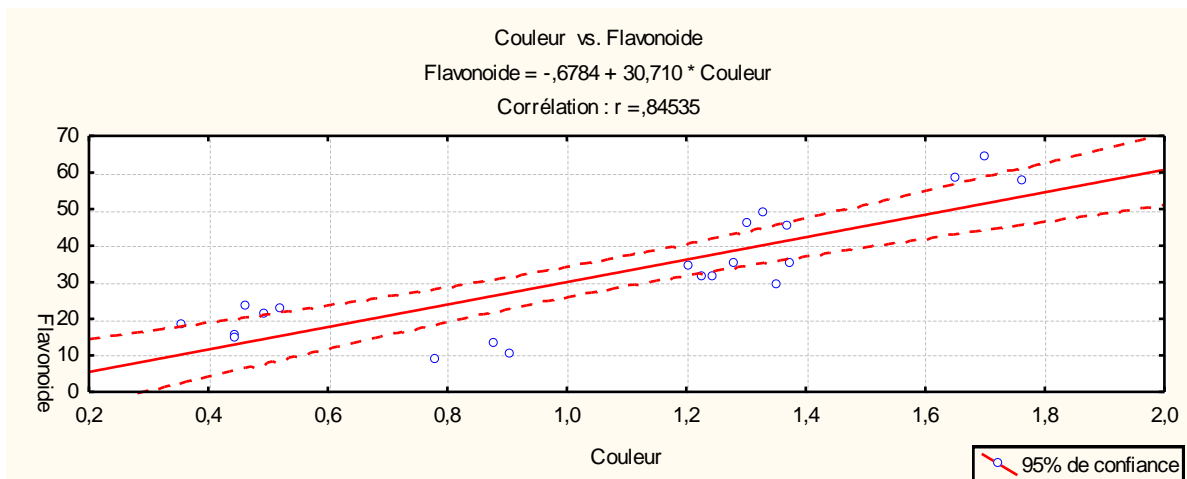
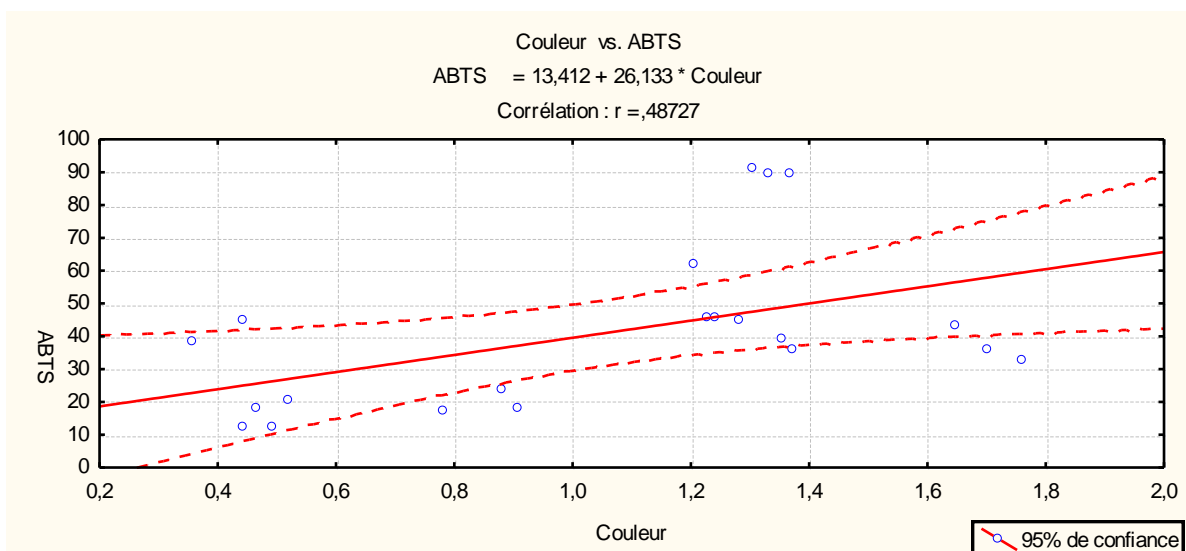
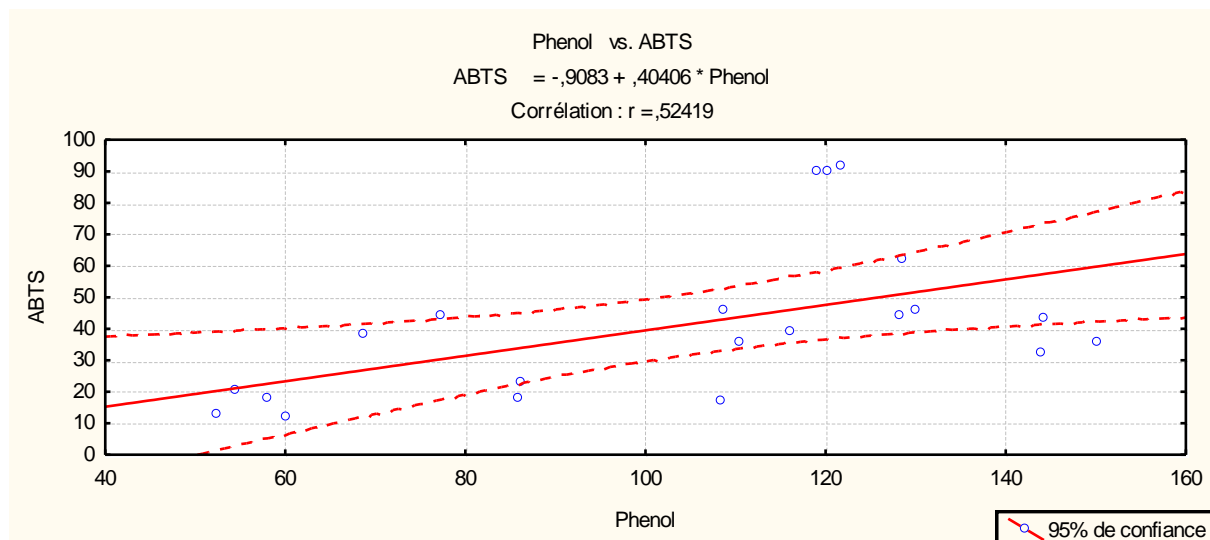
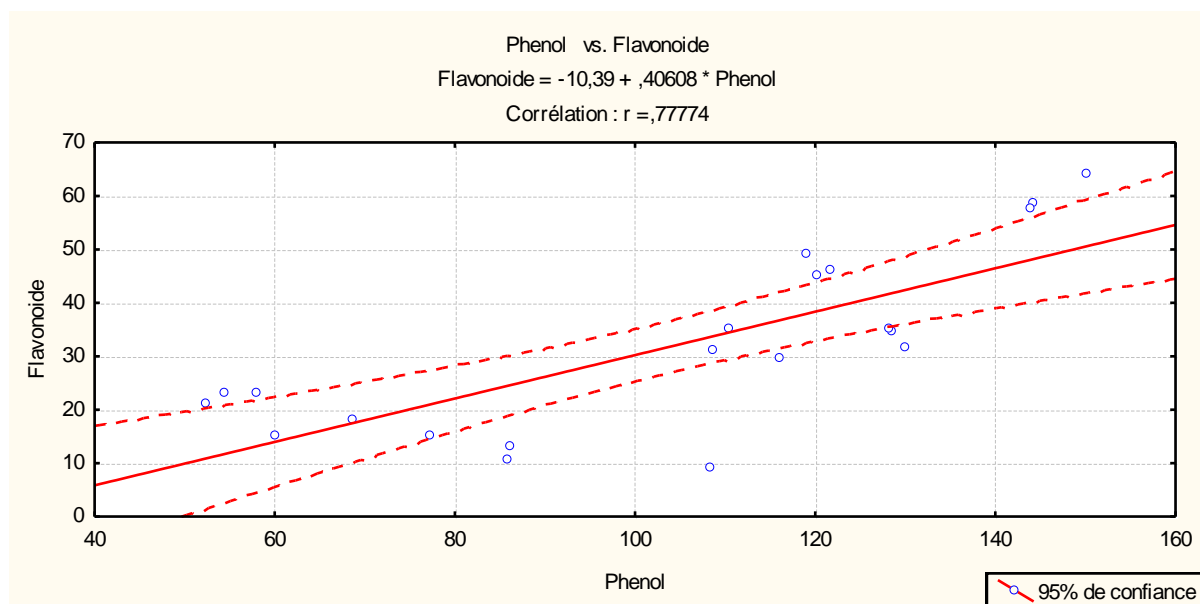


Figure 02 : Corrélation entre proline et pouvoir réducteur à ($p < 0,05$).

Corrélations couleurs, antioxydants et activités antioxydantes

**Figure 01** : Corrélación entre couleur et composés phénoliques ($p < 0,001$).**Figure 02** : Corrélación entre couleur et flavonoïdes ($p < 0,001$).**Figure 03** : Corrélación entre couleur et ABTS ($p < 0,05$).

Corrélation antioxydants et activités antioxydantes

Figure 01 : Corrélation entre phénols et ABTS ($p < 0,05$).Figure 02 : Corrélation entre phénols et flavonoïdes ($p < 0,001$).

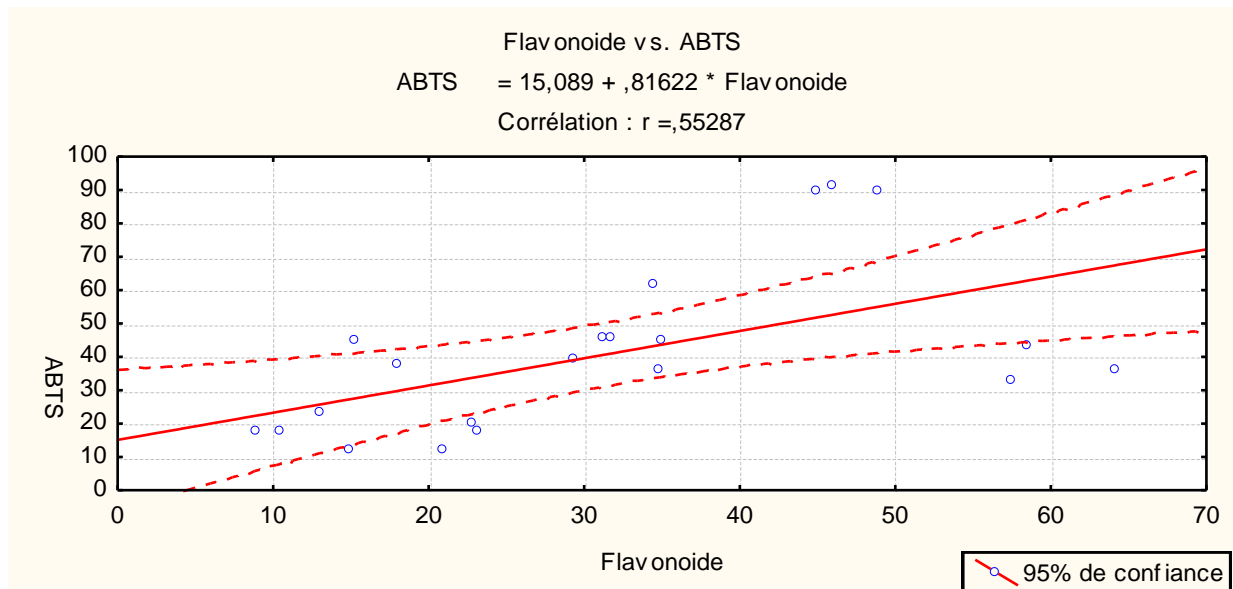


Figure 01 : Corrélation entre flavonoïdes et ABTS ($p < 0,01$).

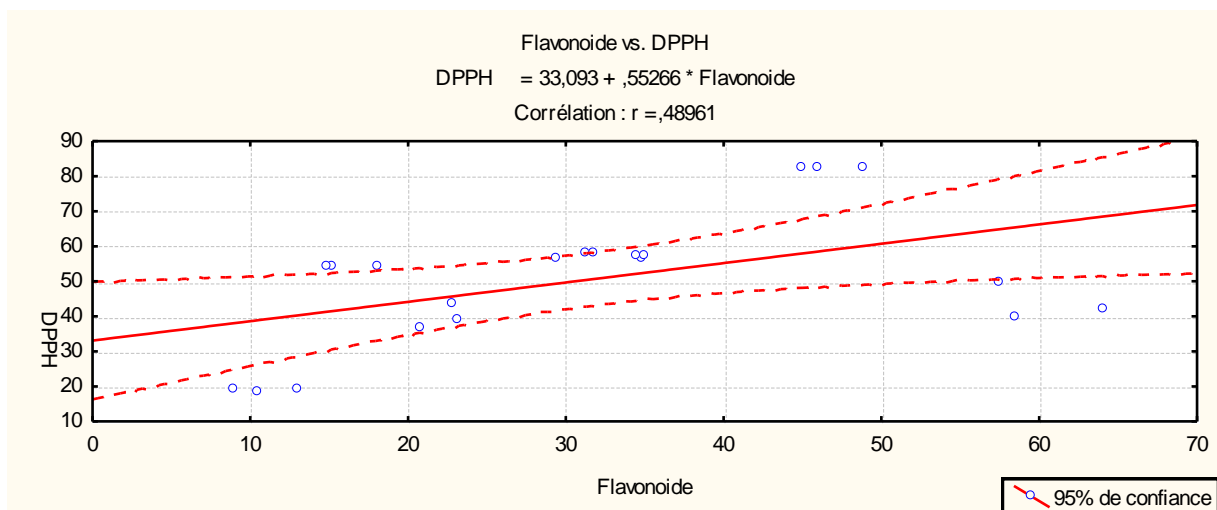
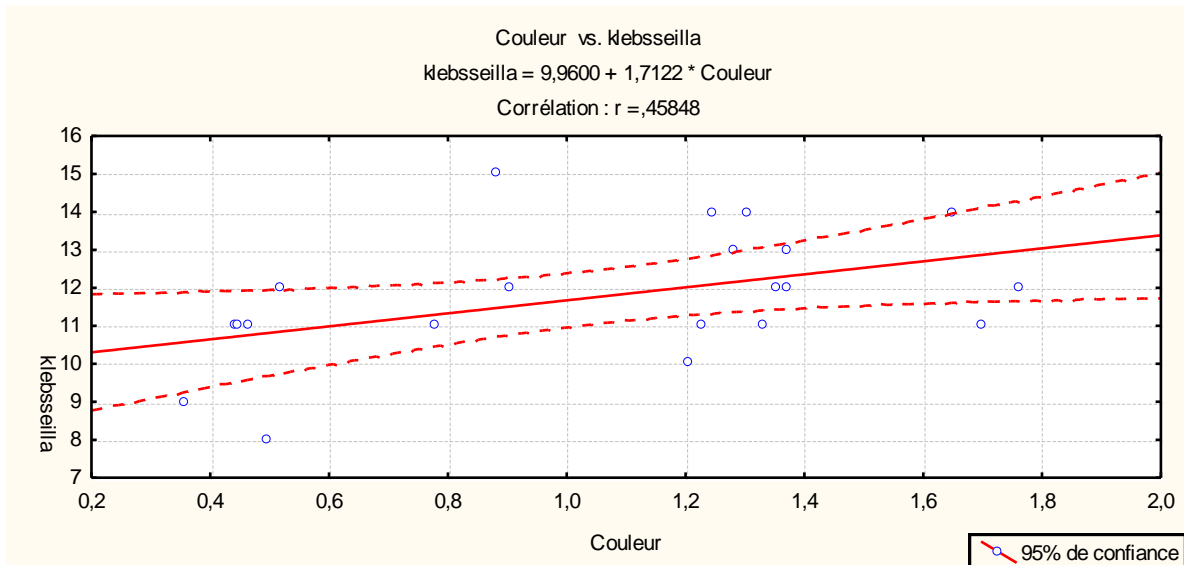
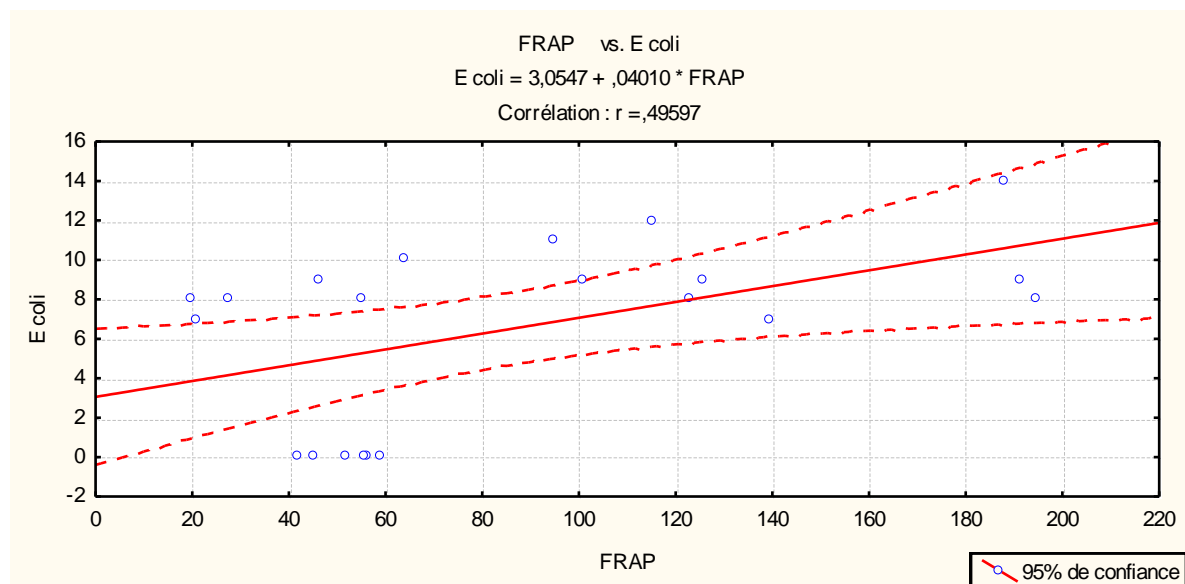


Figure 02 : Corrélation entre flavonoïdes et DPPH ($p < 0,05$).

Corrélation couleur, activité antioxydante et activité antibactérienne

**Figure 01 :** Corrélation entre couleur et les zones d'inhibitions de *K. pneumoniae*.**Figure 02 :** Corrélation entre FRAP et les zones d'inhibition d'*E.coli*.

Corrélations significatives marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$ des miels analysés

Corrélations (Statistica)															
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$															
N=21 (Observations à VM ignorées)															
Variable	Humidité	pH	Brix (%)	CE (ms/cm)	Couleur	Protéine	Proline	HMF	Phénols	Flavonoides	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	Pouv rota
Humidité	1,00	-0,44	-0,59	0,31	0,59	0,61	-0,28	-0,61	0,49	0,67	0,33	0,20	0,44	-0,47	0,48
pH	-0,44	1,00	-0,13	0,25	0,35	-0,03	-0,29	0,80	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	0,23
Brix (%)	-0,59	-0,13	1,00	-0,56	-0,78	-0,64	0,85	0,14	-0,63	-0,67	-0,29	-0,03	-0,62	0,58	-0,51
CE (ms/cm)	0,31	0,25	-0,56	1,00	0,64	0,50	-0,58	0,32	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,15
Couleur	0,59	0,35	-0,78	0,64	1,00	0,74	-0,58	0,11	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	0,55
Protéine	0,61	-0,03	-0,64	0,50	0,74	1,00	-0,38	-0,35	0,59	0,58	0,17	0,16	0,26	-0,20	0,45
Proline	-0,28	-0,29	0,85	-0,58	-0,58	-0,38	1,00	-0,09	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,35
HMF	-0,61	0,80	0,14	0,32	0,11	-0,35	-0,09	1,00	0,24	0,04	0,39	0,37	-0,43	0,47	-0,32
Phénols	0,49	0,48	-0,63	0,54	0,94	0,59	-0,43	0,24	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	0,58
Flavonoides	0,67	-0,00	-0,67	0,60	0,85	0,58	-0,38	0,04	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,23
ABTS	0,33	0,22	-0,29	0,82	0,49	0,17	-0,29	0,39	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,17
DPPH	0,20	0,03	-0,03	0,78	0,32	0,16	-0,04	0,37	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,49
FRAP	0,44	-0,27	-0,62	-0,20	0,33	0,26	-0,35	-0,43	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50
Pouv redu	-0,47	0,35	0,58	-0,16	-0,14	-0,20	0,53	0,47	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,25
Pouv rota	0,48	0,23	-0,51	-0,15	0,55	0,45	-0,35	-0,32	0,58	0,23	-0,17	-0,49	0,50	-0,25	1,00

Corrélations (Statistica)															
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$															
N=21 (Observations à VM ignorées)															
Variable	Humidité	pH	Brix (%)	CE (ms/cm)	Couleur	Protéine	Proline	HMF	Phénols	Flavonoides	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	Pouv rota
Humidité	1,00	-0,44	-0,59	0,31	0,59	0,61	-0,28	-0,61	0,49	0,67	0,33	0,20	0,44	-0,47	0,48
pH	-0,44	1,00	-0,13	0,25	0,35	-0,03	-0,29	0,80	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	0,23
Brix (%)	-0,59	-0,13	1,00	-0,56	-0,78	-0,64	0,85	0,14	-0,63	-0,67	-0,29	-0,03	-0,62	0,58	-0,51
CE (ms/cm)	0,31	0,25	-0,56	1,00	0,64	0,50	-0,58	0,32	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,15
Couleur	0,59	0,35	-0,78	0,64	1,00	0,74	-0,58	0,11	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	0,55
Protéine	0,61	-0,03	-0,64	0,50	0,74	1,00	-0,38	-0,35	0,59	0,58	0,17	0,16	0,26	-0,20	0,45
Proline	-0,28	-0,29	0,85	-0,58	-0,58	-0,38	1,00	-0,09	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,35
HMF	-0,61	0,80	0,14	0,32	0,11	-0,35	-0,09	1,00	0,24	0,04	0,39	0,37	-0,43	0,47	-0,32
Phénols	0,49	0,48	-0,63	0,54	0,94	0,59	-0,43	0,24	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	0,58
Flavonoides	0,67	-0,00	-0,67	0,60	0,85	0,58	-0,38	0,04	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,23
ABTS	0,33	0,22	-0,29	0,82	0,49	0,17	-0,29	0,39	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,17
DPPH	0,20	0,03	-0,03	0,78	0,32	0,16	-0,04	0,37	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,49
FRAP	0,44	-0,27	-0,62	-0,20	0,33	0,26	-0,35	-0,43	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50
Pouv redu	-0,47	0,35	0,58	-0,16	-0,14	-0,20	0,53	0,47	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,25
Pouv rota	0,48	0,23	-0,51	-0,15	0,55	0,45	-0,35	-0,32	0,58	0,23	-0,17	-0,49	0,50	-0,25	1,00

Corrélations (Statistica)															
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$															
N=21 (Observations à VM ignorées)															
Variable	Humidité	pH	Brix (%)	CE (ms/cm)	Couleur	Protéine	Proline	HMF	Phénols	Flavonoides	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	Pouv rota
Humidité	1,00	-0,44	-0,59	0,31	0,59	0,61	-0,28	-0,61	0,49	0,67	0,33	0,20	0,44	-0,47	0,48
pH	-0,44	1,00	-0,13	0,25	0,35	-0,03	-0,29	0,80	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	0,23
Brix (%)	-0,59	-0,13	1,00	-0,56	-0,78	-0,64	0,85	0,14	-0,63	-0,67	-0,29	-0,03	-0,62	0,58	-0,51
CE (ms/cm)	0,31	0,25	-0,56	1,00	0,64	0,50	-0,58	0,32	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,15
Couleur	0,59	0,35	-0,78	0,64	1,00	0,74	-0,58	0,11	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	0,55
Protéine	0,61	-0,03	-0,64	0,50	0,74	1,00	-0,38	-0,35	0,59	0,58	0,17	0,16	0,26	-0,20	0,45
Proline	-0,28	-0,29	0,85	-0,58	-0,58	-0,38	1,00	-0,09	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,35
HMF	-0,61	0,80	0,14	0,32	0,11	-0,35	-0,09	1,00	0,24	0,04	0,39	0,37	-0,43	0,47	-0,32
Phénols	0,49	0,48	-0,63	0,54	0,94	0,59	-0,43	0,24	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	0,58
Flavonoides	0,67	-0,00	-0,67	0,60	0,85	0,58	-0,38	0,04	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,23
ABTS	0,33	0,22	-0,29	0,82	0,49	0,17	-0,29	0,39	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,17
DPPH	0,20	0,03	-0,03	0,78	0,32	0,16	-0,04	0,37	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,49
FRAP	0,44	-0,27	-0,62	-0,20	0,33	0,26	-0,35	-0,43	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50
Pouv redu	-0,47	0,35	0,58	-0,16	-0,14	-0,20	0,53	0,47	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,25
Pouv rota	0,48	0,23	-0,51	-0,15	0,55	0,45	-0,35	-0,32	0,58	0,23	-0,17	-0,49	0,50	-0,25	1,00

Corrélations significatives marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$ des miels analysés

Corrélations (Statistica)													
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$													
N=21 (Observations à VM ignorées)													
Variable	pH	CE (ms/cm)	Couleur	Proline	Phénols	Flavonoïdes	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	E.Coli	S.aure	K.Pneum
pH	1,00	0,25	0,35	-0,29	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	-0,55	0,21	0,35
CE (ms/cm)	0,25	1,00	0,64	-0,58	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,35	-0,35	0,25
Couleur	0,35	0,64	1,00	-0,58	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	-0,17	-0,22	0,46
Proline	-0,29	-0,58	-0,58	1,00	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,11	0,37	-0,41
Phénols	0,48	0,54	0,94	-0,43	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	-0,17	-0,04	0,42
Flavonoïdes	-0,00	0,60	0,85	-0,38	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,02	-0,21	0,22
ABTS	0,22	0,82	0,49	-0,29	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,11	0,06	0,20
DPPH	0,03	0,78	0,32	-0,04	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,33	-0,00	0,02
FRAP	-0,27	-0,20	0,33	-0,35	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50	-0,26	0,08
Pouv redu	0,35	-0,16	-0,14	0,53	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,55	0,26	-0,11
E.Coli	-0,55	-0,35	-0,17	-0,11	-0,17	0,02	-0,11	-0,33	0,50	-0,55	1,00	0,09	-0,01
S.aure	0,21	-0,35	-0,22	0,37	-0,04	-0,21	0,06	-0,00	-0,26	0,26	0,09	1,00	0,06
K.Pneum	0,35	0,25	0,46	-0,41	0,42	0,22	0,20	0,02	0,08	-0,11	-0,01	0,06	1,00

Corrélations (Statistica)													
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$													
N=21 (Observations à VM ignorées)													
Variable	pH	CE (ms/cm)	Couleur	Proline	Phénols	Flavonoïdes	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	E.Coli	S.aure	K.Pneum
pH	1,00	0,25	0,35	-0,29	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	-0,55	0,21	0,35
CE (ms/cm)	0,25	1,00	0,64	-0,58	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,35	-0,35	0,25
Couleur	0,35	0,64	1,00	-0,58	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	-0,17	-0,22	0,46
Proline	-0,29	-0,58	-0,58	1,00	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,11	0,37	-0,41
Phénols	0,48	0,54	0,94	-0,43	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	-0,17	-0,04	0,42
Flavonoïdes	-0,00	0,60	0,85	-0,38	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,02	-0,21	0,22
ABTS	0,22	0,82	0,49	-0,29	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,11	0,06	0,20
DPPH	0,03	0,78	0,32	-0,04	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,33	-0,00	0,02
FRAP	-0,27	-0,20	0,33	-0,35	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50	-0,26	0,08
Pouv redu	0,35	-0,16	-0,14	0,53	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,55	0,26	-0,11
E.Coli	-0,55	-0,35	-0,17	-0,11	-0,17	0,02	-0,11	-0,33	0,50	-0,55	1,00	0,09	-0,01
S.aure	0,21	-0,35	-0,22	0,37	-0,04	-0,21	0,06	-0,00	-0,26	0,26	0,09	1,00	0,06
K.Pneum	0,35	0,25	0,46	-0,41	0,42	0,22	0,20	0,02	0,08	-0,11	-0,01	0,06	1,00

Corrélations (Statistica)													
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$													
N=21 (Observations à VM ignorées)													
Variable	pH	CE (ms/cm)	Couleur	Proline	Phénols	Flavonoïdes	ABTS	DPPH	FRAP	Pouv redu	E.Coli	S.aure	K.Pneum
pH	1,00	0,25	0,35	-0,29	0,48	-0,00	0,22	0,03	-0,27	0,35	-0,55	0,21	0,35
CE (ms/cm)	0,25	1,00	0,64	-0,58	0,54	0,60	0,82	0,78	-0,20	-0,16	-0,35	-0,35	0,25
Couleur	0,35	0,64	1,00	-0,58	0,94	0,85	0,49	0,32	0,33	-0,14	-0,17	-0,22	0,46
Proline	-0,29	-0,58	-0,58	1,00	-0,43	-0,38	-0,29	-0,04	-0,35	0,53	-0,11	0,37	-0,41
Phénols	0,48	0,54	0,94	-0,43	1,00	0,78	0,52	0,31	0,23	0,02	-0,17	-0,04	0,42
Flavonoïdes	-0,00	0,60	0,85	-0,38	0,78	1,00	0,55	0,49	0,43	-0,12	0,02	-0,21	0,22
ABTS	0,22	0,82	0,49	-0,29	0,52	0,55	1,00	0,85	-0,35	-0,08	-0,11	0,06	0,20
DPPH	0,03	0,78	0,32	-0,04	0,31	0,49	0,85	1,00	-0,49	0,18	-0,33	-0,00	0,02
FRAP	-0,27	-0,20	0,33	-0,35	0,23	0,43	-0,35	-0,49	1,00	-0,47	0,50	-0,26	0,08
Pouv redu	0,35	-0,16	-0,14	0,53	0,02	-0,12	-0,08	0,18	-0,47	1,00	-0,55	0,26	-0,11
E.Coli	-0,55	-0,35	-0,17	-0,11	-0,17	0,02	-0,11	-0,33	0,50	-0,55	1,00	0,09	-0,01
S.aure	0,21	-0,35	-0,22	0,37	-0,04	-0,21	0,06	-0,00	-0,26	0,26	0,09	1,00	0,06
K.Pneum	0,35	0,25	0,46	-0,41	0,42	0,22	0,20	0,02	0,08	-0,11	-0,01	0,06	1,00

Protocole de préparation des réactifs et solutions utilisées dans les analyses du miel

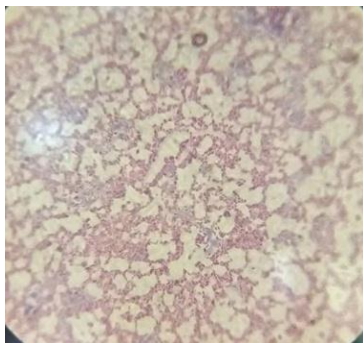
Solution / Réactif	Préparation
Réactif de Bradford	50 mg de Bleu de commassie brillant G-250. 25 ml d'Ethanol. 50 ml d'Acide phosphorique (H ₃ PO ₄) à 85 %. 500 ml d'Eau distillée.
Solution d'ABTS concentrée (7mM)	0,018 g d'ABTS + 0,0033 g de Potassium persulfate(K ₂ S ₂ O ₈) + 5 ml d'eau distillée.
Solution de FRAP	(300 mM de tampon acétate de sodium, Ph= 3,6) TPTZ (10 mM dans 40 mM d'HCL) et 20 mM de la solution de chlorure de fer (FeCl ₃ , 6H ₂ O) sont mélangés avec un rapport de 10/1/1 (v / v/ v).
Tampon phosphate (Ph=6,6)	Solution acide [2,84 g/ 100 ml d'H ₂ O de sodium d'hydrogène orthophosphate (H ₂ NaO ₄ P, 2H ₂ O)] + Solution base [2,40 g / 100 ml d'H ₂ O de Phosphate dissodique (Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O)].
Gélose à base de Muller-Hinton	19 g de la gélose est dissoute dans 500 ml d'eau distillée chauffée et mélangée pendant 20 min sur une plaque agitatrice) riche en extrait de viande, amidon et l'agar. La MH a une meilleur diffusion et beaucoup plus rapide comparant à la gélose nutritive.

Activité antibactérienne

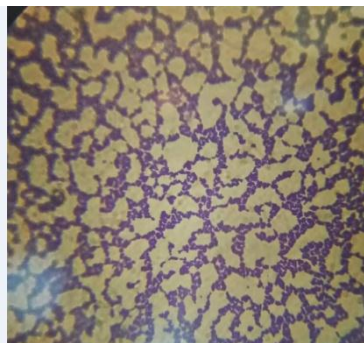
Test de pureté (coloration de Gram)

- Une goutte d'eau est déposée sur une lame.
- Prélèvement d'une colonie bactérienne et la déposer sur la goutte.
- Etalement de la colonie sur toute la surface de la lame.
- Séchage au-dessus du bec benzène.
- L'ajout de violet de gentiane (2min).
- L'ajout de lugol (2×45 s).
- Décoloration pendant 30 s avec l'éthanol 96°.
- L'ajout de la fuchsine (2min).
- Rinçage.
- Séchage.
- Observation à l'immersion ($G \times 100$).

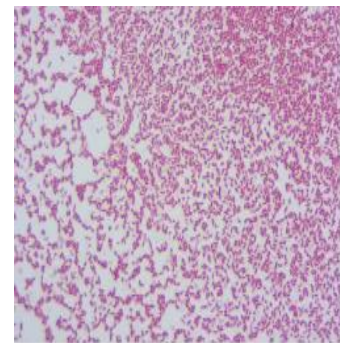
Résultats de test de pureté ($G \times 100$)



E. coli, petite cocobacille
Gram-



S. aureus, Cocci
Gram+



K. pneumoniae, Cocobacille
Gram-

Tableau I : Mesure des zones d'inhibition vis à vis des 3 souches bactériennes.

Echantillons	<i>Escherichia coli</i> ATCC : 25922	Degré de sensibilité	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC : 25923	Degré de sensibilité	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC : 700603	Degré de sensibilité
M1	10,67±1,53 ^b	+	23,33±2,52 ^a	+++	12,67±2,08 ^a	+
M2	9,00±1 ^b	+	21,67±1,53 ^a	+++	12,33±1,53 ^a	+
M3	0,00±0,00 ^a	-	15,67±5,51 ^b	++	12,00±1,00 ^a	+
M4	8,00±1 ^d	+	20±3,61 ^b	+++	10,33±2,08 ^a	+
M5	10,33±3,21 ^c	+	21,33±3,51 ^b	+++	12,33±1,53 ^a	+
M6	7,67±0,58 ^d	-	27±3,61 ^c	+++	10,33±1,15 ^a	+
M7	0,00±0,0 ^a	-	27±3,00 ^c	+++	12,33±2,08 ^a	+
FC	0,00±0,00	-	30,33±1,53	+++	23,00±1,73	+++
NA	24,33±3,79	+++	9,00±1,00	+	0,00±0,00	-
VA	0,00±0,00	-	18,33±0,58	++	20,33±1,15	+++
Intervalle des zones d'inhibition	[0,00-10,67]		[0,00-27,00]		[0,00-12,67]	

Tableau II : L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.

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

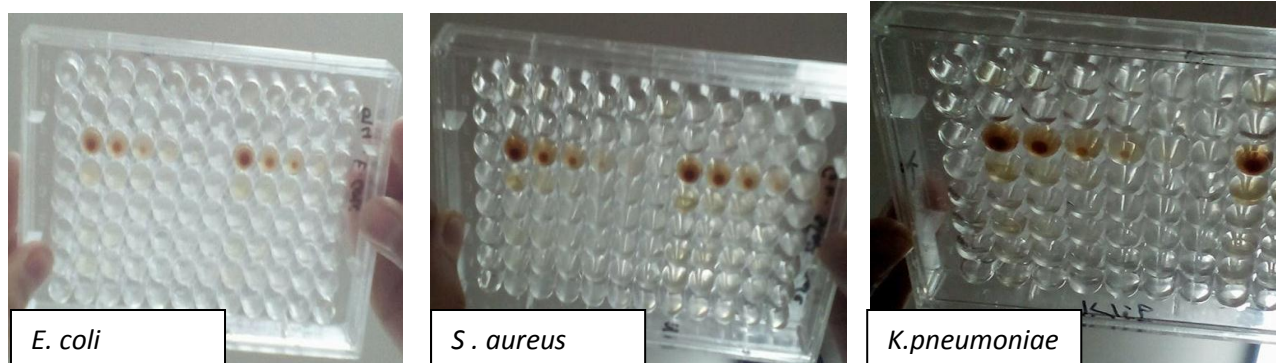


Figure 01 : Résultats de la microdilution sur plaque.

Résumé

La présente étude est menée dans le but de caractériser les paramètres physico-chimiques, la palynologie, l'activité antibactérienne vis-à-vis *S.aureus*, *K.pneumoniae* et *E.coli* ainsi que les activités antioxydantes en vue de déterminer une corrélation de l'activité antiradicalaire et couleur du miel. Suite aux analyses polliniques, 28,6 % des miels analysés sont monofloraux. La majorité des miels respectent les normes de codex pour l'humidité qui oscille entre 12,44 et 19,96 %. Le pH et la conductivité électrique avec des moyennes de 3,91 et 0,56 ms / cm respectivement. La couleur montre une richesse des miels en antioxydants. Les miels ne sont pas falsifiés suite aux résultats de la teneur en proline mais ils sont lévogyres d'après les résultats de l'activité optique. Le taux moyen d'HMF est de 22,81 mg / kg, sauf le miel M7 qui dépasse la norme autorisée. L'étude de l'activité phytochimique montre l'existence d'une variabilité de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes au sein des échantillons d'où les miels analysés présentent des activités antioxydantes variables avec les différentes méthodes. Ces variations sont dues essentiellement à l'origine florale et géographique. Des corrélations positives sont observées entre la couleur, les antioxydants et l'activité antiradicalaire. Les 3 souches sont affectées par les différents miels suite aux résultats de test de sensibilité dans un milieu solide et dans un milieu liquide, avec une légère résistance d'*E.coli*. Ces résultats confirment la bonne qualité thérapeutique du miel et sa richesse en antioxydants.

Mots clés: miel, caractéristiques physico-chimiques, couleur, activité antiradicalaire, activité antibactérienne, analyse pollinique.

summary

The present study is carried out with the aim of characterizing the physicochemical parameters, palynology, antibacterial activity against *S. aureus*, *K.pneumoniae* and *E. coli* as well as antioxidant activities in order to determine a correlation of the anti-free radical activity and the color of the honey. Following the pollen analyzes, 28.6 % of the honeys analyzed are monofloral. The majority of honey meets the standards of codex for moisture that oscillates between 12, 44 and 19.96 %. PH and electrical conductivity with averages of 3.91 and 0.56 ms / cm respectively. The color shows a richness of honeys in antioxidants. Honeys are not falsified as a result of the proline content but are levorotatory from the results of optical activity. The average level of HMF is 22.81 mg / kg, except for honey M7 which exceeds the permitted standard. The study of phytochemical activity shows the variability in the content of phenolic compounds and flavonoids in the samples from which the honeys analyzed exhibit antioxidant activities that vary with the different methods. These variations are due mainly to the floral and geographical origin. Positive correlations are observed between color, antioxidants and antiradical activity. The three strains are affected by the various honey following the sensitivity test results in a solid medium and in a liquid medium, with a slight resistance of *E.coli*. These results confirm the good therapeutic quality of honey and its richness in antioxidants.

Key words: honey, physicochemical characteristics, color, antiradical activity, antibacterial activity, pollen analysis.

ملخص

ان هذه الدراسة اجريت بهدف تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية، تحاليل حبوب الطلع، النشاط المضاد للبكتيريا إضافة الى الانشطة المضادة للاكسدة بغية تحديد علاقة نشاط مضاد الراديكالية و لون العسل. تبعا لتحليل حبوب الطلع 28.6 % من العسل هو من نوع أحادي الازهار. اغلبيه العسل مطابق للمقاييس الدولية من حيث نسبة الرطوبة التي تتراوح بين 12.44 و 19.96 %. درجة الحموضة وناقلية الكهرباء بمعدل 3.91 و 0.56 ملس/ اسم على التوالي. اللون يظهر غناء العسل بمضادات الاكسدة. عينات العسل ليست مزورة تبعا لنتائج محتوى البرولين لكنها ايسرية الدوران حسب نتائج النشاط الضوئي. متوسط كمية HMF هو 22.81 ملغ / كلف. العسل 7 هي العينة الوحيدة التي لا تطابق المعايير الدولية من حيث HMF. سمحت دراسة النشاط الفيتوكيميائي بإظهار وجود أنشطة مختلفة مضادة للاكسدة تتناسب مع اختلاف البوليفينول والفلافونويد. هذا الاختلاف راجع اساسا الى اختلاف المصدر النباتي والجغرافي للعينات. يوجد ارتباط إيجابي بين اللون، مضادات الاكسدة والنشاط المضاد للاكسدة كل البكتيريا متأثرة بالعسل المستعمل حسب نتائج اختبار التأثير مع اظهار وجود مقاومة طفيفة من *E.coli*. هذه النتائج تؤكد التأثير العلاجي الجيد للعسل و غنائه بالمواد المضادة للاكسدة

كلمات المفتاح: العسل، الخصائص الفيزيوكيميائية، اللون، نشاط مضاد الراديكالية، نشاط مضاد للبكتيريا، تحاليل حبوب الطلع.