

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Fin de Cycle

En vue d'obtention du diplôme de Master

Option : Biochimie appliquée

Thème

*Caractéristiques physico-chimiques,
activités antioxydante et antibactérienne
de quelques miels Algériens*

Présenté par :

M^{elle} BARA Djahida

M^{elle} BECHAR Massissilia

Membres de jury :

Présidente : M^{me} DEBBACHE N (MAA)

Promoteur : M^r OUCHEMOUKH S (MCA)

Examineurs : M^{me} ALIOUI S. (MAB)

M^{me} BENMESSAOUD (MAA)

2013 -2014

Remerciements

*Nous rendons grâce à Dieu, le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir
donné le courage et la patience pour mener à bien
et à terme ce modeste travail.*

*Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre promoteur **Mr Ouchemoukfi
salim**, pour nous avoir proposé cet intéressant sujet et pour ses
précieus conseils et encouragements, sans lesquels
cette étude n'aurait pas vu le jour. Merci pour votre confiance, votre disponibilité
et vos encouragements.*

*Nous remercions tous particulièrement les membres de jury, en l'occurrence **M^{me} Debbache N,
M^{me} Alioui S et M^{me} Ben Messaoud Y** d'avoir accepté d'évaluer notre travail et pour
l'intérêt qu'ils y portent.*

*De très précieux remerciements vont à **Mr Bendjeddou** qui nous a permis de réaliser une
grande partie de notre travail au sein de son laboratoire et qui n'a pas hésité de nous venir
humblement en aide, et nous a jamais privé de son savoir.*

*Nous souhaitons remercier chaleureusement Monsieur **Hadjal Samir**, Directeur adjoint
recherche et développement de l'entreprise **Cévital** de Bejaia,
qui a accepté de nous accueillir, afin de réaliser le pouvoir rotatoire de nos échantillons du
miel ainsi que pour à nous disposition de tous les moyens humains et techniques
afin de mener à bien les tâches qui nous incombent.*

Au cours de cette formation, on à eu la chance de rencontrer Mr Belaid qu'on tient à remercier très sincèrement pour sa collaboration et son aide.

Nos remerciements vont également à Monsieur djemaoune lounis Chef Laboratoire Microbiologie, à Cevital et tarik pour leur disponibilité, et leur aide scientifique sur la partie microbiologie.

Nous ne remercierons jamais assez laïla ziani pour les nombreux services qu'elle nous a rendus durant la réalisation de ce travail, qu'elle trouve ici le témoignage de nos remerciements les plus amicaux

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des doctorants et ingénieur du laboratoire biochimie alimentaire qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions

Un grand merci à nos familles, pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous ont permis de chercher au plus profond fond de nous même la force, la volonté et la persévérance à même d'arriver à cet instant des plus important de notre vie.

Un merci pudique à nos amis, nos collègues en Master 2 et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de cette œuvre.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Spécialement à mon père en témoignage d'un profond amour, de grande reconnaissance et pour tous les sacrifices qu'il a consentis pour mon éducation et mon bonheur.

À ma chère mère pour ses sacrifices depuis qu'elle m'a mise au monde, à qui je dois énormément et qui a tant cru en moi.

À mes très chers frères et sœur : Massi, jugou, Hani et Tinhinan qui m'ont toujours soutenu, encouragés et poussés à donner le meilleur de moi-même.

À tous mes cousins et cousines, en particulier Youba, Hamza, Imane et Dania.

À mes meilleurs amis (e) qui m'ont appuyé chacun de leur manière :

Sonia, Amel, Lydia, Nawel, Sihem, Lamia, Youba, Dida, Walid, Sofiane, Zazi, Belly,

Imane

et plus spécialement

à Riad

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

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

À ma collègue Djahida et à toute la promo de Biochimie Appliquée 2013/2014, en particulier : Nesrine, Lina, Ayache, Narimène, Souria et Abdou.

Que dieu vous protège tous

Massissilia.

Dédicaces

*Quoi que de plus que de pouvoir partager les meilleurs moments de sa vie
avec les êtres qu'on aime.*

Arrivé au terme de mes études, j'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais
cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son
amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

A mes chères sœurs et à mes chers frères

A mon cher fiancé SALAH

*Que dieu réunisse nos chemins et que ce travail soit témoignage de ma
reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle*

Mes meilleurs amies chacune à son nom

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

A ma collègue Massisilia et à toute la promo de Biochimie Appliquée

2013/2014.

Que dieu vous protège tous

Djahida .

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

1

Partie Théorique

Chapitre 1 : Généralités sur le miel

1. Définition	3
2. Origine et variétés.....	3
2.1.Miel issu du nectar.....	4
2.2.Miel issu du miellat.....	4
3. Elaboration et récolte.....	6
4. Composition moyenne.....	7
4.1.Composants majeurs.....	7
4.1.1. Glucides.....	8
4.1.2. Eau.....	9
4.2. Composants mineurs.....	9
4.2.1. Acides aminés et protéines.....	9
4.2.2. Enzymes.....	10
4.2.3. Lipides.....	10
4.2.4. Sels minéraux.....	11
4.2.5. Acides organiques.....	11
4.2.6. Substances aromatiques.....	11
4.2.7. Vitamines.....	12
4.2.8. Composés phénoliques.....	12
4.2.9. Hydroxyméthyl- furfural (HMF).....	13
4.2.10. Diverses substances.....	14
5. Cas particuliers d'intoxication.....	14
5.1.Miels Toxiques.....	14
5.2. Le Botulisme infantile.....	15

Chapitre 2: Propriétés du miel

1. Caractéristiques physico-chimiques.....	17
1.1.Densité.....	17
1.2.Viscosité.....	17
1.3. pH et acidité.....	18
1.4. Indice de réfraction et humidité.....	19
1.5.Conductivité électrique.....	19
1.6. Pouvoir rotatoire.....	19
1.7. Couleur.....	19
1.8. Hygroscopie.....	20
2. Activités biologiques du miel.....	21
2.1. Activité antioxydante.....	21

2.2. Activité antibactérienne.....	22
2.2.1. Origine de l'activité.....	23
2.2.1.1.Osmolarité.....	23
2.2.1.2.Effet du pH.....	24
2.2.1.3.Inhibines.....	24
2.2.2. Spectre antibactérien des miels.....	27
2.2.3. Variation de l'activité antibactérienne.....	28
2.3. Propriétés thérapeutiques.....	28

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Echantillons de miels.....	29
2. Analyses physico-chimiques.....	30
2.1.Humidité.....	30
2.2. Ph.....	30
2.3. Conductivité électrique.....	30
2.4.Hydroxyméthylfurfural (HMF).....	31
2.5. Pouvoir rotatoire.....	31
2.6. Couleur	32
2.7. Proline.....	32
2.8. Dosage des protéines.....	33
3. Antioxydants et activités antioxydantes.....	33
3.1. Les antioxydants.....	33
3.1.1. Dosage des composés phénoliques totaux	33
3.1.2. Flavonoïdes.....	34
3.1.3. Ortho-diphénols	34
3.2. Activités antioxydantes	34
3.2.1. Activités antiradicalaires	34
3.2.1.1 Par le DPPH	34
3.2.1.2. Par l'ABTS	35
3.2.2. Pouvoir réducteur	36
3.2.3. Test de FRAP	36
3.2.4. Pouvoir chélateur du fer	36
3.2.5. Réduction de molybdate.....	37
4. Activité antibactérienne.....	37
5. Analyse statistique.....	38

Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques.....	39
1.1. Humidité	39
1.2. pH.....	41
1.3. Pouvoir rotatoire.....	41
1.4. Conductivité électrique.....	42
1.5. Couleur.....	43

1.6. Hydroxyméthyl-furfural.....	44
1.7. Protéines	46
1.8. Proline.....	46
2. Antioxydants et activités antioxydantes.....	47
2.1. Antioxydants.....	47
2.1.1. Polyphénols totaux.....	47
2.1.2. Ortho-diphénol.....	50
2.1.3. Flavonoïdes	50
2.2. Activités antioxydantes.....	51
2.2.1. Activité scavenging du radical DDPH.....	52
2.2.2. Activités antiradicalaires Par l'ABTS.....	53
2.2.3. Pouvoir réducteur.....	55
2.4. Test de FRAP.....	56
2.5. Pouvoir chélateur du fer.....	58
2.6. Réduction du molybdate.....	59
3. Activité antibactérienne.....	60
4. Corrélations.....	66
Conclusion générale et perspective.....	67
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

A_{bs} : Absorbance

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

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

ATCC : American Type Culture Collection

AVUC : Analyse de la Variance à Un seul Critère de Classification

A_w : Water Activity

BSA : Bovin Serum Albumin

CE : Conductivité Electrique

CFU : Colony-forming unit

EAG : Equivalent Acide Gallique

EBSA : Equivalent Bovin Serum Albumin

E. coli : *Escherichia coli*

EQ : Equivalent quercétine

DHA : Dihydroxyacétone

DPPH : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl

FRAP: Ferric reducing antioxydant power

HMF : Hydroxyméthylfurfural

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

kDa : Kilodalton

LSD : Least significant difference

M : Miel

meq : Milliéquivalent

m/v : masse/ volume

mg : Milligramme

MGO : Méthylglyoxal

ml : Millilitre

min: Minute

Mo_{IV} : Molybdate-IV

Mo_V : molybdate-V

mS : Millisiemens

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pH : Potentiel d'hydrogène

PR : Pouvoir réducteur

r : Coefficient de corrélation

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

Sec : Seconde

T° : Température

µg : Microgramme

µS : Microsiemens

Liste des figures

Figure 1 : Composition moyenne du miel.....	8
Figure 2 : Humidité des miels analysés.....	40
Figure 3 : pH des miels analysés.....	40
Figure 4 : Conductivité électrique des miels analysés.....	42
Figure 5 : couleur des miels analysés.....	43
Figure 6 : HMF des miels analysés.....	45
Figure 7 : Protéines des miels analysés.....	45
Figure 8 : prolines des miels analysés.....	47
Figure 9 : Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés.....	49
Figure 10 : Teneurs en orthodiphénols des miels analysés.....	49
Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.....	51
Figure 12 : Activités antiradicalaires avec le DPPH des miels analysés.....	53
Figure 13 : Activités antiradicalaires avec l'ABTS des miels analysés.....	54
Figure 14 : Pouvoir réducteur des miels analysés.....	56
Figure 15 : Testes de FRAP des miels analysés.....	56
Figure 16 : Pouvoir chélateur du fer des miels analysés.....	59
Figure 17 : Activité antioxydante au phosphomolybdate des miels analysés.....	60
Figure 18 : Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance de <i>S. aureus</i>	63
Figure 19 : Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance de <i>S.aureus</i> à 75%.....	63
Figure 20 : Effet inhibiteur de différents types de miels sur la croissance d' <i>E. Coli</i>	64

Figure 21 : Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance d' <i>E.coli</i> à 75%	64
Figure 22 : Activité antibactérienne des miels vis avis <i>S. aureus</i>	65
Figure23 : Corrélations entre les antioxydants.....	68
Figure 24 : Corrélations entre la couleur, les composés phénoliques et la conductivité électrique...68	
Figure 25 : Corrélations antioxydant et activité antioxydante.....	70
Figure 26 : Corrélations couleur et activités antioxydante.....	70

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales différences entre miels de nectar et de miellat.....	5
Tableau 2 : La durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/Kg de miel en fonction de la température de stockage.....	13
Tableau 3: Influence de l'humidité et de la présence de levures sur le risque de fermentation du miel.....	18
Tableau 4: Normes pour certains paramètres physico-chimiques du miel selon le Codex....	20
Tableau 5 : Echantillons de miels analysés (région, état, couleur).....	29
Tableau 6: mélanges effectués pour dosage de la proline.....	32
Tableau 7 : Pouvoir rotatoire et leurs écarts types des miels analysé.....	41

Introduction

Introduction

La connaissance et l'utilisation du miel par l'homme remonte au temps les plus reculés de son histoire, il fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité. Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Le miel est une solution hautement concentrée en sucres, dont les principaux sont le fructose et le glucose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs tels que les minéraux, les protéines, les vitamines, les acides organiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes,... (Azeredo *et al.*, 2003).

L'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est dû généralement au phénomène de l'antibio-résistance (Yoneyama et Katsumata, 2006). La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Par ailleurs, les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaire ont été questionnés au cours des dernières années (Badawy *et al.*, 2004 ; Baltrusaityte *et al.*, 2007 ; Yao *et al.*, 2011).

Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques. C'est ainsi que des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent pas généralement des effets secondaires. Le miel compte parmi ces produits les plus convoités. En raison de ses vertus inhibitrices et thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel (Rozaini *et al.*, 2004 ; Dunford *et al.*, 2010).

Par sa composition très variée et selon son origine florale, le miel a d'innombrables applications et une action thérapeutiques très variable (Brudzynski, 2006). Les importants composés responsables de l'activité antioxydante sont les composés phénoliques totaux (généralement les flavonoïdes et les acides phénoliques) dotés d'un puissant effet antioxydant et emprisonnent ainsi les radicaux libres néfastes (Siesset *et al.*, 1996). En outre, Il a été clairement démontré que plusieurs mécanismes sont impliqués dans les propriétés antibactériennes du miel qui agissent en synergie, notamment l'osmolarité, le pH acide, le système peroxyde d'hydrogène et la présence de facteurs phytochimiques, de défensine-1 et de méthylglyoxal. De plus, de nombreux travaux scientifiques démontrent que

le miel présente des activités spécifiques favorisant les différentes phases nécessaires à la cicatrisation et témoignent ainsi de son efficacité pour les traitements des brûlures, des blessures infectées et des ulcères (Aljadiet *al.*, 2004 ; Couquetet *al.*, 2013 ; Vallianouet *al.*, 2014).

Dans le but d'éviter la falsification et de conserver la qualité des miels, la commission internationale du miel, créée en 1990 a standardisé certaines méthodes d'analyses du miel (humidité, teneur en sucres, pH, proline, conductivité électrique, Hydroxyméthylfurfural (HMF)...) (Bogdanov, 2002). Ces paramètres sont utilisés comme critères de qualité du miel. Par ailleurs, Al-Mamaryet *al.* (2002) considèrent aussi que les composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel sont des critères de qualité.

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche dont le but principal est l'établissement des caractéristiques physico-chimiques de quelques échantillons de miels Algériens et la détermination de leurs pouvoirs antioxydant et antibactérien.

Trois parties seront développées dans la présente étude :

- ❖ Présentation du miel dans sa globalité ;
- ❖ Développement des protocoles utilisés (analyse physico-chimique, dosage en antioxydants et la détermination du pouvoir antioxydant et antibactérien) sur 20 échantillons de miels ;
- ❖ Présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

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

Chapitre 1 :
Généralités sur le miel

Chapitre 1 : Généralités sur le miel

1. Définition

Le Codex Alimentaire(2001) et le journal officiel des communautés européennes(2002)définissent le miel comme suit :

« Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou des sécrétions de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur elles par des insectes suceurs qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche».

La définition légale du miel est adoptée par plusieurs pays et vise la protection du consommateur contre les différents types de fraudes susceptibles d'être pratiqué.

2.Origines et variétés

Les plantes mellifères produisent le nectar ou permettent la fabrication du miellat par les homoptères, qui sont ensuite récoltés par les butineuses puis transformés en miel. De ce fait, il existe plusieurs types de miels : miels de nectar et miels de miellat (Sanz *et al.*, 2005). Selon leur origine botanique les miels peuvent être divisés en :

2.1. Miels issus de nectar

Le nectar, qui est en général la source principale de miel, est le liquide sucré et parfumé que les abeilles butinent au sein des fleurs. Cette substance sucrée est produite par des organes propres aux végétaux à fleurs, dits nectaires. Ce sont des structures glandulaires de petites dimensionsqui reçoivent un canal acheminant la sève de la plante. Les nectaires floraux ; le plus souvent situés à la base des fleurs, et les nectaires extra-floraux qui peuvent se trouver sur les feuilles et les tiges (Bogdanov *et al.*,2004; Marchenayet Bernard, 2007). Le nectar est un mélange composé d'eau, de glucides dont le saccharose et divers autres produits. Les proportions des glucides varient d'une plante à une autre et influent sur la qualité du miel (Schweitzer, 2005).

Outre les glucides et l'eau, à de faibles quantités, le miel contient des acides organiques (acides fumarique, oxalique, succinique, malique, etc.), des protéines

notamment des enzymes, des acides aminés libres (acide glutamique, aspartique, méthionine, sérine, tyrosine, etc.), composés inorganiques (phosphate), des alcaloïdes, des phénols, de substances bactéricides... (Gardener et Gillman, 2001 ; Nicolson et Thornburg, 2007 ; Bonté et Dismolière, 2013). Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui confèrent au miel sa saveur et son parfum. Selon, Diez *et al.* (2006), les miels de nectar de fleurs peuvent être divisés en deux groupes :

- **Miels monofloraux**

Du point de vue théorique, un miel unifloral est un miel naturel, provenant principalement d'une seule espèce florale déterminée, tel que le miel d'Eucalyptus et d'Oranger (Bogdanov *et al.*, 2004). Dans la nature, de tels miels peuvent être considérés comme exceptionnels, puisqu'il est impossible d'obtenir un miel monofloral à 100%, car l'abeille garde toujours sa liberté de butiner où bon lui semble (Nazarian *et al.*, 2010).

Pour fabriquer 1kg de miel, les abeilles doivent butiner des millions de fleurs afin de recueillir suffisamment de nectar, ce qui est impossible pour les miels monofloraux. Cependant, lorsque la proportion des grains de pollens d'une seule plante représente plus de 45% de l'ensemble du pollen, le nom de cette plante est donné au miel (Bonté et Desmoulière, 2013).

- **Miels multifloraux**

Appelés parfois miels toutes fleurs, ce sont des miels récoltés à partir de plusieurs espèces florales, qui proviennent de mélange sans prédominance et donc sans origine florale précise (Barbara, 2009). Les miels polyfloraux ne sont pas susceptibles d'avoir une appellation florale, ce qui ne les empêche pas de pouvoir prétendre à une excellente qualité (Bonté et Desmoulière, 2013).

2.2. Miels issus de miellat

Le miellat est produit par les homoptères vivant sur les plantes, telles que les psylles, cochenilles et pucerons, qui émettent des sécrétions sucrées, recueillies par les abeilles au même titre que le nectar des fleurs (Barbara 2009; Codex alimentarius, 2001). Il est aussi émis à travers les orifices stomatiques des feuilles lorsque l'été est très sec (Biri, 1986).

Ces insectes munis d'un appareil buccal, piqueur suceur, prélèvent la lymphe végétale dont ils se nourrissent en perforant la plante qui les abrite (Bruneau, 2004). Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et en sucres complexes (Bontéet Desmoulière, 2013). Le miellat tire son nom de la présence de mélézitose ; un trisaccharide contenu dans le miellat, formé dans le tube digestif de ces insectes. Il sert à estimer la présence de miellat dans le miel, si sa teneur est supérieure à 0,5g/100g, on peut admettre que le miel contient du miellat (Bogdanov, 2005). Ces différentes caractéristiques permettent d'identifier les miels de miellats (Rossant, 2011) (tableau I).

Il est difficile d'observer les abeilles effectuer ce type de butinage. Il a été montré qu'en présence d'une grande quantité de nectar, elles délaissent le miellat. Cependant, lorsque les conditions climatiques sont défavorables, les miellats peuvent représenter une source nutritive intéressante pour l'abeille (Rossant, 2011).

Tableau 1 : Principales différences entre miels de nectar et de miellat (Rossant, 2011)

Paramètres	Miel de miellat	Miel de nectar
pH	4,50	3,90
Minéraux (cendres)	0,58%	0.26%
Fructose+ glucose	61,60%	74%
Autres sucres exprimés en % des sucres totaux		
Mélézitose	86%	0.2%
Raffinose	0,84%	0.03%
Maltose + isomaltose	9,60%	7,80%

3. Elaboration et récolte

- **Elaboration**

Le premier stade de formation du miel consiste dans l'aspiration du nectar ou de miellat des fleurs par la trompe de l'abeille butineuse, cette dernière effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes (Bruneau, 2002). Le changement de la solution sucrée (nectar ou miellat) commence déjà lors du voyage, au cours duquel elle est accumulée dans le jabot des abeilles (Huchet *et al.*, 1996).

C'est dans son tube digestif que s'amorce la longue transformation du nectar ou du miellat et leur donne son empreinte personnelle. Afin que l'aspiration soit plus facile, l'abeille dilue le nectar avec de la salive ; mélange de sécrétions riches en enzymes, provenant des glandes pharyngiennes (Marchenay et Bernard, 2007).

Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. A son retour, la butineuse régurgite sa charge, la passe aux ouvrières, qui elles-mêmes la communiquent à d'autres et ainsi de suite (phénomène de trophallaxie). D'une abeille à autre, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de suc gastrique et de substances salivaires : invertase, diastase et gluco-oxydase (Marchenay et Bernard, 2007).

Sous l'effet de ces enzymes particulières, principalement la gluco-invertase, le saccharose se transforme au niveau du jabot en glucose et fructose. Une autre enzyme, la glucose-oxydase catalyse l'oxydation de certaines molécules de glucose en acide gluconique, ce qui confère au miel son acidité. Lors de cette réaction, du peroxyde d'hydrogène est également produit (Jean-Prost, 2005). La goutte épaissie est déposée dans une alvéole. A ce moment là, la solution sucrée transformée, qui contient encore 50% d'eau environ subit une nouvelle concentration par évaporation, qui s'effectue sous la double influence (Lobreau-Callenet *al.*, 1999):

- ✓ La chaleur régnante dans la ruche et qui est d'environ 36 °C
- ✓ La ventilation assurée par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes.

Lorsque le miel est mature et qu'il a atteint un faible degré d'humidité (en dessous de 20%), la glucose-oxydase devient inactive et le produit se stabilise.

C'est là que les abeilles cirières recouvrent les alvéoles à l'aide d'une fine couche de cire, imperméable à l'air, ce qui permet une longue conservation du miel (Huchet *et al.*, 1996; Marchenay et Bernard, 2007). Selon Emmanuelle (1996), la quantité emmagasinée dans la ruche est largement supérieure aux besoins immédiats de la colonie, l'abeille possède un fort instinct de stockage.

- **Récolte**

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée (correspondant à une période de production de nectar par la flore susceptible d'en fournir) quand les $\frac{3}{4}$ des alvéoles des rayons de cires sont operculées (Jean-Prost *et al.*, 2005).

L'apiculteur retire les cadres de miel, mais en laissant aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver, si la saison est avancée. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, il transporte les hausses dans la miellerie, et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer (Hochet, 2002). Deux techniques sont exploitées pour extraire le miel (Lobreau-Callenet *et al.*, 1999) :

- ✓ Par Pression;
- ✓ Par centrifugation : soit par extracteur manuel ou électrique. Le miel est ensuite recueilli dans un maturateur (Hochet, 2002).

4. Composition moyenne

Le miel est un produit très complexe (figure1) dont la fabrication demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur sa composition chimique finale (Bonté et Desmoulière, 2013).

La composition quantitative de ce produit d'origine végétale (nectar) ou animale (miellat) est soumise à de nombreux facteurs qu'il est impossible de maîtriser, tels que la nature de la flore butinée, celle du sol sur lequel pousse ces plantes, la race des abeilles, le moment et le mode de la récolte (Jean-Prost *et al.*, 2005). Ses principaux constituants chimiques sont proches de ceux du nectar et du miellat (Bogdanov *et al.*, 2004). Ce produit de la ruche contient approximativement 181 composés (Al-Mamary *et al.*, 2002). Il renferme principalement :

- des glucides (79.5%) ;
- eau (17%) ;
- Autres substances : 3,5%.

La figure 1 présente la composition moyenne du miel :

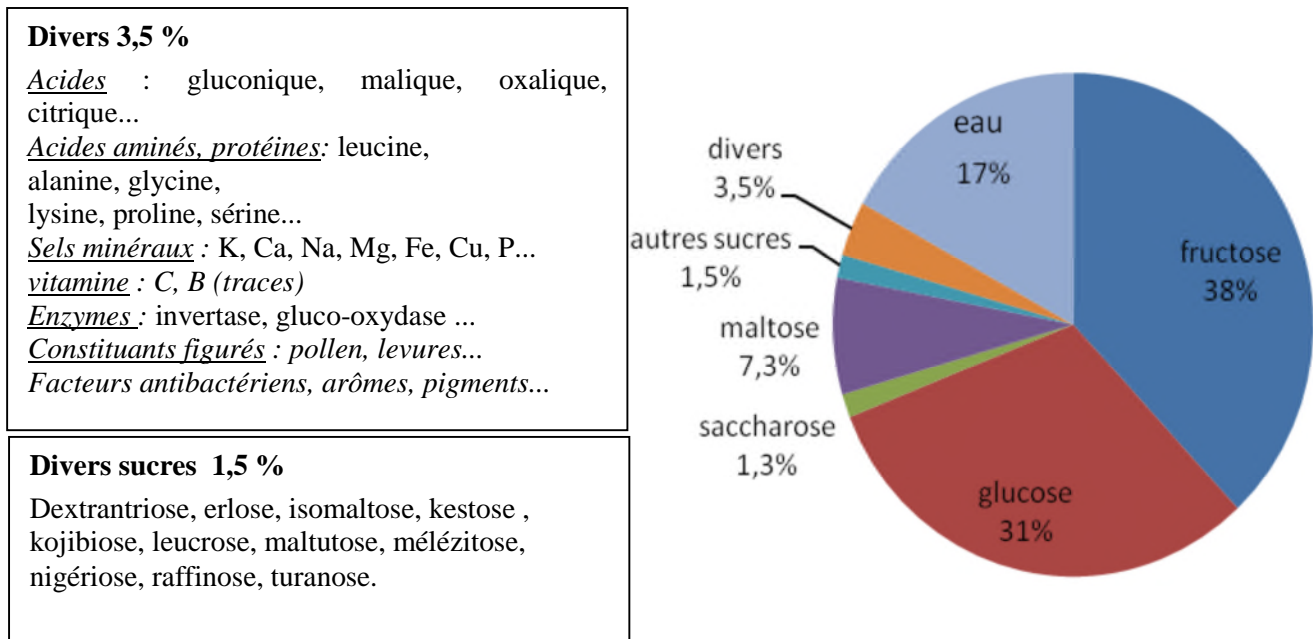


Figure 1: Composition moyenne du miel (Bruneau, 2002)

4.1. Composants majeurs

4.1.1. Glucides

Les glucides constituent la partie la plus importante du miel (75 à 80 %) (Bubaet *al.*, 2013). La plupart de ces sucres ne sont pas trouvés dans le nectar mais ils sont formés durant la maturation et le stockage du miel par l'abeille (Jeferey et Echazaretta, 1996). Parmi ces glucides :

✓ Des monosaccharides (environ 90% des sucres totaux) avec une prédominance du fructose (ou lévulose) davantage que le glucose. La teneur moyenne en fructose est de 38% environ, elle est de 31% pour le glucose. Ils proviennent en grande partie de l'hydrolyse du saccharose (présent dans le nectar ou le miellat) par l'invertase. (Bonté et Desmoulière, 2013 ; Benoit, 2005)

✓ Des disaccharides (ou diholosides). Ce sont principalement le maltose (7,3 %) et le saccharose (1,3 %) (Bonté et Desmoulière, 2013).

✓ Des triet polysaccharides représentent 1,5 à 8%, parmi eux citons: l'erlose, le raffinose, le mélézitose, le kojibiose, le dextrantriase et le mélibiose (Bogdanov, 2011).

La teneur totale en fructose et glucose ne doit pas être inférieure à 60 % d'un miel de fleurs et 45 % pour d'un miel de miellat ou mélange de miel de miellat avec du miel de fleurs. La teneur maximale du saccharose est fixée à 5% avec des exceptions pour certains miels qui sont naturellement plus riches (Jusqu'à 15% dans le miel de lavande)(Décret n°2003-587 du 30 juin 2003).

4.1.2. Eau

La teneur en eau est l'une des caractéristiques les plus importantes des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique et dans une certaine mesure sa cristallisation et sa saveur. Cette teneur se situe la plupart du temps entre 15-20g/100g de miel (Terrabet *et al.*, 2002 ; Bogdanov *et al.*, 2004).

Selon le Décret n°2003-587 du 30 juin 2003, un miel est d'autant plus fragile que sa teneur en eau est élevée et au-dessus de 18%, le développement des levures n'est plus inhibée (la teneur en levures augmente de 5 fois dans le cas d'un accroissement de la teneur en eau de 1g/100g). Les teneurs en eau élevée sont à mettre au compte d'une récolte précoce et d'un climat humide. Les miels avec une teneur en eau de 15 à 18% ont une bonne cristallisation, ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement (Bogdanov *et al.*, 2004).

4.2. Composants mineurs

4.2.1. Acides aminés et protéines

Les substances azotées ne représentent qu'une infime partie du miel il s'agit d'acides aminés libres et de protéines (0,26%) qui peuvent être présents dans le nectar, provenir des sécrétions de l'abeille et enfin appartenir aux grains de pollen (Manyi-Loh, 2011 ; Benoit, 2005). Il s'agit essentiellement de peptones, des albumines, des globulines et des nucléoprotéines (Bonté et Desmoulière, 2013).

Les recherches les plus récentes ont permis de mettre en évidence 16 acides aminés libres différents, tels que la proline, l'histidine, l'alanine, la glycine ou la méthionine (Meda *et al.*, 2005 ; Bonté et Desmoulière, 2013). Parmi ces acides aminés, la proline est considérée comme le principal acide aminé, sa teneur renseigne sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications (Bogdanov *et al.*, 2004). Nous considérons qu'un miel est arrivé à maturité lorsque sa teneur en proline est supérieure à 183 mg/kg. Des valeurs plus basses indiquent généralement,

un manque de maturité ou une falsification au moyen d'un nourrissage au sucre ou un ajout de sucre dans le miel. La proline est donc un critère d'appréciation de la maturation du miel. Des valeurs élevées en cet acide aminé sont typiques pour les miels de miellat (Meda *et al.*, 2005).

4.2.2. Enzymes

De nombreuses enzymes se retrouvent dans le miel dont leur origine est double : une partie d'entre elles provient du nectar ou du miellat et l'autre partie des sécrétions salivaires des abeilles. Les enzymes sont les constituants les plus importants du miel, les miels de miellats contiennent également les enzymes des homoptères qui ont rejetés ces miellats (Volvolà et Elechovská, 2002). Les plus connues sont la gluco-invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides, les amylases alpha et bêta (couramment appelée diastases) qui permettent la dégradation de l'amidon, une catalase, une phosphatase et une glucose-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (Vorlová et Přidal, 2002 ; Serrano *et al.*, 2007 ; Manyi-Loh, 2011). Ces enzymes sont sensibles à un apport d'énergie (une température trop élevée ou l'influence de la lumière), elles se décomposent au fur et à mesure que se forme l'hydroxyméthylfurfural (HMF) (Benoit, 2005). Leur présence ou leur absence peut servir d'indicateur pour déterminer les détériorations dues au stockage et au surchauffage (Jeferey et Echazaretta, 1996 ; Benoit, 2005).

4.2.3. Lipides

De très faibles quantités de lipides ont été isolées dans le miel, principalement les acides palmitiques, oléiques et linoléiques.

La fraction lipidique du miel est très faible et, n'a guère fait l'objet de recherches (Jeferey et Echazaretta, 1996 ; Bonté et Desmoulière, 2013).

4.2.4. Sels minéraux

Les matières minérales sont présentes en moyenne de 0,04 à 0,2% pour les miels les plus courants, mais sont plus abondants dans les miels les plus foncés. Les miels de miellats sont plus riches en sels minéraux que ceux de fleurs. Les sels de potassium représentent à eux seuls près de 50% des cendres (Lachman, *et al.*, 2007 ; Bonté et Desmoulière, 2013). Les éléments les mieux présentés dans le miel en dehors du potassium sont : le calcium, le sodium, le cuivre, le magnésium, le chlore, le soufre, le silicium, le fer ainsi que plus de trente oligo-éléments, qui n'existent qu'à l'état de traces, sont trouvés dans le miel (Lachman *et al.*, 2007).

Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent. Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement « propre », le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement (Hochet, 2002 ; Bogdanov *et al.*, 2004).

4.2.5. Acides organiques

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars de fleurs ou des transformations opérées par l'abeille (0,57 à 1,5 %). C'est l'acide gluconique, dérivé du glucose, qui prédomine dans le miel, résultant de l'oxydation du glucose par la glucose oxydase dans les miels dilués (Nafea *et al.*, 2013).

L'origine de l'acide gluconique serait également due à une bactérie appelée gluconobacter, qui, lors de la maturation du miel, transformerait le glucose en acide gluconique. Il existe aussi une vingtaine d'acides organiques tels que les acides acétique, benzoïque, citrique, lactique, malique, oxalique et butyrique. Les lactones assurent parallèlement une fonction acide (Bogdanov *et al.*, 2006 ; Manyi-Loh, 2011)

4.2.6. Substances aromatiques

Le miel renferme des substances aromatiques qui sont à l'origine de l'arôme du miel (Bogdanov *et al.*, 2004). Il s'agit d'alcools, de cétones, d'acides, d'esters, d'acétates et d'aldéhydes. L'antranilate de méthyle est trouvé comme indicateur de miel d'oranger. Les substances aromatiques jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel et conservent le mieux si le miel est stocké au froid

dans des récipients fermés. Cependant, suite à un chauffage, une part de ces substances est anéantie (Sestaet *al.*, 2008).

4.2.7. Vitamines

Le miel est un aliment pauvre en vitamines, puisqu'il présente des teneurs qui sont loin de couvrir les besoins de l'homme et ne comprend aucune vitamine liposoluble (Vitamine A et D). Il s'agit essentiellement de vitamines du groupe B et occasionnellement de vitamine C (Bonté et Desmoulière, 2013). Les vitamines du groupe B sont présentes dans le miel en microgrammes par 100 gramme de miel, qui seraient apportées par le pollen. Ce n'est toutefois pas le cas pour la vitamine C qui provient du nectar. Le miel de menthe (*Mentha aquatica*) a la particularité de contenir de la vitamine C (acide ascorbique) (Hochet, 2002).

4.2.8. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales (Al-Mamary *et al.*, 2002).

Des acides phénoliques (acides benzoliques et cinnamiques), flavonoïdes (flavones et flavonones) sont identifiés en proportions très variables (Al-Mamary *et al.*, 2002). Ces substances sont des antioxydants et dotés d'une activité antioxydante (Marquele *et al.*, 2005). Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-oxydantes très intéressantes, car ils participent à la neutralisation des radicaux libres de l'organisme. Selon Bogdanov (2011), la quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale. Les phénols interviennent sur la coloration par l'intermédiaire des flavonoïdes susceptibles de contribuer à la coloration jaune (Amiot *et al.*, 1989).

Ouchemoukh (2012) a rapporté la présence de 30 composés phénoliques dans les miels algériens. Par ailleurs les flavonoïdes les mieux représentés dans le miel sont: la pinocembrine, la pinobanskine, la chrysin, la galangine, la quercétine, la lutéoline et la kaempférolpinocembrin (Meda, 2005).

4.2.9. Hydroxyméthyl- furfural (HMF)

Le principal critère d'évaluation mesurable de la qualité du miel est la concentration en HMF. L'apparition de ce composé est le résultat de la déshydratation des monosaccharides en hydroxyméthylfurfural: 5-(hydroxyméthyl)-2-furaldehyde (HMF). Les miels frais ne contiennent aucune ou seulement des traces d'HMF (le plus souvent en dessous de 3 mg/kg). Cependant, cette molécule apparaît au cours du processus de vieillissement naturel du miel, l'excès de chaleur et un entreposage prolongé sont des facteurs les plus importants dans ce processus (Bogdanov *et al.*, 2004).

Dans le cas d'un stockage normal, les valeurs en HMF enregistrent annuellement une augmentation d'environ 5 à 10 mg/kg. La durée du stockage ainsi que la température sont les deux paramètres qui rentrent dans sa formation (Vorlova et Elechovska, 2002).

L'analyse de la quantité d'HMF est donc une excellente méthode pour apprécier la qualité d'un miel, des valeurs d'HMF supérieures à 40 mg/kg sont révélatrices d'une perte de qualité. Dans les miels à bas pH (le miel de nectar), l'augmentation de la valeur d'HMF est plus rapide que dans les autres miels (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Vorlova et Elechovska, 2002).

Tableau 2: La durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/Kg de miel en fonction de la température de stockage (Bogdanov *et al.*, 2004)

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

4.2.10. Diverses substances

Le miel renferme aussi, des grains de pollen, des spores, des algues unicellulaires, des levures osmotolérantes et des champignons microscopiques. En raison de la forte pression osmotique, les microorganismes qui parviennent dans le miel ne peuvent pas s'y développer (Schiver, 2006).

5. Cas particuliers d'intoxication

Les cas d'intoxication au miel sont très rares. Il faut cependant faire attention aux espèces de plantes que butinent les abeilles (certaines sont à l'origine de miels toxiques) ainsi qu'aux conditions d'hygiène lors de la récolte du miel (Becker, 2005).

5.1. Miels Toxiques

Il existe de très rares cas d'empoisonnement par le miel. Le plus souvent, il s'agit de miel provenant de plantes de la famille des Ericacées (Schweitzer, 2005a). Il existe des études sur les miels toxiques en particulier de White (1981), Culvenor (1985) de même que de Lampe (1988).

En effet, les principes toxiques de certaines plantes peuvent se retrouver dans le nectar des fleurs et par conséquent, dans le miel. Le constituant majoritaire responsable de la toxicité est la grayanotoxine I, toxine contenue dans les rhododendrons qui se retrouve dans le miel après butinage de ces fleurs par les abeilles. Les symptômes observés une demi-heure à deux heures après ingestion de 1 à 5 cuillères à soupe de miel sont des sueurs, de l'hypotension, de la bradycardie, de la diarrhée et des vomissements. Cette toxine est retrouvée dans certaines espèces de rhododendrons d'Asie mineure (*Rhododendrum luteum* et *Rhododendrum ponticum*), et d'Amérique du Nord (*Rhododendrum maximum*) (Abdulkadiret *al.*, 2006).

Dilberet *al.* (2002) ont décrit un cas d'intoxication avec du miel de Rhododendron en Turquie, chez un enfant de 8 ans, avec perte de conscience pendant 7 heures après l'arrivée aux urgences et après l'ingestion de seulement trois cuillères de ce miel, le Rhododendron est donc une plante à risque dans certaines régions du monde.

Les miels de féverole (*Faba sativa*) peuvent être toxiques (hémorragies internes) pour les personnes allergiques à la plante, notamment au pollen (Abdulkadiret *al.*, 2006).

Bien que l'environnement comprend de nombreuses plantes toxiques, les cas de miels impropres à la consommation dans le monde sont très rares. En effet, pour que le toxique soit en quantité suffisante dans le miel, il faudrait que les abeilles butinent exclusivement des champs entiers de plantes toxiques. Les faits rapportés ne concernent que de rares cas isolés (Bruneton, 1996 ; Abdulkadiret *al.*, 2006).

5.2. Le Botulisme infantile

Le botulisme est une maladie paralysante grave mais rare, causée par une neurotoxine élaborée par une bactérie, le *Clostridium botulinum*. Le botulisme infantile est la forme la plus fréquente et elle pourrait être responsable de certains cas de mort subite. Les cas de botulisme sont très rares en France, souvent dus à des souillures de plaie. Cependant, le botulisme infantile est souvent associé à la consommation de miel de fabrication artisanale (Becker, 2005).

Le miel est susceptible de contenir des spores de *Clostridium botulinum*, bactérie présente dans l'environnement, le sol et les poussières. Dans une actualité du 14 mai 2010, l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) rappelle, conformément aux recommandations de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), que la consommation du miel est déconseillée aux nourrissons de moins de 12 mois. En cas d'ingestion de spores de *Clostridium botulinum*, les défenses immunitaires du nourrisson ne sont passuffisantes pour empêcher la germination des spores bactériennes et la production de la toxine botulique. Cette toxine entraîne des symptômes de constipation, faiblesse générale avec perte de contrôle des mouvements de la tête et paralysie musculaire (Beretaet *al.*, 2004).

Deux modes de contamination du miel peuvent être envisagés : par les abeilles et par l'apiculteur. Les butineuses sont en effet susceptibles de ramener à la ruche des spores de *Clostridium botulinum*, présentes dans la poussière ou dans l'environnement. La contamination humaine est également possible par défaut d'hygiène apicole, lors de la manipulation des cadres par l'apiculteur, lorsque les hausses sont posées à même le sol ou lorsque le matériel d'extraction ne répond pas aux normes sanitaires par exemple (Becker, 2005).

Bien que le miel soit une solution supersaturée, il n'est pas stérile. Lors des usages thérapeutiques, la stérilité est nécessaire. Tout risque potentiel pour la santé dû

à la présence de microorganismes peut être éliminé par une irradiation gamma du miel sans perte de l'activité antibactérienne (Beraet *al.*, 2009).

Chapitre 2 :
Propriétés du miel

Chapitre 2 : Propriétés du miel

1. Caractéristiques physico-chimiques

Le miel présente selon l'origine de la plante à partir de laquelle il a été fabriqué, et selon la composition de ses sucres, des caractéristiques physico-chimiques particulières. Certaines participent à l'identification de l'origine florale d'un miel, d'autres déterminent sa qualité et sa stabilité dans le temps (Joshi *et al.*, 2000).

L'annexe II du Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 définit non seulement la composition légale du miel, mais encadre aussi les paramètres physico-chimiques légaux du miel.

1.1. Densité

Le miel a une densité relativement élevée qui est déterminée par densimètre. Pour une teneur moyenne en eau de 17,2 % à 20° C, la densité moyenne est de 1,42 et varie généralement de 1,39 à 1,44 selon la nature des miels analysés. Un miel récolté prématurément, moins mûr, aura une densité plus faible (Bagdonov, 2011).

1.2. Viscosité

Le miel est un liquide visqueux et sa viscosité dépend de sa teneur en eau, sa composition chimique et de sa température (Descottes, 2004). La viscosité est très élevée à basse température et décroît rapidement lorsque la température augmente. A 35° C, tous les miels sont fluides (Bogdanov *et al.*, 2004, Bogdanov 2011). Toutefois, il existe des exceptions notamment pour certains miels qui ont une composition particulière et une viscosité anormale. Par exemple, le miel de callune est thixotrope : au repos, il est sous une forme gélatineuse suffisamment rigide (Garcia, 1986).

1.3. pH et acidité

La plupart des miels ont un pH relativement acide, il oscille entre 3 et 6. Les miels de nectar ont un pH faible (de 3,3 à 4,0) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (de 4,5 à 5,5) (Lequet, 2010 ; Bogdanov *et al.*, 2011).

L'acidité des miels augmente sous l'action de la dégradation du glucose en acide gluconique dont le taux augmente régulièrement avec le vieillissement. (Bogdanov *et al.*, 2011). Les phénomènes de dégradation spontanée du miel lors de son vieillissement naturel ou d'un chauffage sont largement dépendants du pH au moment de la mise en pot et font eux-mêmes évoluer le pH (le miel s'acidifie en vieillissant) (Bogdanov, 2004 ; Décret n°2003-587 du 30 juin 2003).

1.4. 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 du miel conditionne sa conservation : plus elle est élevée, plus le miel risque de se fermenter (tableau 2) (Louveaux, 1985 ; Huchet, 1999).

La limite légale fixée par la directive européenne CEE 2001/110 est de maximum 20 %. Toutefois, l'humidité ne doit pas dépasser une teneur en eau de 18 % (Daily, 2010).

Tableau 3: Influence de l'humidité et de la présence de levures sur le risque de fermentation du miel (Lequet, 2010).

Teneur en eau	Risque de fermentation en fonction du nombre de levures par gramme de miel
Moins de 17,1 %	Aucun risque quel que soit le nombre de levures
De 17,1 à 18 %	Aucun risque si le nombre de levures est inférieur à 1000
De 18,1 à 19 %	Aucun risque si le nombre de levures est inférieur à 10
De 19,1 à 20 %	Aucun risque si le nombre de levures est inférieur à 1
Plus de 20 %	Risque de fermentation quel que soit le nombre de levures

1.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique représente la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique. Elle dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel. Plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée (Bogdanov, 2011). Selon leur origine florale, les miels ont une conductivité variable. D'une manière générale, les miels de miellat conduisent beaucoup mieux le courant que les miels de fleurs (Lobreau-callen *et al.*, 1999).

Du point de vue législatif, la conductivité doit être supérieure à 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour les miels de miellat et de châtaignier et inférieure à 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour la majorité des autres miels (Décret n°2003-587 du 30 juin 2003).

1.6. Pouvoir rotatoire

Les glucides comme beaucoup de molécules organiques possèdent des carbones « asymétriques ». En solution, ces molécules ont la propriété de dévier la lumière polarisée, fréquemment déviée à gauche dans la plupart des échantillons ou, plus rarement, à droite. Certains à droite comme le glucose et le saccharose, d'autres à gauche (Fructose) et en raison de leur composition en sucres, tous les miels de nectar possèdent un pouvoir rotatoire lévogyre alors que c'est l'inverse pour les miels de miellats qui sont dextrogyres. Effet, le pouvoir rotatoire est un excellent moyen pour les différencier (Bogdanov, 2011).

1.7. Couleur

La coloration est une caractéristique physique importante des miels car elle est en rapport avec leur origine florale ainsi qu'avec leur composition. La couleur du miel peut présenter une coloration d'une très grande variabilité qui peut aller d'une teinte presque incolore ou blanche au brun sombre. Plus le miel est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. Le chauffage, le vieillissement ainsi que la lumière provoquent une intensification de la coloration du miel (Lequet, 2010 ; Oudjet 2012).

Les caroténoïdes, les composés phénoliques, les minéraux et les acides aminés (tyrosine, tryptophane) sont responsables de la couleur du miel (Lequet, 2010).

1.8. Hygroscopie

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, le fructose a un grand pouvoir hygroscopique. Ainsi, un miel contenant 18 % d'eau peut contenir au bout de trois mois 55% s'il est exposé à une atmosphère humide (Isla *et al.*, 2011).

Le tableau 4 illustre les normes de certains paramètres physico-chimiques du miel.

Tableau 4: Normes pour certains paramètres physico-chimiques du miel selon le Codex Alimentaire (2001) et le Journal Officiel des communautés européennes (2002).

Paramètres	Normes
Teneur en eau	Miels en général : < 20 %
Glucose et fructose	Miels de fleurs : > 60 % Miels de miellat ou mélangés avec des miels de fleurs : > 45 %
Saccharose	Miels en général : < 5%
Sucres réducteurs	Miels de fleurs : < 65 % Miels de miellats ou mélangés avec des miels de fleurs : > 60%
Acidité libre	Miels en général : < 50 meq/kg
Teneur en HMF	Miels en général : < 40 mg/kg
Teneur en cendres	Miels de nectar : < 0,6 % Miels de miellat ou mélangés avec miels de fleurs : < 1%
Conductivité électrique	Miels de nectar : < 0,8 mS/cm Miels de miellat : > 0,8 mS/ cm

2. Activités biologiques du miel

Le miel est non seulement un aliment, mais aussi peut être considéré comme un médicament, car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes et thérapeutiques). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (Lobreau-Callen *et al.*, 1999).

2.1. Activité antioxydante

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus du vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé *stress oxydatif* (Goodarzi et Khosravi, 2013). L'initiation des phénomènes de réactions d'oxydations en chaîne dans l'organisme humain peut conduire à des pathologies comme l'athérosclérose, le cancer, maladies cardiovasculaires, la cataracte, la dégénérescence musculaire, l'altération de la cicatrisation de la plaie et les maladies inflammatoires gastro-intestinales (Aljadi et Kamaruddin, 2004).

Un groupe important de composés phytochimiques ; les polyphénols (flavonoïdes et acides phénoliques) sont impliqués dans l'activité antioxydante du miel. De nombreux phénols totaux ont été identifiés dans le miel :

- ✓ Les flavonoïdes tels que l'apigénine, la pinocembrin, la kaempférol, la quercétine, la galangine, la chrysin, l'hésperidine et la myricétine.
- ✓ Les acides phénoliques tels que les acides caféiques, féruliques, ellagiques, vanilliques, coumariques, chlorogéniques et cinnamiques (Gheldof et Engeseth, 2002 ; Rakha *et al.*, 2008 ; Ouchemoukh, 2012 ; Vallianou *et al.*, 2014).

En plus de polyphénols, d'autres constituants sont connus pour contribuer à l'effet antioxydant du miel. Il s'agit notamment des vitamines (C et E), des enzymes

(catalase, peroxydase et glucose oxydase), des caroténoïdes et les produits de la réaction de Maillard (Khan *et al.*, 2007 ; Mandal *et al.*, 2011). De nombreux composants du miel, en particulier les flavonoïdes et des acides phénoliques, contribuent de manière significative à la capacité anti-oxydante, dont la plupart fonctionne ensemble pour fournir un effet antioxydant synergique (Moussa *et al.*, 2012 ; Vallianou *et al.*, 2014).

De nombreuses études ont montré que l'activité antioxydante est fortement corrélée avec la teneur en composés phénoliques, ainsi que le miel foncé a une teneur plus élevée en composés phénoliques totaux et par conséquent une plus grande capacité antioxydante (Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Aljadi et Kamaruddin 2004 ; Berreta *et al.*, 2005 ; Hołderna-Kedzia et Kedzia, 2006). La variation de cette activité antioxydante présente dans le miel est due à la nature quantitative et qualitative des phénols (Ita, 2011).

La capacité antioxydante du miel dépend de l'origine florale et géographique, les conditions climatiques et le stockage de miel. La plus grande influence sur l'activité antioxydante du miel est liée à son origine botanique (Frankel *et al.*, 1998 ; Al-Mamary *et al.*, 2002; Gheldof *et al.*, 2002a ; Beretta *et al.*, 2005).

Les chercheurs ont comparé, dans une étude publiée en Mars 2003, entre la consommation de 1,5 g/kg du miel et la même quantité du jus du maïs. Ils ont comparé l'effet de ces deux éléments sur l'activité anti-oxydative. Le contenu plasmatique en antioxydants phénoliques était nettement supérieur après consommation du miel, par rapport au jus du maïs (Schramm *et al.*, 2003; Vallianou *et al.*, 2014).

2.2. Activité antibactérienne

Le miel a des propriétés antibactériennes connues depuis plus d'un siècle. Quoiqu'utilisé dans de nombreuses cultures depuis des millénaires, son efficacité avait été constatée sans reconnaissance de ses propriétés antibactériennes. Ceci n'est pas surprenant puisque ce n'est qu'à partir de la deuxième partie du XIX^{ème} siècle que la plupart des maladies ont été découvertes comme étant le résultat d'infection par des micro-organismes (Assie, 2004).

De nombreuses recherches ont été menées sur le miel de Manuka, qui a été montré comme étant un agent antimicrobien efficace contre plusieurs agents pathogènes humains, tels que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Lusby *et al.*, 2005 ; Visavadia *et al.*, 2006 ; Sherlock *et al.*, 2010 ; Schneider *et al.*, 2012). D'autres études ont démontré l'activité antibactérienne du miel contre: *E. coli*, (Adebolu, 2005; Voidaou *et al.*, 2011), *Mycobacterium* (Asadi-Pooya *et al.*, 2003), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et les entérocoques résistants à la vancomycine (Cooper *et al.*, 1999 ; Allen *et al.*, 2000 ; Cooper *et al.*, 2002 ; Jenkins *et al.*, 2012).

Tous les composants antibactériens du miel et ses vertus curatives continuent de constituer une énigme pour les chercheurs (Bogdanov et Blumer, 2001). Bien que tous les mécanismes impliqués ne soient pas totalement connus, aujourd'hui certains facteurs sont décrits (Kwakman, 2012).

2.2.1 Origine de l'activité

2.2.1.1. Osmolarité

Le miel de l'abeille est une solution sucrée concentrée avec une pression osmotique élevée (Bogdanov *et al.*, 2004) 84% étant un mélange de fructose et de glucose. La forte teneur en glucides confère au miel des conditions d'hypotonie responsable de la lyse des membranes bactériennes entraînant d'abord l'inhibition de la croissance bactérienne avant d'induire leur lyse. De plus, l'eau disponible (18 %) pour permettre la croissance de la plupart bactéries ou des levures est insuffisante (Assie, 2004).

En effet, il est connu qu'une osmolarité importante, induite par une forte teneur en sucre, présente un effet bactéricide et favorise la cicatrisation (Archer *et al.*, 1990). D'après Molan (1992), le miel a une basse activité de l'eau (a_w) qui varie entre 0,56 à 0,62. Mesle et Zucca (1996) expliquent qu'une basse a_w provoque une diminution du volume cytoplasmique (plasmolyse) de la cellule et perturbe les fonctions métaboliques des germes pathogènes et inhibe totalement leur développement.

D'après Bogdanov et Blumer (2001), le miel agit d'une manière osmotique et absorbe l'eau vitale des microorganismes pathogènes. Ce qui provoque la plasmolyse cellulaire puis la mort de la cellule microbienne (Theunissen *et al.*, 2001). L'effet osmotique joue un rôle fondamental dans l'action antibactérienne du miel, toutefois

un certain nombre de bactéries n'étant pas inhibée dans des milieux à faibles coefficient hydrique (Molan, 1992).

2.2.1.2 Effet du pH

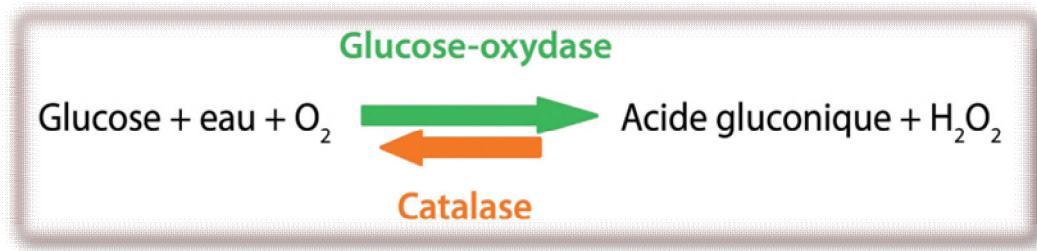
Une des caractéristiques du miel est son acidité avec un pH compris entre 3,2 et 4.5 (Bogdanov *et al.*, 2004). Ce pH est suffisant pour inhiber la croissance de la plupart des pathogènes car la majorité de ces micro-organismes préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin (Molan, 2001). A titre d'exemple, la croissance d'*E coli* n'est possible qu'à un pH supérieur à 4,3, celle de *Salmonella sp* n'est possible qu'à un pH supérieur à 4 (Molan, 1999). Le pH du miel non dilué est un facteur antibactérien significatif. Cependant, s'il est dilué, le pH peut ne plus être assez bas pour limiter la prolifération des bactéries.

D'autres études retrouvent la persistance d'une activité antibactérienne marquée lorsque le miel est neutralisé. Malgré ces observations, ceci ne signifie pas que l'acidité ne contribue pas à l'activité antibactérienne du miel (Bogdanov et Blumer, 2001 ; Elizabeth *et al.*, 2013).

2.2.1.3 Inhibines

- **Inhibines à activité peroxydique**

✓ **Le peroxyde d'hydrogène** : Pendant une période, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) a été considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel (Bogdanov et Blumer., 2001), il contribue d'une façon importante à l'activité antibactérienne de la majorité des miels dits : « miels à activité peroxyde ». De nombreuses études ont été réalisées pour apprécier le rôle du peroxyde d'hydrogène dans les effets antibactériens du miel (Brudzynski, 2006). Il s'agit d'un très bon antiseptique, produit par réaction enzymatique. C'est la glucose-oxydase sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose, produit continuellement quand le miel est dilué (Allen *et al.*, 2000).

L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes. Lors de l'application du miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère d'une façon lente et prolongée (Molan, 1992). De ce fait, la catalase n'est que faiblement activée et ne peut donc pas détruire l'activité antibactérienne du miel produite par le peroxyde d'hydrogène. Ce peroxyde d'hydrogène a donc un meilleur potentiel antibactérien quand il est libéré par le miel que lorsqu'il est utilisé seul dans une préparation antiseptique (Assie, 2004).

- **Inhibine à activité non peroxydique**

La découverte de miels dont l'activité antibactérienne persistait suite à une exposition à la chaleur, à la lumière ou à une incubation en présence de catalase a conduit à l'introduction du concept de facteurs « non-peroxyde » et d'activité antibactérienne non peroxyde (Bogdanov, 1997 ; Wahdan, 1998). Contrairement à l'activité peroxyde, l'activité non peroxyde requiert aucune dilution et est donc efficace de façon immédiate.

D'après Bogdanov et Blumer. 2001, la majeure partie de l'activité antibactérienne du miel non-peroxyde provient de l'abeille et une partie mineure est originaire de la source du miel (nectar ou miellat).

Le rôle des inhibines non-peroxydes est très important, car elles sont dans une large mesure insensibles à la chaleur, à la lumière et à la durée de stockage (Bogdanov et Blumer, 2001). Molan (2002) a affirmé la présence de plusieurs substances non-peroxydes dans le miel en faibles quantités et qu'elles contribuent significativement à l'activité antimicrobienne. Les facteurs « non peroxydes » sont nombreux tels que le

méthylglyoxal, la bee-defensin 1, des flavonoïdes et autres composés polyphénoliques (Wahdan, 1998 ; Estevinhol *et al.*, 2008).

✓ **Le méthylglyoxal (MGO) :** Une activité antibactérienne non peroxyde très importante est mise en évidence pour la première fois dans un type de miel particulier : le miel de Manuka (*Leptospermum scorpium*). Le Manuka est un petit arbuste de 3 à 5 mètres de hauteur qui appartient à la famille des myrtacées ; cette famille est originaire d’Australie mais le Manuka est présent essentiellement en Nouvelle-Zélande (Adams *et al.*, 2008).

Pendant le stockage du miel, le MGO est formé par conversion non enzymatique de dihydroxyacétone (DHA) présent à des concentrations particulièrement élevées dans le nectar (Kwakman *et al.*, 2012).

✓ **Composés phénoliques et flavonoïdes :** Les composés phénoliques et les flavonoïdes sont des molécules dotées de propriétés antibactériennes trouvées dans les plantes mais aussi dans le miel (Cushine et Lamb, 2005)

Ces composés du miel ont fait l’objet de plusieurs études où ils sont identifiés et leurs activités antibactériennes évaluées (Estevinhol *et al.*, 2008 ; Weston *et al.*, 2000), le thymol du thym (phénol connu pour ses propriétés antiseptiques) (Botelha *et al.*, 2007), ou encore la pinocembrine (flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels). L’activité antibactérienne de la pinocembrine est caractérisée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Elle a été récemment détectée dans le miel de tournesol (Botelha *et al.*, 2007).

D’autres composés ayant une activité antibactérienne ont été identifiés dans le miel mais ils sont cependant en quantité trop faible pour contribuer de manière significative à cette activité. Toutefois, des miels comme le miel de sarrasin, riche en composés phénoliques (Van der Berg *et al.*, 2008), présente généralement une activité antibactérienne non peroxyde supérieure à celle de nombreux miels (Descottes , 2009 ; Van der Berg *et al.*, 2008).

✓ **La défensine-1 :** Elle est présente dans tous les miels à très faible dose, de l’ordre de 2 à 3 nanogrammes par gramme de miel. Elle est semblable aux β -défensines 1 d’origine humaine : molécule de nature peptidique et à propriétés

cationiques qui joue le rôle d'antimicrobien par agrégation et destruction de la cellule hôte, se comportant comme un véritable antibiotique peptidique (Kwakman *et al.*, 2010).

La défensine-1 est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles. Elle est présente dans tous les miels à très faible dose. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité. Elle est semblable aux défensines d'origine humaine qui constituent une famille de peptides cationiques antimicrobiens, sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui joue le rôle d'antimicrobien par agrégation et destruction de la cellule hôte. Ils possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne (Bactéries Gram+, Gram-, champignons et virus enveloppés) (Couquet *et al.*, 2013).

2.2.2. Spectre antibactérien des miels

Un grand nombre d'études explorant l'activité antibactérienne du miel sur plus de 70 espèces *in vitro* ont été publiées depuis une trentaine d'années (Molan, 1992 ; Blair, 2009).

Dans une étude sur le spectre antimicrobien du miel, Efem *et al.*, 1992 ont isolé à partir d'abcès, de plaies infectées, de cellulites, différents pathogènes causant des infections chirurgicales. Ils ont testé le pouvoir inhibiteur du miel sur des cultures de ces pathogènes. Selon leurs résultats, le miel inhibe la croissance de la plupart des bactéries en cause dans les plaies chirurgicales. Les espèces les plus sensibles ont été *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les autres espèces telles que *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus species*, *Clostridium welchii* et *Clostridium tetani* sont également sensibles au miel.

Une autre étude prospective réalisée à l'hôpital de Calabar au Nigéria retrouve un taux de plaies infectées de 13 % après opération. Les germes les plus fréquemment en cause étant *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. Le miel s'est montré capable d'inhiber ces organismes y compris *Pseudomonas aeruginosa* malgré qu'il n'ait pas été inhibé *in vitro*. Le miel est ainsi utilisé de façon routinière dans la

prise en charge des plaies infectées post-opératoires du centre hospitalier universitaire de Calabar (Efem *et al.*, 1992).

2.2.3. Variations de l'activité antibactérienne

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

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

2.3. Propriétés thérapeutiques

Depuis des millénaires déjà, le miel a été utilisé dans la médecine populaire dans de nombreux domaines, Aristote le recommandait pour soulager divers maux (Bogdanov et Blumer, 2001 ; Paulus *et al.*, 2012).

Le miel est non seulement une substance sucrée savoureuse, mais également comme une partie de la médecine traditionnelle. Il a été rapporté qu'il est efficace contre les désordres intestinaux et la guérison des blessures (Gomez-Cravaca *et al.*, 2006).

Les propriétés cicatrisantes du miel tiennent à ses caractéristiques physiques, chimiques et enzymatiques. Le miel par sa saturation en sucres entretient une pression entraîne une résorption de l'œdème péri lésionnel et un appel local aux macrophages qui favorisent le nettoyage des plaies. Il y a en plus une augmentation secondaire des fibroblastes protecteurs producteurs de collagène qui favoriserait la bonne cicatrisation (Attipou *et al.*, 1998).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Echantillons de miels

Vingt échantillons de miels sont récoltés dans différentes régions géographiques d'Algérie. La majorité de ces échantillons provient de la wilaya de Bejaïa (tableau 5). Quatre de ces échantillons (M1, M15, M16 et M18) sont collectés auprès des apiculteurs, un échantillon (M6) provient du commerce et le reste des échantillons provient des apiculteurs amateurs.

Tableau5 : Echantillons de miels analysés (région, état, couleur).

Echantillons de miel	Origines géographique	Etat	couleur
M1	Bejaia (Barbacha)	Cristallisé	Jaune
M2	Bejaia (Barbacha)	Liquide	Marron foncé
M3	Bejaia (Boukhhiama)	Cristallisé	Marron
M4	Bejaia (Tazboudjt)	Semi-Cristallisé	Marron foncé
M5	Bejaia (Izoumam)	Cristallisé	Jaune
M6	Bejaia (Tighremt)	liquide	Marron foncé
M7	Bejaia (Aboudaw)	Liquide	Marron foncé
M8	Bejaia (Boukhlifa)	Cristallisé	blanc
M9	Bejaia (Toudja)	Cristallisé	Marron
M10	Bejaia (Amizour)	Cristallisé	Marron foncé
M11	Bejaia (Oued-Des)	Cristallisé	Marron
M12	Tizi-Ouzou	Cristallisé	blanc
M13	Tizi-Ouzou	Liquide	Marron foncé
M14	Jijel	Cristallisé	Marron
M15	Blida	Liquide	blanc
M16	Chlef	Liquide	Jaune
M17	Sétif	Cristallisé	Marron foncé
M18	El-Bayadh	Cristallisé	Marron
M19	Mila	Cristallisé	Jaune
M20	Tizi-Ouzou	Liquide	Marron

2. Analyses physico-chimiques

2.1 Humidité

La teneur en eau du miel est la valeur déterminée par mesure optique de l'indice de réfraction en se référant à une table standard à 20°C, selon la méthode rapportée par Bogdanov *et al.* (1999). Une quantité de miel est introduite dans un bécher qui est placé dans une étuve à 60°C afin de dissoudre les cristaux de sucres.

Après homogénéisation, une quantité de miel est étalée pour couvrir la surface du prisme du réfractomètre Abbe, préalablement étalonné avec de l'eau distillée. L'indice de réfraction ainsi que le brix sont lus après quelques secondes. La teneur en eau est obtenue par correspondance à la table de CHATWAY (Annexe 1).

2.2 pH

Le pH est déterminé selon la méthode décrite par Bogdanov *et al.* (1999). Une quantité de 2,5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée et le pH est lu avec le pH-mètre.

2.3 Conductivité électrique

La conductivité électrique est déterminée selon la méthode décrite par Bogdanov *et al.* (1997). Elle se fait dans une solution de miel à 20 % de matière sèche. Une quantité de miel est pesée telle que $M = (5 \times 100) / MS$ (où MS est la teneur en matière sèche de miel) puis dissoute dans 25 ml de l'eau distillé de très faible conductivité (3,64 $\mu\text{S}/\text{cm}$). La cellule de mesure du conductimètre est introduite dans la solution de miel. La valeur de la conductivité électrique est lue sur l'appareil et les résultats sont exprimés comme suit :

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

CE : conductivité électrique

A : (la valeur mesuré x 0,032) x (T°-20°)

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

0,032 : facteur de correction

2.4 Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Le taux en HMF est déterminé par la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). Une masse de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillé. 2 ml de solution de Carrez I (solution d'hexacyanoferrate II de potassium à 15%) et de Carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 %) y sont additionnées.

Le mélange est transféré dans une fiole de 50 ml puis le volume est ajusté avec de l'eau distillée. Quelques minutes après, le mélange est filtré avec du papier filtre Whatman et les 10 ml du premier filtrat sont écartés. Ensuite, 5 ml du filtrat sont introduits à chaque tube à essai, 5 ml de bisulfate de sodium sont additionnés à la solution de référence et 5 ml d'eau distillée sont ajoutés à la solution d'échantillon. Après homogénéisation l'absorbance de la solution d'échantillon est lue contre celle de référence à 284 nm et à 336 nm. La teneur en HMF est calculée selon la formule suivante :

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

A_{284} : absorbance à 284 nm

A_{336} : absorbance à 336 nm

W : masse en grammes de l'échantillon de miel

149,7 = $(126 \times 1000 \times 1000) / 16830 \times 10 \times 5$ = constante

126 = poids moléculaire de HMF

16830 = absorptivité molaire \mathcal{E} de HMF à une absorbance de 284 nm

1000 = conversion de g en mg

10 = conversion de 5 à 50 ml

1000 = conversion de g de miel en kg

5 = poids nominal théorique de l'échantillon

2.5 Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est déterminé selon la méthode de Bogdanov *et al.* (1997). C'est une méthode simple, basée sur la mesure directe par un polarimètre de solution aqueuse du miel claire et filtré. Une masse de 12 g de miel est dissoute dans de l'eau distillée. Un volume de 3 ml de la solution d'hexacyanoferrate de potassium (15%) et 3 ml de la solution d'acétate

de zinc (30%) y sont ajoutés. Le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillé et après 24h les solutions sont filtrées. Le filtrat est versé dans le polarimètre (Polaser-SI) ayant un tube de 10 cm de longueur. La valeur affichée sur l'appareil à l'échelle de la solution de saccharose et à température de 20 °C donne la valeur du pouvoir rotatoire.

2.6 Couleur

La couleur des miels est déterminée selon la méthode quantification spectroscopique décrite par Bath et Singh (1999). Une quantité de miel (5g) est dissoute dans 20 ml de l'eau distillée. Après homogénéisation, l'absorbance est lue à 420 nm.

2.7 Proline

La teneur en proline du miel est déterminée selon la méthode rapportée par Bogdanov *et al.* (1999). Les solutions utilisées sont de l'acide formique à 100%, une solution éthanolique de ninhydrine à 3%, une solution aqueuse de proline à 0,032 mg/ml, une solution aqueuse de propanol-2 à 50% et les différentes solutions de miel à 0,05 g/ml. Le protocole expérimental utilisé est résumée dans le tableau (6).

Tableau 6 : Protocole pour dosage de la proline.

	Solution d'échantillon	Solution du blanc	Solution de standard
Solution de miel	05ml	-	-
Eau distillé	-	0,5ml	-
Solution de proline (0,8mg/25ml)	-	-	0,5ml
Acide formique	1ml	1ml	1ml
Solution de la ninhydrine	1ml	1ml	1ml
Agitation	15min	15min	15min
Bain marie à 100°C	15min	15min	15min
Transfert au bain marie à 70°C	10min	10min	10min
Solution aqueuse de propanol-2	5ml	5ml	5ml
Temps d'incubation	45min	45min	45min
Absorbance	510nm	510nm	510nm

Une moyenne de trois mesures est effectuée par échantillon de miel et la concentration en proline est déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Proline (mg/kg)} = \text{Es/Ea} \times \text{E}_1/\text{E}_2 \times 80$$

Es : absorbance de la solution d'échantillon

Ea : absorbance de la solution standard de la proline

E₁ : mg en proline pris pour la solution standard

E₂ : kg de miel pesé

2.8 Dosage des protéines

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

Dans une série de tube à essai, il ya introduction de 0,1 ml d'une solution du miel à 50 % et 5 ml de réactif de Bradford. 2 min après, l'absorbance est déterminée à 595 nm au spectrophotomètre contre un blanc dans le quel l'extrait est remplacé par de l'eau distillé.

La teneur en protéines est obtenue à l'aide d'une courbe d'étalonnage en utilisant la BSA (Albumine Sérum bovine, 1mg/ml) comme standard (annexe 2, figure 2).

3. Antioxydants et activités antioxydantes

3.1 Antioxydants

3.1.1 Dosage des composés phénoliques totaux

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

La teneur en composés phénoliques est évaluée selon la méthode décrite par Naithaniet *al.*, (2006). Un volume de 200 µl de la solution de miel (0,1 g/ml) est additionné de 200 µl de réactif de Folin – Ciocalteu (50%) et de 4 ml de carbonate de sodium (2 %). Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm et les taux en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g) (annexe 2, figure 1).

3.1.2 Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon la méthode décrite par Al *et al.* (2009). 1 ml de la solution de miel (0,5g/ml) est mélangé avec 300 µl de nitrite de sodium (5%). 5min après, un volume équivalent de chlorure d'aluminium (10%) est additionné et après 6 min, 2 ml de soude (1M) y sont ajoutés. L'absorbance est lue à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par 100 g de miel (mg EQ/100 g) (annexe 2, figure 5).

3.1.3 Ortho-diphénols

La teneur en orthodiphénol est estimée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2012); 750 µl de la solution de miel à 5% sont additionnés de 1250 µl de molybdate de sodium (5%). Après 15 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 370 nm et les teneurs en ces composés sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG/100g) ($y= 981x$).

3.2 Activités antioxydantes

3.2.1 Activités anti-radicalaire

3.2.1.1 Par le DPPH

La molécule de DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) est définie comme radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption. Il réagit avec des groupements amine, les phénols et les acides. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (DPPH₂) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl et l'absorbance est lue à 517 nm (Gulcin *et al.* ,2003).

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits du miel via le DPPH est effectuée par la méthode décrite par Meda *et al.* (2005). Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g/ml) est mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH ($6 \cdot 10^{-2}$ mM). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15 min avant de lire l'absorbance. La différence d'absorbance entre la solution de DPPH en présence et en absence de l'échantillon reflète le potentiel des composés responsables de cette activité à réduire ce radical.

Le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = (\text{Abs}_b - \text{Abs}_e / \text{Abs}_b) \times 100$$

Abs_b : absorbance du blanc

Abs_e : absorbance de l'échantillon

3.2.1.2 Par l'ABTS⁺

La méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical cation ABTS⁺, acide 2-2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le radical est formé par l'oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le persulfate de potassium (Re *et al.* 1999). Le composé à tester est ajouté au radical préformé et l'absorbance résiduelle du radical ABTS⁺ est lue à 734 nm (Schlesier *et al.*, 2002).

L'activité scavenging du radical ABTS⁺ des extraits des miels est déterminée selon la méthode rapportée par Re *et al.* (1999). Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g/ml) est mélangé avec 1 ml de ml à solution d'ABTS (7 mM). L'absorbance du mélange est lue après 7 min 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 :

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

Abs_b : absorbance du blanc

Abs_e : absorbance de l'échantillon

3.2.2 Pouvoir réducteur

Le test de pouvoir réducteur repose sur la réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] et en milieu acidifié par l'acide trichloracétique. La forme réduite donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gulcin *et al.*, 2005).

L'étude du pouvoir réducteur du miel est réalisée selon la méthode décrite par Beretta *et al.* (2005). 0,5 ml de miel (0,05g/ml) est mélangé avec 0,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 0,5 ml de ferricyanure de potassium (1%). L'ensemble est incubé au bain marie à 50 °C durant 20 min. 0,5 ml de trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange afin d'arrêter la réaction. Dans un tube, il y a addition de 0,5 ml du mélange, 0,8 ml d'eau distillée et 0,1 ml de chlorure ferrique (0,1%). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG/100g) (annexe 2, figure 3).

3.2.3 Test de FRAP (ferric reducing antioxidant power)

Le test FRAP ou ferric reducing antioxidant power est basé sur la réduction d'un complexe ferrique tripyridyletriazine ferrique (TPTZ- Fe^{3+}) en sa forme ferreux (TPTZ- Fe^{2+}) par un antioxydant à faible pH. La solution de TPTZ a une couleur bleu intense dont le maximum d'absorbance est de 593 nm.

Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g/ml) est mélangé avec 0,75 ml de la solution de FRAP [25 ml de tampon acétate de sodium (300 mM, pH 3,6) ; 2,5 ml TPTZ (10 mM) dissout dans du HCl (40 mM) ; 2,5 ml de la solution de chlorure de fer ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) (20mM)]. Après 5 min, l'absorbance est lue à 593 nm (Maksimovic *et al.*, 2005). La concentration des composés réducteurs présents dans l'extrait est exprimé en mg EAG/100 g (annexe 2, figure 4).

3.2.4 Pouvoir chélateur du fer (Ferrozine)

La capacité chélatrice des miels est déterminé en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe_2^+ -ferrozine après leur incubation avec le fer divalent. Les molécules de ferrozine forment des complexes avec le Fe^{++} donnant une coloration violet foncé. Cependant, en présence d'autres agents chélateurs, la formation de ces complexes est atténuée donc l'intensité de la couleur diminue. La mesure de la réduction de la couleur permet l'estimation de la capacité chélatrice des agents chélateurs coexistants (Ebrahimzadeh *et al.*, 2007).

Le pouvoir chélateur du fer est déterminé suivant la méthode de Dastmalchi *et al.* (2008) avec quelques modifications. Un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,5g/ml) est additionné de 1,5 ml d'eau distillée et 0,1ml de déchlorure de fer (2mM). Après 5 min, 0,2 ml de la solution de ferrozine (2,5 mM) sont ajoutés au mélange réactionnel. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est réalisée à 562 nm. L'effet séquestrant des échantillons de miel vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de chélation du fer} = [(Abs_t - Abs_e) / Abs_t] \times 100$$

Abs_t : Absorbance de témoin.

Abs_e : Absorbance de l'échantillon.

3.2.5 Réduction de molybdate

La capacité antioxydante en utilisant le phosphomolybdate est basée sur l'oxydation de molybdate-IV (Mo_{IV}) en molybdate-V (Mo_V), ce qui engendre la formation d'un complexe (phosphate / MoV) de couleur verte, dans un milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydant (Prieto *et al.*, 1999).

Un volume de 0,1 ml de la solution de miel (0,002g/ml) est mélangé avec 1 ml du réactif de phosphomolybdate. Le mélange est placé dans le bain marie à 90°C pendant 90 min. L'absorbance est lue à 695 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG/100g) (annexe 2, figure 6).

4. Activité anti bactérienne

L'activité antibactérienne des échantillons de miel est testée sur deux souches bactériennes (*staphylococcus aureus* ATCC 25923, Gram⁺ ; *E.coli* ATCC 25922, Gram⁻). Ces souches sont sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogènes et leurs résistances naturelles aux antibiotiques.

L'activité antibactérienne est étudiée selon la méthode de diffusion à travers des puits (Meda *et al.*, 2005). Les différentes souches bactériennes sont repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi par la suite à préparer l'inoculum en les trempant dans des tubes de solution d'eau distillée stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale d'environ 10⁷

CFU/ml. Par la suite, cette suspension microbienne estensemencée par étalement sur des boites de Pétri contenant la gélose Muller-Hinton.

4 puits équidistants sont creusés avec un embout dans chacune des boites. Une quantité de 100 µl de chaque concentration des différents échantillons de miel dilué avec de l'eau distillée (75%, 50%,33%, 25% m/v) est placée dans chaque puit de même boite de pétri.les boites sont ensuite placées à 4 °C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion puis incubées à 37 °C.

Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition (identifiées par l'absence de turbidité due au non croissance des bactéries) sont mesurés. Un gradient de concentration de l'échantillon de miel se forme par diffusion à partir du puits et la croissance du germe est inhibée à une distance du puit liée entre autres aux facteurs à la sensibilité du germe. Plus la zone d'inhibition est grande, plus la souche bactérienne étudiée est sensible. Ce test est effectué à trois reprises avec chaque échantillon de miel et avec les deux souches.

5. Analyses statistique

Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écarts types) sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. La majorité des données obtenues sont la moyenne de 3 essais à l'exception de pH, de l'HMF et l'activité réductrice FRAP (2 essais).Le logiciel STATISTICA 5.5 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (AVUC) entre les différents échantillons de miel. Les corrélations entre les paramètres étudiées 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> h> i>j. Les valeurs obtenues, pourtant la même lettre, ne présentent aucune différence du point de vue statistique et les barres verticales représentent les écarts types.

Résultats et discussions

Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques

1.1 Humidité

La teneur en eau est un facteur hautement important qui permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur sa stabilité contre la fermentation (Terrab *et al.*, 2003 ; De Rodriguez *et al.*, 2004) donc elle conditionne la conservation du produit. Selon Nombre *et al.* (2010), l'humidité est la caractéristique la plus importante du miel car elle est étroitement liée à sa qualité, sa viscosité, sa cristallisation, sa fermentation et à sa saveur.

L'humidité des échantillons de miels testés varient de 13,7 (M16) à 18,33% (M9) (figure 2) avec une moyenne de 16,66%, ce qui correspond à des indices de réfraction de 1,5028 et 1,4912, respectivement. Ces résultats indiquent que ces miels sont mûrs.

Les valeurs d'humidité obtenues sont inférieures à 20 %, la limite autorisée par l'union européenne (2002) et le codex alimentaire (2001). Tous les échantillons analysés sont < 18 %. Le risque de fermentation est très faible pour les miels qui contiennent moins de 18 % (Carvalho *et al.*, 2009).

Les échantillons de miels provenant de Jijel (M9) et de Toudja (M4) présentent un taux d'humidité élevé et ne présentent pas de différence significative entre eux. Cependant, les échantillons de Chlef (M16) et Mila (M19) montrent la plus faible teneur en eau avec une moyenne de $14,92 \pm 0,25\%$, ceci est probablement dû à la région de récolte de ces deux miels. Des teneurs en eau similaires sont observés pour les échantillons de miels suivants : M1, M3, M20 et M6 ; M18, M17, M12, M11, M10 et M8 ; M2, M5 et M15.

Les humidités obtenues dans cette présente étude sont similaires à celles rapportés par Terrab *et al.* (2003), Ouchemoukh *et al.* (2007), Benaziza-Bouchema et Schweitzer, (2010) et Makhoulfi *et al.* (2010).

L'humidité du miel varie largement en fonction de l'origine florale, du climat et de la teneur en eau du nectar et/ou du miellat (Nanda *et al.*, 2003).

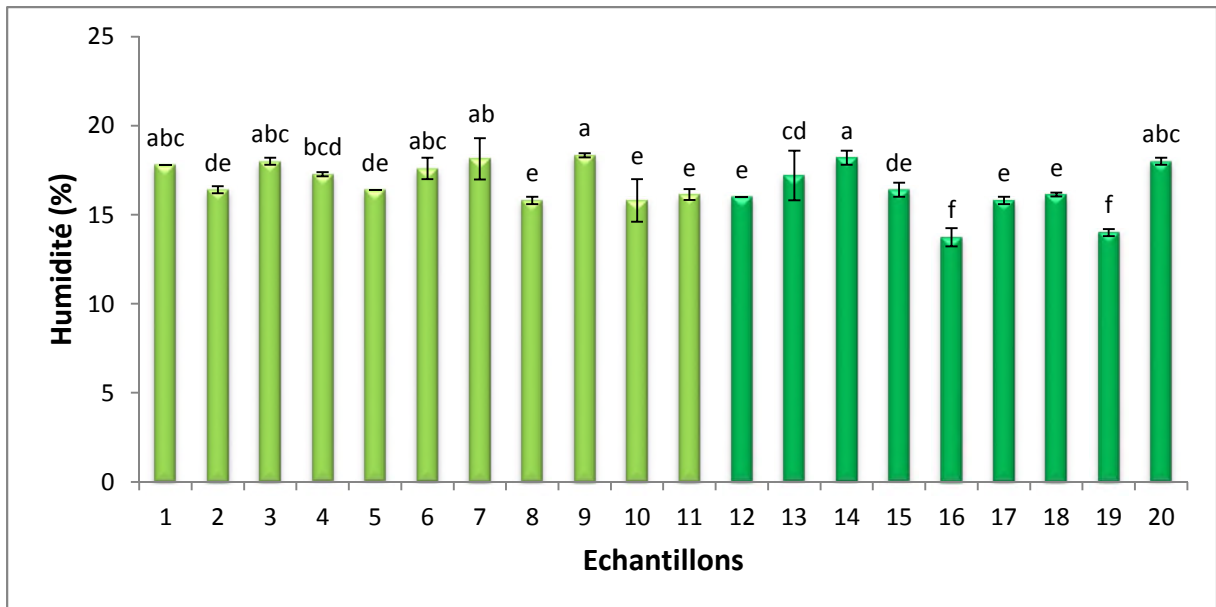


Figure 2: Humidité des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentes des différences significatives.

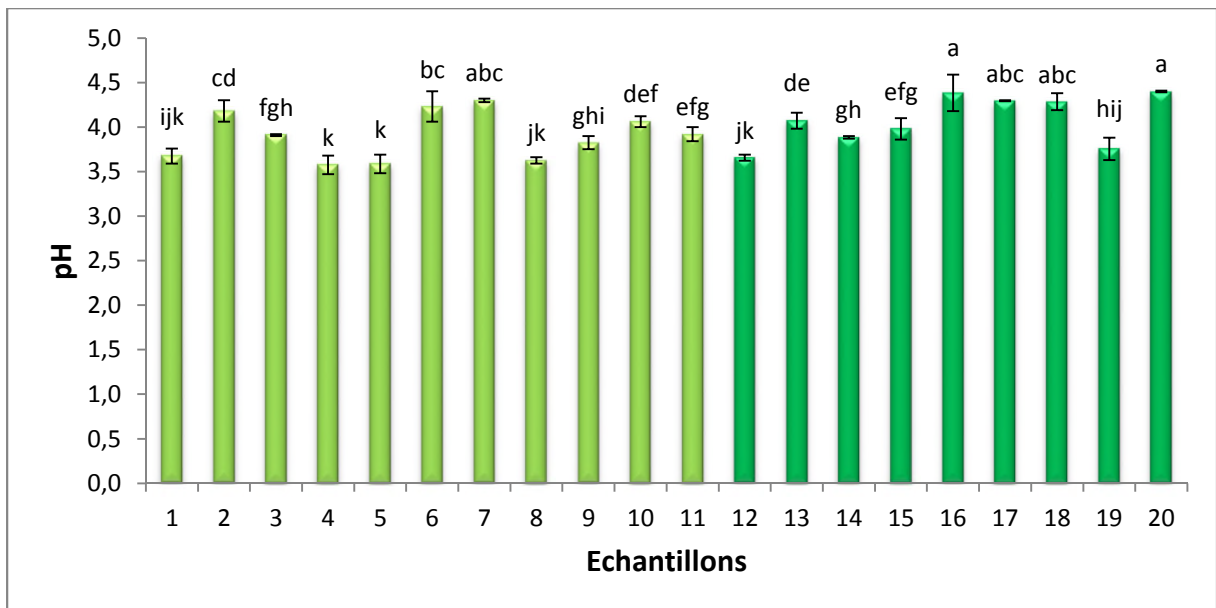


Figure3: pH des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

1.2 pH

Le pH des miels analysés oscille de 3,58 (M4) à 4,40 (M20) avec une différence significative entre les deux valeurs ($p < 0,05$) (Figure 3). Ces valeurs sont similaires à celles rapportées par Malika *et al.* (2005) sur les miels Marocains (3,80 - 4,50), Ouchemoukh *et al.* (2007) sur les miels Algériens (3,49 - 4,43) et Alqarni *et al.* (2012) sur les miels de l'Arabie Saoudite (3,03 - 4,73). Ces résultats démontrent que le caractère acide n'est pas lié à l'origine géographique.

Le miel est naturellement acide quelque soit son origine géographique (Ouchemoukh, 2012). Par ailleurs, le pH est utilisé pour la différenciation entre le miel du miellat (pH élevé) et celui des fleurs (pH bas), ce paramètre est doté d'une grande importance lors de l'extraction et du stockage du miel, comme il influence sur sa texture, sa stabilité et sa durée de vie (Terrab *et al.*, 2002 ; Alqarani *et al.*, 2012).

Les miels suivant n'enregistrent pas de différence significative dans le pH : M4 et M5 ; M7, M17 et M18 ainsi que M16 et M20.

1.4 Pouvoir rotatoire :

Les miels de nectars possèdent un pouvoir négatif lévogyre alors que c'est l'inverse pour les miels de miellat qui sont dextrogyres. Donc le pouvoir rotatoire est un excellent moyen différencier les deux types de miels (Bogdanov, 2011).

Tous les miels analysés sont lévogyres sauf le miel M6 qui est dextrogyre (4,89). Les résultats du pouvoir rotatoire des autres miels analysés varient de -3,42 (M13) à -8,09 (M4). Ces résultats sont largement supérieurs à ceux obtenus par Ouchemoukh (2012).

Tableau 7 : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons de miel	Pouvoir rotatoire	Echantillons de miels	Pouvoir rotatoire
M1	$-6,26 \pm 0,07$	M11	$-3,58 \pm 0,09$
M2	$-6,78 \pm 0,09$	M12	$-4,28 \pm 0,09$
M3	$-3,98 \pm 0,01$	M13	$-3,42 \pm 0,02$
M4	$-8,09 \pm 0,08$	M14	$-5,73 \pm 0,08$
M5	$-4,53 \pm 0,05$	M15	$-7,31 \pm 0,11$
M6	$4,89 \pm 0,08$	M16	$-5,19 \pm 0,03$
M7	$-4,32 \pm 0,11$	M18	$-7,69 \pm 0,03$
M10	$-3,78 \pm 0,07$	M20	$-5,78 \pm 0,08$

1.3 Conductivité électrique

La conductivité électrique des miels étudiés oscillent entre $0,36 \pm 0$ (M15) à $2,92 \pm 0,07$ mS/cm (M6). Les échantillons de miels M4 et M6 présentent une conductivité électrique élevée et distinctes significativement des autres miels ($p < 0,05$).

La conductivité électrique des miels collectés de la wilaya de Bejaia est très importante par rapport à celle obtenue dans d'autres wilayas, avec une moyenne de 1,37 et 0,77 mS/cm respectivement (Figure 4).

Les échantillons de miels M8, M9, M12, M15, M16, M17, M18 et M20 présentent la plus faible conductivité électrique. Ce sont probablement issus du miel du nectar car leurs valeurs sont inférieures à 0,8 mS/cm. Le reste des échantillons ont des valeurs supérieures à 0,8 mS/cm. La conductivité électrique dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel. Plus ces deux paramètres sont importante, plus la conductivité correspondante est élevée Benaziza-Bouchema, et Schweitzer, (2010).

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux obtenus par Khalil *et al.* (2012) sur les miels de la Malaisie [0,413-0,806] et Benaziza-Bouchema, et Schweitzer (2010) sur les miels d'Algérie (0,21-0,76).

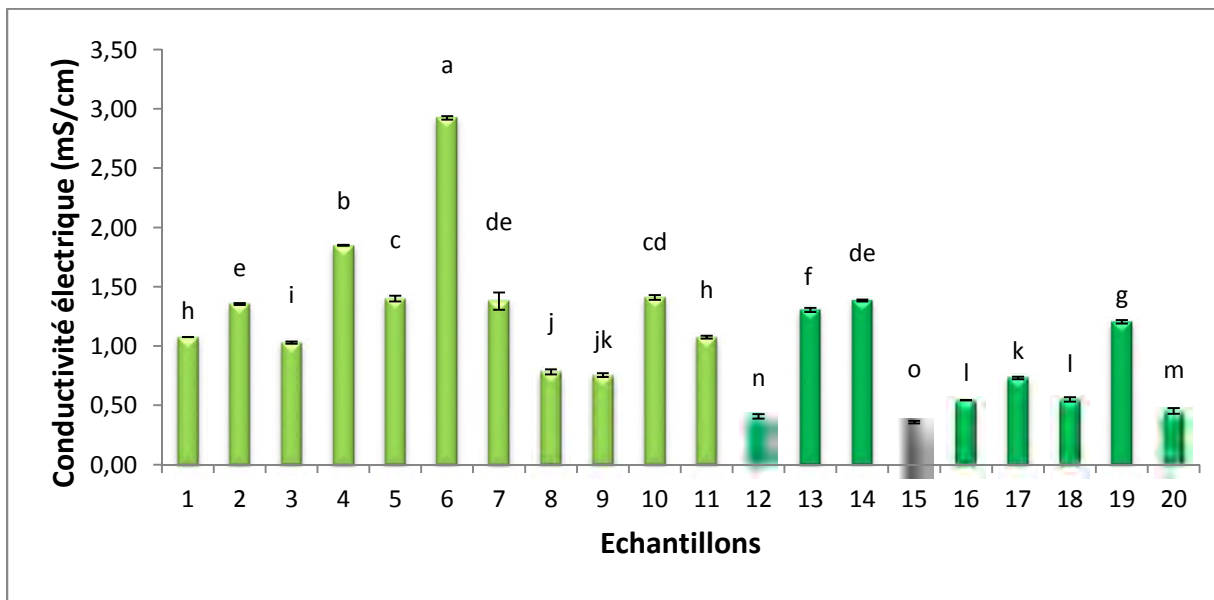


Figure 4: Conductivité électrique des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

1.5 Couleur

La couleur est la propriété physique immédiatement aperçue par le consommateur.

La couleur des miels analysés enregistrent des densités optiques allant de 0,24 (M12) à 1,37 (M4) (Figure 5). Cet intervalle est différent de celui obtenu par Serem et bester, (2012) sur les miels de l’Afrique du sud (0,32 - 2,16). La densité optique du miel M4 diffère significativement de celle des autres échantillons. Des densités optiques similaires ($p < 0,05$) sont enregistrées pour les miels suivants : M10 et M17 ; M2, M7 et M13 ; M18 et M20 ; M12 et M15 ; M5 et M6.

Plusieurs facteurs influencent la couleur : teneurs en minéraux, en caroténoïdes, en phénols totaux, en flavonoïdes et en produits des réactions de Maillard (Miotto, 2010).

Selon l’apparence, la couleur varie du blanc au marron foncé et elle est proportionnelle à la valeur de la densité optique enregistrée. La variabilité de la couleur est due à la composition chimique du miel (teneurs en minéraux, phénols totaux,...). En effet, plus un miel est foncé, plus son taux en cendres est important.

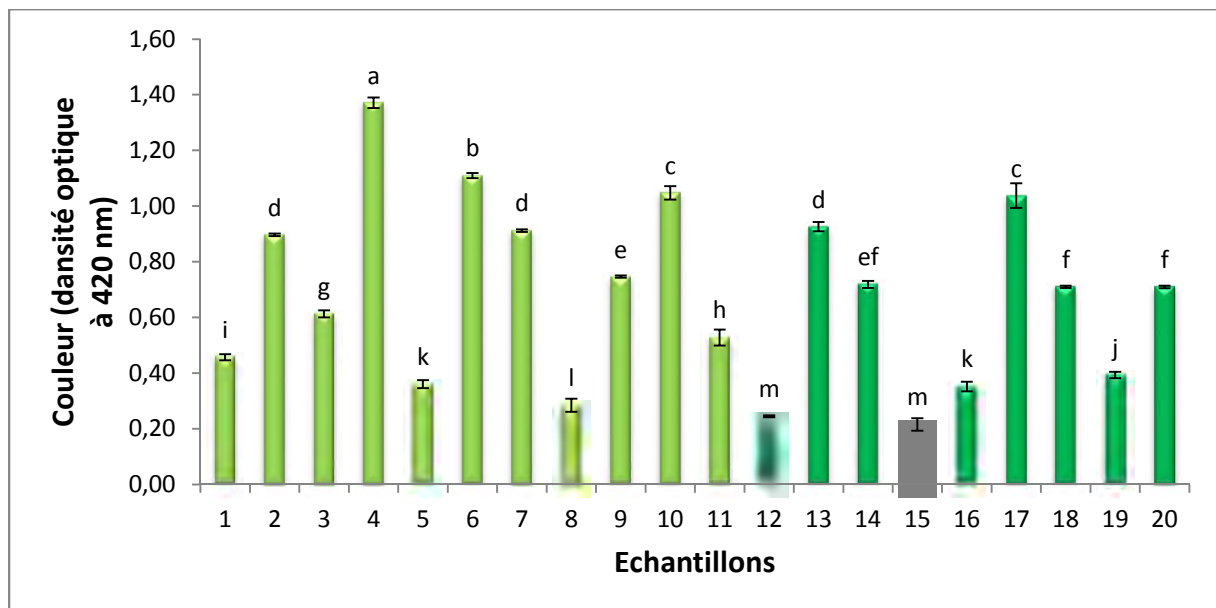


Figure 5 : couleur des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

1.6 Hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'hydroxyméthylfurfural est un composé chimique issu de la dégradation du fructose et le miel brut ne contient pratiquement ce produit. Cependant, sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH et du chauffage prolongé des miels (Khalil *et al.*, 2012).

La teneur en HMF varie de 1,72 (M18) à 33,61 mg/kg (M20) pour les miels d'El Biadh et Tizi Ouzou, respectivement (Figure 6). Ces résultats sont en accord avec la limite fixée par l'union européenne et sont de bonne qualité. Cet intervalle est différent de ceux obtenus par, Muli *et al.* (2007), Tandlich *et al.* (2011) et Djossou *et al.* (2013) sur les miels de Cotonou, Sud Afrique et Kenya respectivement.

Le miel de Tizi-Ouzou enregistre la valeur la plus élevée en HMF, qui diffère significativement de celle des autres échantillons. Cependant celui de Oued-das (M11) vient en deuxième position avec une valeur de 24,40 mg /kg qui diffère significativement ($p < 0.05$) des autres miels.

Le taux d'HMF pour le miel du commerce M6 est de 14,15 mg/kg, cette teneur est dans la fourchette publiée par Djossou *et al.*, (2013) sur les miels commerciaux de Cotonou (17,06 - 41,96 mg/kg). La majorité des échantillons présentent un taux d'HMF inférieure à 10 mg/kg.

Les miels M3 et M4 ; M6, M5, M9, M15 et M19 n'enregistrent pas de différence significative dans leur teneur en HMF.

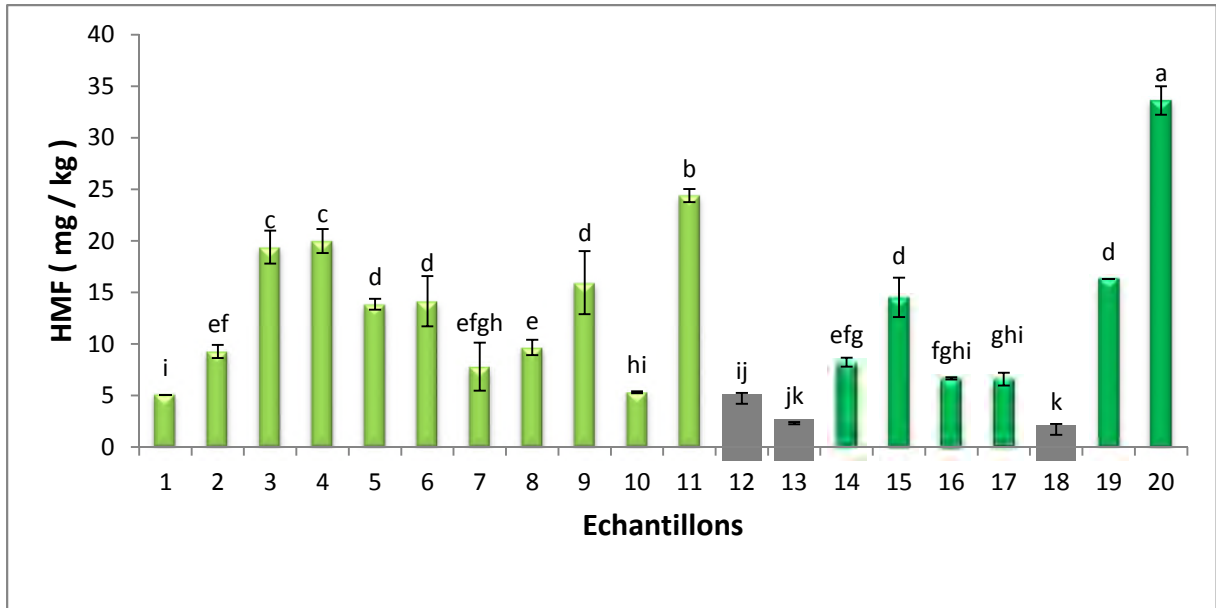


Figure 6 : HMF des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

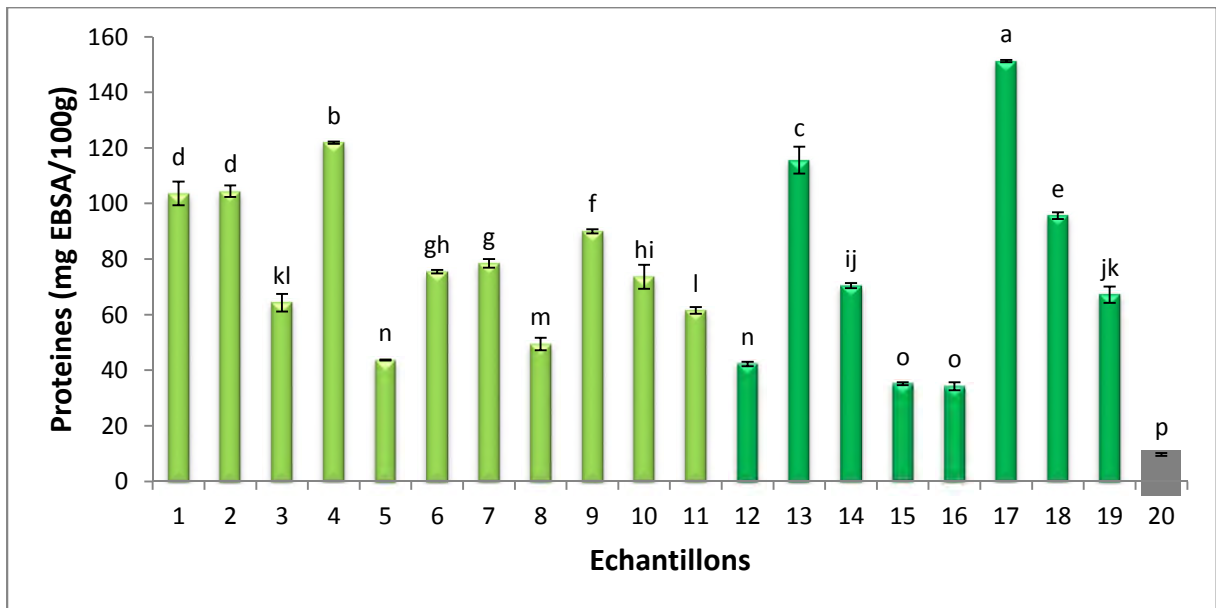


Figure 7 : Protéines des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

1.7 Protéines

Les miels analysés présentent des teneurs en protéines qui oscillent de $9,71 \pm 0,52$ (M20) à $151,25 \pm 0,39$ mg EBSA/100 g (M17) avec une moyenne de $74,39 \pm 34,31$ mg EBSA/100 g (figure7). Cet intervalle diffère de celui rapporté par Alvarez-Suarez *et al.* (2010) et Khalil *et al.* (2012) sur les miels de l'Italie et de Malaisie, respectivement.

La majorité des résultats obtenus présentent une différence significative à l'exception des échantillons suivants : M1 et M2, M15 et M16, M5 et M12. Les miels de Barbacha M1 et M2, récoltés dans la même région, possèdent des teneurs en protéines similaires.

La concentration des protéines dans le miel varie en fonction de leurs origines botanique et géographique et du temps du stockage (Khalil *et al.*, 2012), ceci explique bien les différences des teneurs en protéines des miels analysés. Le taux en protéine dans le miel peut être attribuée à la présence des enzymes introduites par les abeilles à partir du nectar pendant le processus de maturation du miel et aux grains de pollen (Alvarez-Suarez *et al.*, (2010).

1.8 Proline

La proline est l'acide aminé le plus abondant dans le miel, utilisé comme un standard pour quantifier la teneur en acides aminés (Alisi *et al.*, 2012). Il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière lors de la conversion du nectar et/ou miellat en miel. Il tire son origine du pollen que l'abeille butine (Truzzi *et al.*, 2014 ; Ouchemoukh, 2012). Et sa proportion est un facteur de maturité et un indice d'adultération du miel (Djossou *et al.*, 2013).

La teneur en proline des échantillons du miel est comprise entre 496,12 (M15) à 2846,76 mg/kg (M20) avec une moyenne de $1278,61 \pm 46,70$ mg/kg (Figure8). Les différences observées entre les échantillons des miels analysés peuvent être attribuées à la force de la colonie d'abeille. L'ensemble des échantillons ont des valeurs en proline supérieures à 180 mg/kg, indiquant que ces miels sont murs et authentiques.

Selon la figure les résultats obtenus sont classés par ordre décroissant :

M20>M4>M2=M10=M14>M6>M7=M17>M13=M9>M19>M8=M13>M5>M11>M12=M16
=M18>M15.

Les échantillons de miel : M20, M4, M10, M14 et M2 présentent des valeurs élevées en proline. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Muli *et al.*, 2007 sur les miel Kenya et Djossou *et al.* (2013) sur les miels commerciaux de Cotonou, par contre elles sont similaire à celles obtenues par Meda *et al.* (2005) sur les miels de Burkina faso.

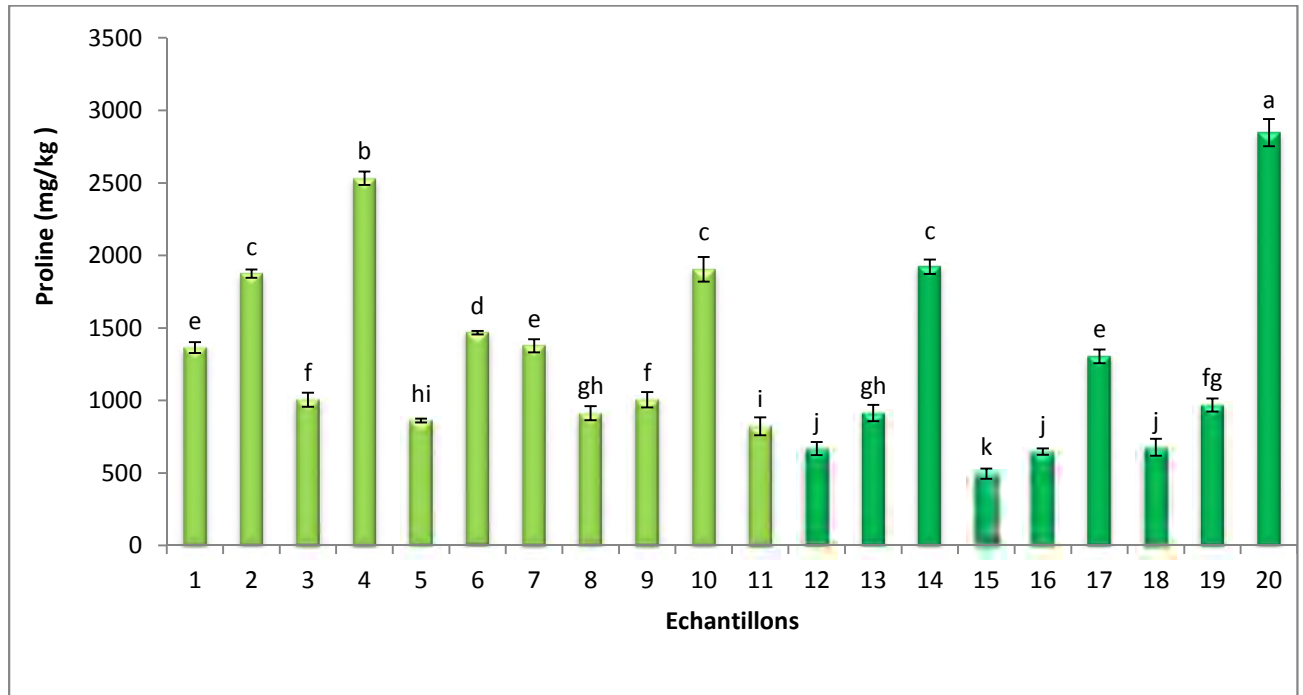


Figure 8 : prolines des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

2. Antioxydants et activités antioxydantes

2.1. Antioxydants

2.1.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols est estimée par une méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu malgré son interférence avec les composés non phénoliques comme : les protéines, les acides aminés, l'acide ascorbique et quelques sucres. Cependant, elle reste la méthode la plus utilisée pour la détermination de la concentration des polyphénols totaux (Ouchemoukh, 2012).

La teneur en composés phénoliques oscille de $21,65 \pm 1,08$ pour le miel de Tizi-Ouzou (M12) à $68,55 \pm 2,84$ mg EAG/100g pour le miel de Tighremt (M6) (figure 9). Ces résultats

sont distincts de ceux rapportés par Al-Mammary *et al.* (2002) sur les miels de Yemen (56,32 – 246,21 mg EAG/100g) et Ouchemoukh *et al.* (2007) (64 – 1304 mg EAG/100g).

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapportés par Ertürk *et al.* (2014) pour 9 échantillons de miels récoltés en Turquie (5,8 – 39,6 mg EAG/100 g) et Maurya *et al.* (2014) sur les miels provenant d'Inde (4,48 – 48,22 mg EAG/100g).

Ces variations en composés phénoliques s'expliquent par l'origine botanique et/ou géographique du miel (Ouchemoukh, 2012).

Généralement le contenu des miels clairs en composés phénoliques est inférieur à celui des miels foncés (Berreta *et al.* 2005). En effet, ceci est constaté dans la présente étude. Les concentrations les plus élevées sont enregistrées pour les miels de couleur foncée (M2, M4, M7, M9, M10, M13 et M17) et ne présentent aucune différence significative entre eux, tandis que les miels clairs présentent des concentrations plus faibles à savoir M12 et M15 ; M8 et M16 avec une moyenne de $22,00 \pm 1,28$ et $25,18 \pm 1,61$ mg EAA/100g respectivement. Les échantillons M1, M2 ; M12, M13 et M20 récoltés de la même région (Barbacha et Tizi-Ouzou respectivement) ne possèdent pas la même teneur en polyphénols ($p < 0,05$).

En dépit que les échantillons M1, M3, M11 et M18 ne sont pas de la même région, ils contiennent la même concentration en polyphénols.

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. Meda *et al.* (2005) ont montré que les acides phénoliques (acide caféique, coumarique, ferrulique et ellagique) sont à l'origine de l'activité antioxydante.

Khalil *et al.* (2012) ont rapporté que la majeure partie des phénols du miel dépend de la source végétale (propre, nectar ou le pollen) et que les substances phénoliques sont responsables de la coloration du miel ; un miel foncé contient une quantité importante en composés phénoliques. Meda *et al.* (2005) ont noté que les miels de miellats ont un taux plus élevé en ces composés par rapport aux autres miels.

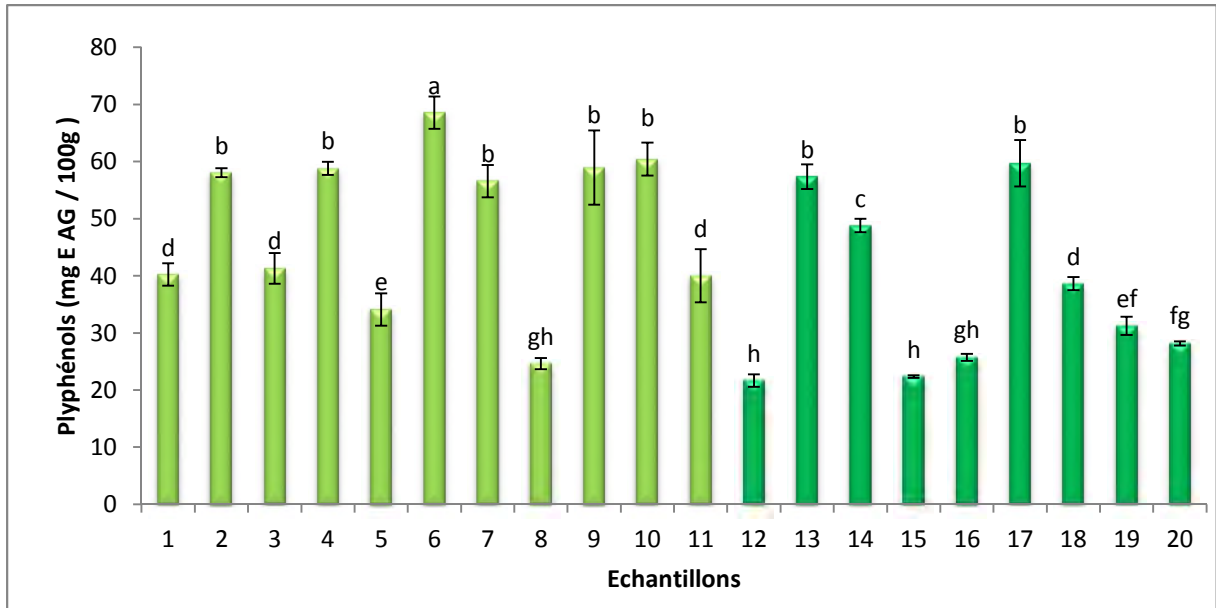


Figure 9 : Teneurs en polyphénols totaux des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

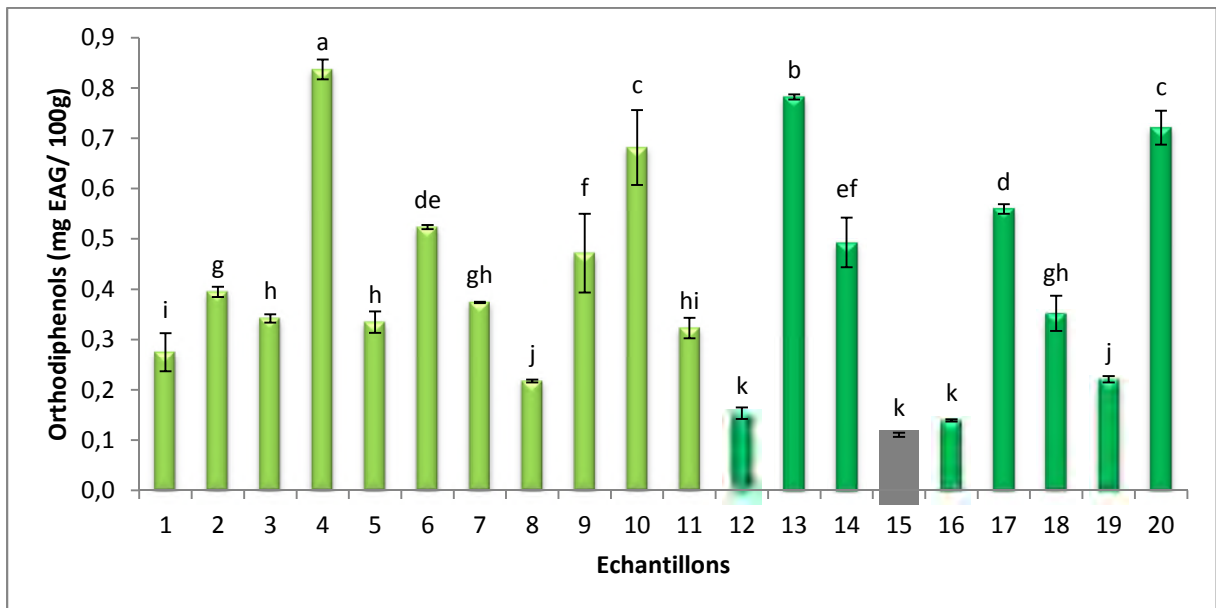


Figure 10 : Teneurs en ortho-diphénols des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

2.1.2. Ortho-diphénols

La figure (10) montre les différentes concentrations en ortho-diphénols des différents échantillons de miels étudiés.

Le taux en ortho-diphénols pour les échantillons de miels analysés varie de 0,11 pour le miel Blida (M15) à 0,84 mg EAA pour le miel de Tazeboujt (M4). Ce dernier présente la teneur la plus élevée en ortho-diphénols et montre une différence significative par rapport aux autres échantillons des miels analysés ($p < 0,05$).

Généralement, le contenu des miels clairs en composés phénoliques est inférieure à celui des miels foncés (Berreta *et al.*, 2005). En effet, ceci est constaté dans la présente étude. Les miels M4, M10, M13, M20 et M17 qui sont les plus sombres contiennent la plus forte concentration en ortho-diphénols ; les échantillons M15, M12, M8 et M16 ayant une couleur plus claire renferme la quantité la plus faible en ces substances.

La teneur en ortho-diphénols des miels analysés par ordre décroissant est comme suit :

M4 > M13 > M20=M10 > M17 > M6 > M14 > M9 > M2 > M18= M7 > M3 = M5 > M11 > M1 > M19= M8 > M12 = M15= M16.

Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Amiot *et al.* (1989) sur les composés phénoliques des miels récoltés en France (1,2 à 9,1 mg EAA/100 g). Les données disponibles sur la teneur en ortho-diphénols sont limitées.

2.1.3. Flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes des différents miels analysés est compris entre $12,57 \pm 0,95$ (M15) et $51,13 \pm 1,24$ (M11) mg EQ/100 g (figure11). Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Meda *et al.* (2005), Liberato *et al.* (2011) et Khalil *et al.* (2012) (0,30 à 35,74 mg EQ/100 g, 1,7 à 8,35 mg EQ/100g, de 2,7 à 5,4 mg EQ/100 g et de 4,8 à 22.8 mg EQ/100 g, respectivement). Ils sont inférieurs à ceux observés pour les échantillons de miels analysés dans cette présente étude.

L'échantillon du miel d'Amizour est le plus riche en flavonoïdes, il présente une teneur qui diffère significativement de celle des autres miels. L'échantillon du miel de Blida présente le taux le plus faible en ces composés. La présente étude confirme les résultats

obtenus par Ouchemoukh (2012) qui a constaté que les miels de Blida sont les moins riches en flavonoïdes.

Ouchemoukh (2012) a identifié dans les miels polyfloraux d'Algérie 16 flavonoïdes qui appartiennent à quatre classes différentes : flavones (galangine, apigénine, chrysine et lutéoline), flavonols, flavonones (isosakuranétine, pinobanksine, pinocembrine) et isoflavones (génistéine et diadzène), ces derniers sont à l'origine de l'activité antioxydante du miel (Meda *et al.*, 2005).

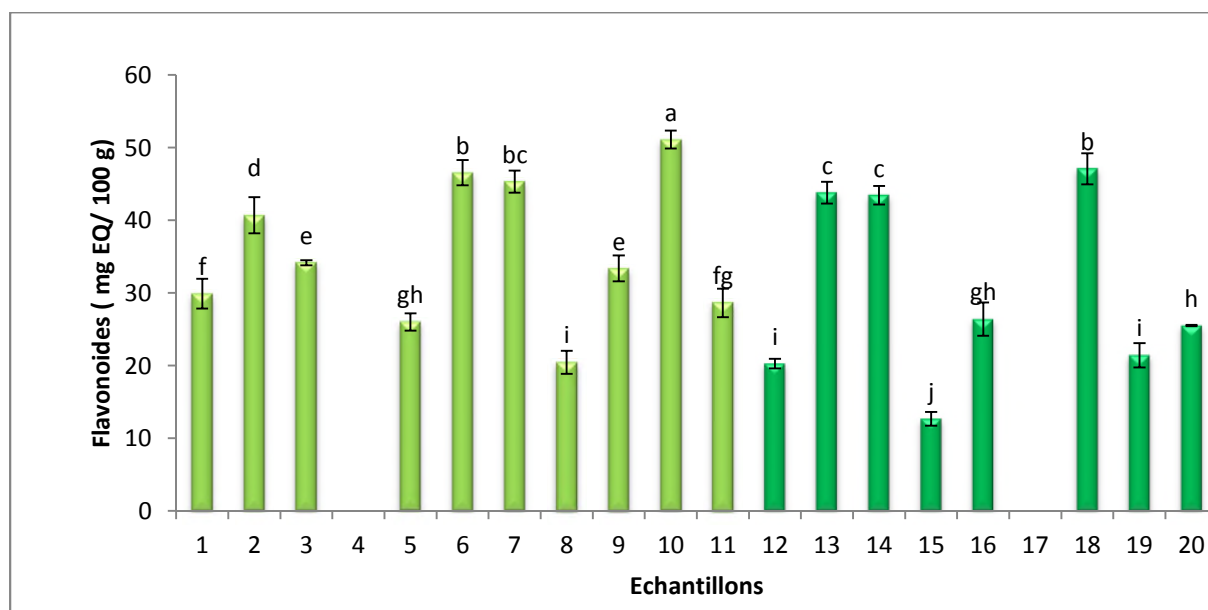


Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

2.2. Activités antioxydantes

Le potentiel antioxydant des miels peut être mesuré à travers plusieurs tests *in vitro*. Cependant, une seule méthode n'est pas recommandée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des différents miels à cause de la complexité de leur composition. Par conséquent, la capacité antioxydante des miels naturels devrait être évaluée en associant plusieurs tests pour obtenir des résultats probants (Ouchemoukh, 2012). La capacité antioxydante des miels Algériens est estimée par six méthodes : activités antiradicalaires en utilisant le radical DPPH et l'ABTS^{•+}, les pouvoirs réducteur et chélateur du fer, le FRAP ainsi que la réduction de molybdate.

2.2.1. Activité scavenging du radical DPPH

L'activité antiradicalaire consiste à mettre le radical DPPH en présence de molécules dites « antioxydants » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (Molyneux, 2004). La méthode est rapide et commode à mettre en œuvre.

L'activité antiradicalaire des différents miels étudiés varie de $32,60 \pm 0,78$ (M7) à $70,55 \pm 0,27$ % (M20) avec une moyenne de $43,81 \pm 1,25$ % (figure 12). La moyenne de l'activité antiradicalaire enregistrée est largement supérieure à celle obtenue par Ouchemoukh (2012) et Habib *et al.* (2013). Cependant, elle est inférieure à celle obtenus par Maurya *et al.* (2014).

L'analyse statistique montre clairement que l'échantillon du miel M20 présente le pouvoir antiradicalaire le plus significativement élevé (70,55 %). Ceci est probablement dû à sa richesse en proline et en orthodiphénols. Par ailleurs M6 et M13 possèdent le même potentiel antioxydant ($p < 0,05$) : $60,37 \pm 0,47$ et $56,85 \pm 0,65$ % respectivement.

Les miels M1 et M2 ; M12, M13 et M20 récoltés dans les mêmes régions à savoir Bejaïa et Tizi-Ouzou, ne possèdent pas la même activité antiradicalaire. En outre, M15 et M7 montrent un potentiel antioxydant similaire ($p < 0,05$) malgré la différence de type de production (industrielle ou artisanale).

Alisi *et al.* (2013) ont rapporté que la propriété scavenging des radicaux libres par le miel pourrait être due à l'acide ascorbique, aux acides aminés libres et aux composés phénoliques totaux. En effet, Selon Sonmez *et al.* (2005) l'acide ascorbique fonctionne en tant que le plus important piègeur de radicaux, protège les acides gras insaturés de la membrane cellulaire et agit directement à l'intérieur des cellules en protégeant ainsi la membrane contre les dommages oxydatifs.

Les études de Beretta *et al.* (2005) et Van Der Berg *et al.* (2008) ont rapporté que de grandes disparités dans l'activité antioxydante peuvent être rencontrées selon les miels. Néanmoins, les miels d'une même origine florale quelque soit leur origine géographique, présentent un pouvoir antioxydant quasi-similaire. Le type de production (artisanale ou industrielle), les manipulations et le stockage ne semblent pas affecter, ou seulement de façon mineure les capacités antioxydantes du miel.

Les résultats de l'activité antiradicalaire obtenus se concordent avec ceux de Khalil et al. (2012). Ces derniers ont montré que l'activité antiradicalaire dépend de la nature des composés phénoliques disponibles. Contrairement aux résultats indiqués par Moniruzzaman *et al.* (2013) pour certains miels récoltés en Malaisie, l'activité scavenging des radicaux libres par les miels testés dans cette présente étude semble la plus élevée.

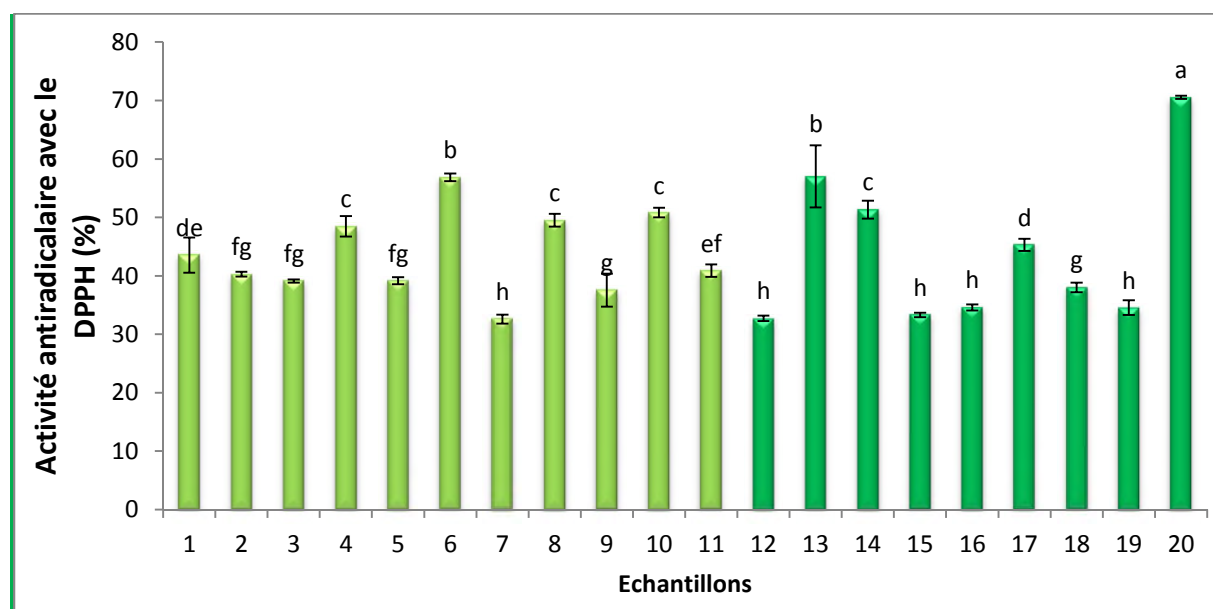


Figure 12: Activités antiradicalaires avec le DPPH des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

2.2.2. Activité antiradicalaire contre le radical ABTS

L'activité antiradicalaire par l'ABTS des différents miels étudiés varie de $49,73 \pm 0,99$ (M12) à $91,83 \pm 1,27\%$ (M 13) (figure 13). Les échantillons de miels M6 et M13 présentent une activité antiradicalaire élevée et elle se distingue significativement ($p < 0,05$) par rapport aux autres échantillons. Ce potentiel antioxydant important est dû probablement à leur teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes. Les échantillons M16 (51,64 %), M15 (52,56 %), M12 (49,73 %) et M8 (52,97 %) présentent statistiquement le plus faible potentiel antioxydant par rapport aux autres échantillons, ceci est peut être dû à leur composition chimique, essentiellement en leur teneur en flavonoïdes, composés phénoliques totaux et en proline.

Al-Mamary *et al.* (2002) attribuent ces différences aux origines botaniques, à la présence de maints agents antioxydants tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les vitamines C et E.

La majorité des résultats obtenus présentent une différence significative dans leur activité antiradicalaire avec l'ABTS, exception faite pour : M2 et M9 ; M4, M7, M17 et M19 ; M8, M12, M15 et M16 qui sont similaires. Cette similarité dans leur activité antiradicalaire est due probablement à la même teneur en : composés phénoliques totaux et flavonoïdes pour M2 et M9 ; flavonoïdes pour M4, M7, M17 et M19 ; composés phénoliques totaux, flavonoïdes et en proline pour les miels M8, M12, M15 et M16.

Ces résultats sont largement supérieurs à ceux rapporté par Wilczyńska. (2010) (2-31.51%) concernant 34 échantillons des miels récoltés en Pologne. Cette variation dans leur potentiel antioxydant peut être expliquée par l'origine botanique des miels testés ou par leurs teneurs en composés phénoliques, confirmant ainsi que la plus grande influence sur l'activité antioxydante du miel est accordée à son origine botanique (Al-Mamary *et al.*, 2002). En outre Aljadi et Kamaruddin (2004) ont montré que la variation de l'activité antioxydante est due à la qualité et à la quantité des composés phénoliques présents dans le miel.

L'efficacité antioxydante *in vitro* de nombreux polyphénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène est transféré de la fonction hydroxyle du cycle aromatique au radical libre.

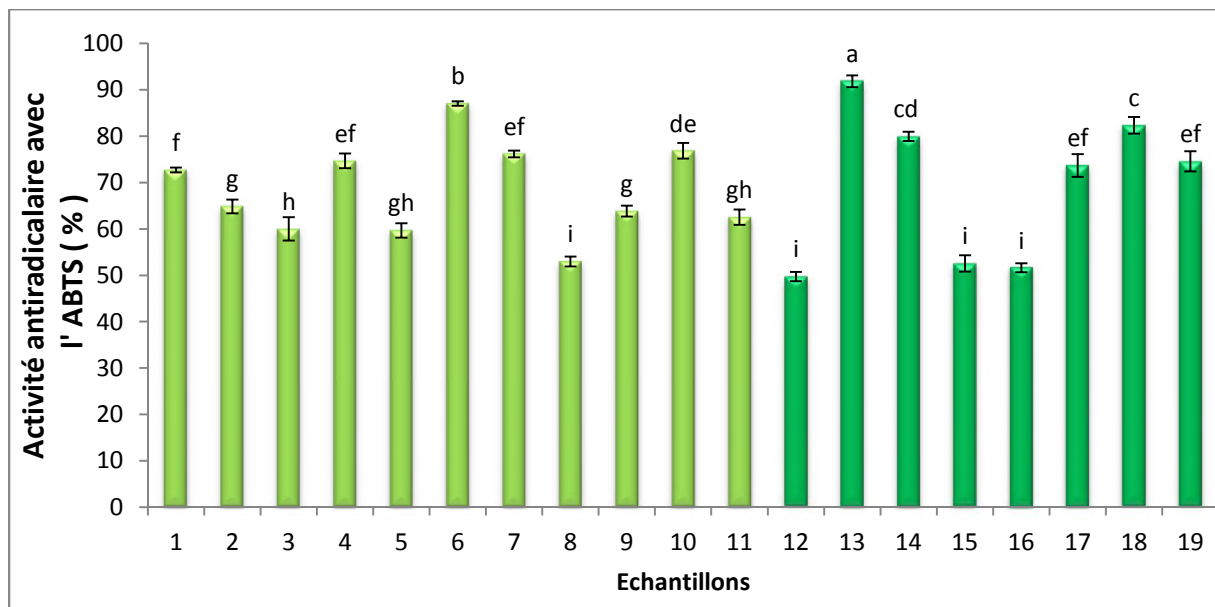


Figure 13 : Activités antiradicalaires avec l'ABTS des miels analysés

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

2.2.3. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydante de l'échantillon testé (Küçük *et al.*, 2007).

L'analyse des résultats dévoile que le pouvoir réducteur se différencie d'une région à une autre et varie de $13,11 \pm 0,11$ pour l'échantillon de Blida (M15) à $52,46 \pm 1,82$ mg EAG/100g pour l'échantillon de Barbacha (figure 14). L'étude statistique montre des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons analysés dans leur capacité réductrice.

La capacité réductrice élevée pour le miel de Boukhiam (M3) n'est pas due qu'à sa teneur en composés phénoliques totaux et flavonoïdes. Cette activité élevée revient probablement à d'autres molécules non analysées tels que les acides organiques et l'acide ascorbique ce dernier représente un pouvoir réducteur élevé selon Ferreira *et al.* (2009) et Khalil *et al.* (2012).

Les miels de Barbacha (M2) et Tighremt (M6) sont les échantillons réducteurs du fer les plus puissants avec une moyenne de $52,26 \pm 1,25$ mg EAG/100g, ceci pourrait être dû à leur teneur élevée en composés phénoliques totaux, flavonoïde et en proline. En revanche elle est faible pour M15 et M16 ayant un faible potentiel réducteur.

Les miels M13, M10, M9 et M1 n'ont révélée aucune différence significative dans leur activité réductrice ($p < 0,05$), ceci pourrait être expliqué par leur teneur semblable en polyphénols et flavonoïdes.

Les résultats de la présente étude montrent que le pouvoir réducteur est proportionnel à la teneur en composés phénoliques des miels étudiés.

Le pouvoir réducteur des différents miels testés sont classés par ordre décroissant comme suit :

M2=M6>M3>M1=M9=M10=M13>M14=M4>M17>M11>M7=M12=M18=M20>M5=M19>M15=M16>M8.

Al-Mamary *et al.* (2002), montre que l'activité antioxydante est variable d'un miel à autre selon la source botanique, la présence de différents composés antioxydants et selon leur teneur en ces composés. Ainsi les composés phénoliques présents dans le miel sont des piègeurs efficaces des radicaux libres.

Selon Küçük et al., 2007 le pouvoir réducteur du miel est dû à la somme des activités réductrices partielles de ses composés réducteurs

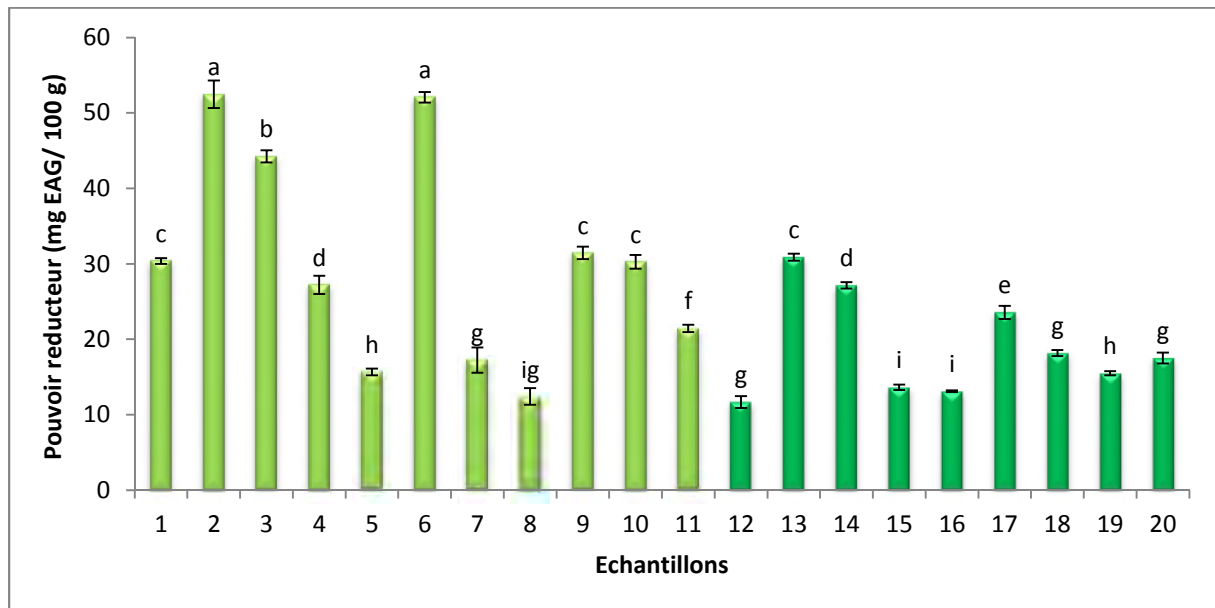


Figure 14 : Pouvoir réducteur des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

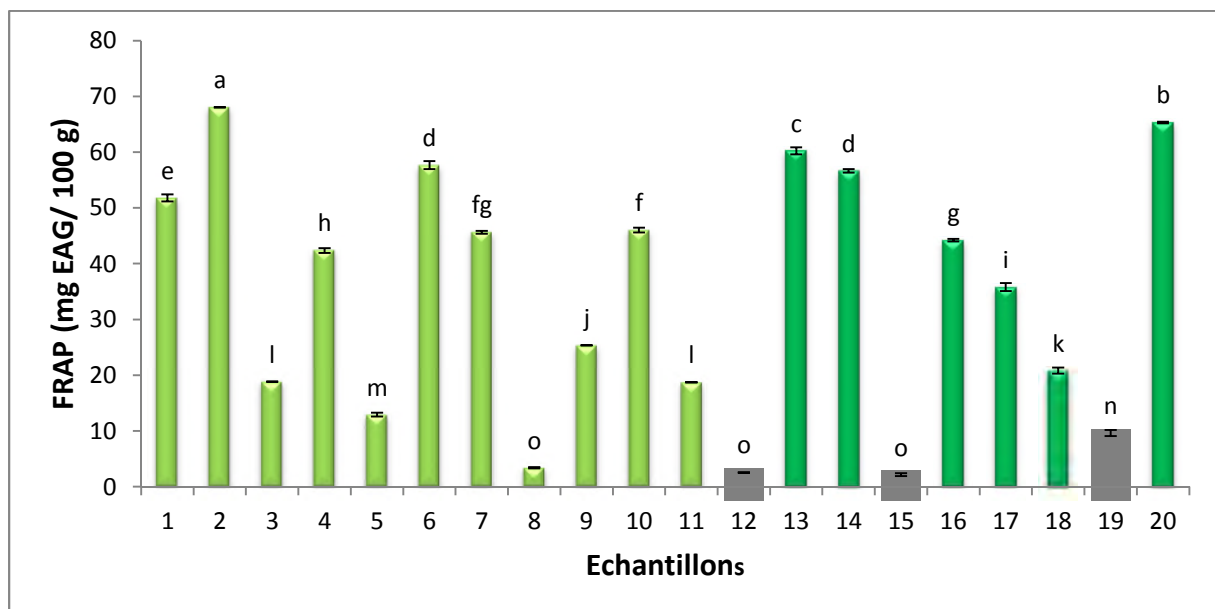


Figure 15 : Testes de FRAP des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

2.4. Teste de FRAP

L'activité antioxydante des échantillons de miels est évaluée aussi par le test de FRAP, un simple test, rapide et reproductible. L'avantage de ce test est que les antioxydants non enzymatiques (glutathion, acide ascorbique, alpha tocophérol et le B carotène) peuvent être quantifié (Blasa *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus illustrés par la figure (15) montrent que la capacité de réduire le fer varie considérablement entre les échantillons analysés et oscille entre $2,15 \pm 0,28$ (M15) et $68,03 \pm 0,06$ mg EAG/100g (M2). Les miels M2, M20 et M13 présentent la capacité réductrice la plus importante à réduire le fer ferrique Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{+2} se distinguent significativement par rapport aux autres échantillons. Par contre, les miels M15, M12 et M8 exhibent la capacité réductrice la plus faible malgré leur teneur élevée en composés phénoliques et ne présentent pas de différences significatives entre eux ($p < 0,05$). Ce faible potentiel antioxydant est probablement dû à leur composition chimique essentiellement en leur teneur en flavonoïdes et proline. Par ailleurs, une activité antioxydante similaire est observée avec les échantillons M6, M13 et M14 malgré leur provenance de différentes régions de la récolte, ceci pourrait être dû à l'origine florale de ces différents miels. Ces résultats obtenus sont distincts de ceux rapportés par Chua *et al.* (2013) sur les miels récoltés en Malaisie (52,386 à 82,529 mg ET/100 g).

Le potentiel antioxydant élevé des miels de Barbacha (M2) et Tizi-Ouzou (M13, M20) est du probablement à leur teneur élevée en composés phénoliques en flavonoïdes et en proline.

La capacité antioxydante est fondée sur la neutralisation des radicaux libres par le don d'un atome d'hydrogène (Gordon, 1990).

Beretta *et al.*, (2005) ont signalé que le potentiel antioxydant est directement proportionnel avec la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes présents dans le miel. Des résultats similaires obtonue sont rapportés par d'autres études (Aljadi et Kamaruddin, 2004 ; Blasa *et al.*, 2006 ; Bertoncelej *et al.*, 2007) qui ont montré une corrélation significative entre la teneur des composés phénoliques totaux et la teneur de Fe^{2+} formés en présence des antioxydants de miels. Par ailleurs, selon Balasundram *et al.* (2006), le pouvoir antioxydant est influencé par plusieurs facteurs dans la molécule antioxydante. La structure, le nombre de groupement hydroxyles attachés au noyau phénolique et le nombre de noyaux aromatiques jouent un rôle crucial dans l'activité antioxydante.

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).

2.5 Pouvoir chélateur du fer (Ferrozine)

Les résultats illustrés dans la figure (16) montrent que le pouvoir chélateur du fer est compris entre $15,02 \pm 3,90$ % (M1) et $64,00 \pm 0,34$ % (M6).

Les miels M6, M15 et M19 présentent le meilleur pouvoir chélateur qui diffère significativement de celui des autres miels. En revanche, M1 et M4 possèdent la plus faible capacité chélatrice et ne montre aucune différence significative entre eux ($p < 0,05$). Les miels M13 et M2 ; M7, M10, M11 et M16 ; M12 et M17 ; M8 et M9 ; M14 et M5 ; M1 et M4 possèdent la même capacité chélatrice du fer du point de vue statistique ($p < 0,05$).

La capacité chélatrice du fer des différents échantillons de miels analysés présentent une différence significative. Ils sont classés par ordre décroissant comme suit :

M6 > M15 > M19 > M2 = M3 > M7 = M10 = M11 = M16 > M20 > M18 > M17 = M12 > M9 = M8 > M5 = M14 > M3 > M1 = M4 ($p < 0,05$).

Les composés phénoliques contribuent de manière significative à la capacité antioxydante du miel (Gheldof *et al.*, 2002).

Des études sur les miels de Nigeria ont rapporté une faible capacité chélatrice avec un pourcentage < 10 %. (Geckil *et al.*, 2005 ; Ita, 2011).

Les miels analysés possèdent un pouvoir chélateur de fer tout en capturant l'ion ferreux avant qu'il soit complexé avec la ferrozine. Les différents pouvoirs chélateurs des miels reflètent la nature complexe des chélateurs qui y sont présents, ayant des affinités différentes pour le fer, en compétition avec la ferrozine (Ouchemoukh, 2012).

Elmastaş *et al.*, (2006) montrent que la capacité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration de métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique.

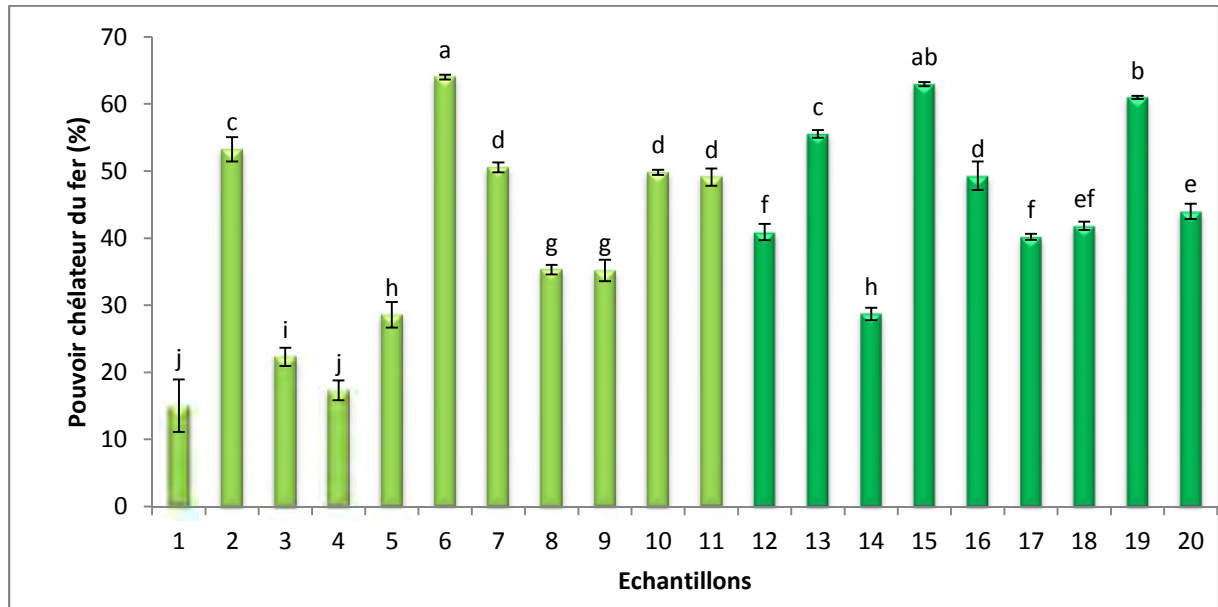


Figure 16 : Pouvoir chélateur du fer des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

2.6. Réduction de molybdate

Les résultats obtenus révèlent que l'activité antioxydante des miels analysés varie de $825,34 \pm 10,31$ (M6) et $1364,11 \pm 3,44$ mg EAG/100g (M20) (figure). L'échantillon du miel M20 présente la capacité antioxydante par le phosphomolybdate la plus élevée, tandis que le miel M6 (Tighrent) est l'échantillon qui possède la plus faible capacité à réduire le molybdate et diffère significativement par rapport aux autres échantillons ($P < 0,05$).

L'analyse statistique de la variance ne révèle aucune différence observée entre les échantillons de miels M3, M7, M8 et M17 ; M11 et M13 ; M2, M9, M15 et M18 ; M4, M5, M14 et M19 ; M10 et M16 ($p < 0,05$). Aljadi *et al.* (2004) ont montré que la variation de l'activité antioxydante est due à la qualité et la quantité des composés phénoliques présents dans le miel.

De nombreux composants du miel semblent contribuer à ses capacités antioxydantes. Ainsi il a été mis en évidence que les composés phénoliques et les flavonoïdes du miel participent de façon significative à son pouvoir antioxydant, mais ils ne sont pas les seuls à en être responsables (Al-Mammary *et al.*, 2002 ; Blasa *et al.*, 2006 ; Hegazi *et al.*, 2009). Des molécules comme les caroténoïdes, des acides organiques, des enzymes des peptides et

probablement d'autres composés mineurs semblent contribuer également à son pouvoir antioxydant (Hegazi *et al.*, 2009).

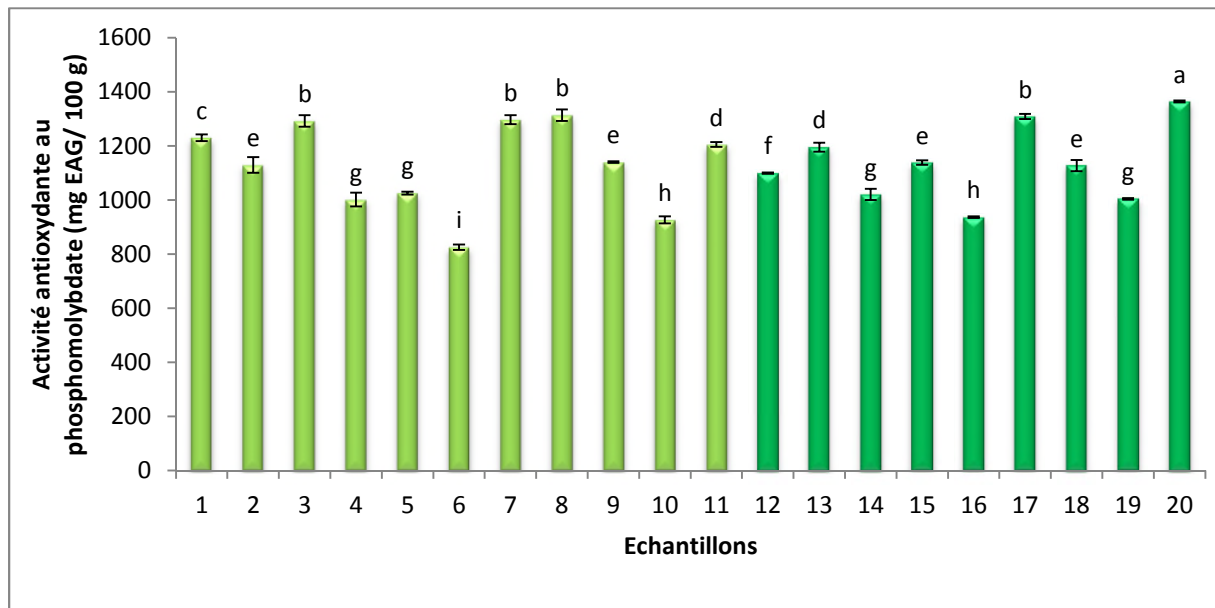


Figure 17 : Activité antioxydante au phosphomolybdate des miels analysés.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

3. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne est réalisée sur six échantillons de miels ayant de meilleures activités antioxydante par rapport aux autres échantillons.

Tous les tests ont été effectués en minimum trois fois, avec des solutions de différentes concentrations (75 %, 50 %, 33 % et 25 % m/v).

Le diamètre de zone d'inhibition obtenue permet d'évaluer l'activité antibactérienne du miel (Figure 22).

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les deux souches sont affectées par les différents miels et le diamètre d'inhibition varie de 10,82 à 18,27 mm pour la plus faible concentration des miels (25 % m/v) et de 13,05 à 31,23 mm pour la plus forte concentration des miels (75 % m/v).

Tous les échantillons de miels ont montré une activité antibactérienne sur les souches bactérienne ciblée. Ces dernières ont montré une sensibilité maximale à une concentration de 75 % des miels testés.

La figure (20) montre l'action antibactérienne des différents types de miels sur *E. Coli*. L'inhibition est marquée principalement dans les trois premières concentrations (75%, 50% et 33%) pour les échantillons M13, M6 et M4, En revanche, les miels M17, M18 et M2 exercent un effet inhibiteur qu'avec les deux premières concentrations (75 % et 50 %).

D'après la figure(18), l'activité inhibitrice des différentes sortes de miels sur *S.aureus* est importante pour les quatre concentrations et les zones d'inhibitions varient de 13,05 à 31,23 mm ; 11,35 à 26,91 mm ; 12,42 à 20,13mm et de 10,82 à 18,27mm pour les concentrations 75, 50, 33 et 25%, respectivement.

La zone d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des miels et elle diminue avec des dilutions successives.

La comparaison des moyennes démontre que l'inhibition est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble des miels analysés. L'analyse statistique a mis en évidence une grande fluctuation des mesures à 75 % (figure 19 et 21). Les miels M18 et M13 sont les échantillons les plus efficaces et enregistrent une différence significative par rapport aux autres miels sur *S.aureus* et *E.coli*, respectivement. Alors que le miel M17 est l'échantillon qui possède l'activité la plus faible qui diffère significativement par rapport aux autres échantillons ($p < 0,05$).

La réaction d'oxydation enzymatique du glucose et les propriétés physiques du miel sont considérés comme étant les facteurs majeurs de l'activité antibactérienne (Al-Habsi et Niranjana, 2012). D'autres paramètres interviennent dans l'activité antibactérienne tels que le pH, l'acidité, les protéines, le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine du miel (Mandel et Mendel, 2011) , la deffensine1, MGO ainsi que les composants physico-chimiques tel que les acide phénols et les flavonoïdes, qui sont généralement en faible quantité, sont des inhibines non peroxyde (Lusby et al., 2002 ; Escuredo *et al.*, 2012) .

L'étude fait ressortir que le miel M18 avec les plus grands diamètres d'inhibition est le moins riche en composés phénoliques par rapport aux autres cinq échantillons testés. En revanche M2, M4 et M17 qui sont les plus riches en ces composés, ont les plus petits diamètres d'inhibition. Ceci signifie que les composés phénoliques interviennent faiblement dans le processus antibactérien des miels. Une étude de l'activité antibactérienne d'extrait d'acides phénolique et de flavonoïdes de miel devrait permettre de mieux évaluer l'activité antibactérienne des phénols du miel (Aljadi et Kamaruddine, 2004).

Une inhibition similaire est observée pour les miels M13 et M6 avec *S. aureus*, M18 et M4 avec *E. coli*.

Staphylococcus aureus est la souche la plus sensible avec les échantillons de miels M13, M6, M18, M2 et M4. En revanche, *E. coli* est révélé plus sensible avec l'échantillon M17. L'effet du miel sur la croissance de ces deux bactéries varie en fonction du type de miel, ça concentration ainsi que sur l'espèce bactérienne.

Il apparaît que le *S. aureus* (gram positive) est la bactérie la plus sensible par comparaison avec *E. coli* (gram négative) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Balentine *et al.*, 1999).

Ces résultats concordent avec les travaux de Salwa et Maher. (2014) qui ont testé l'effet antibactérien des miels de Yémen sur les bactéries à Gram+ et Gram-. Les résultats ont indiqué que *S. aureus* est la plus sensible qu'*E. Coli*.

Moussa *et al.* (2012) ont montré que *S. aureus* est la plus sensible aux miels Algériens mais avec un une sensibilité extrêmement élevée par rapport à celle obtenue par la présente étude.

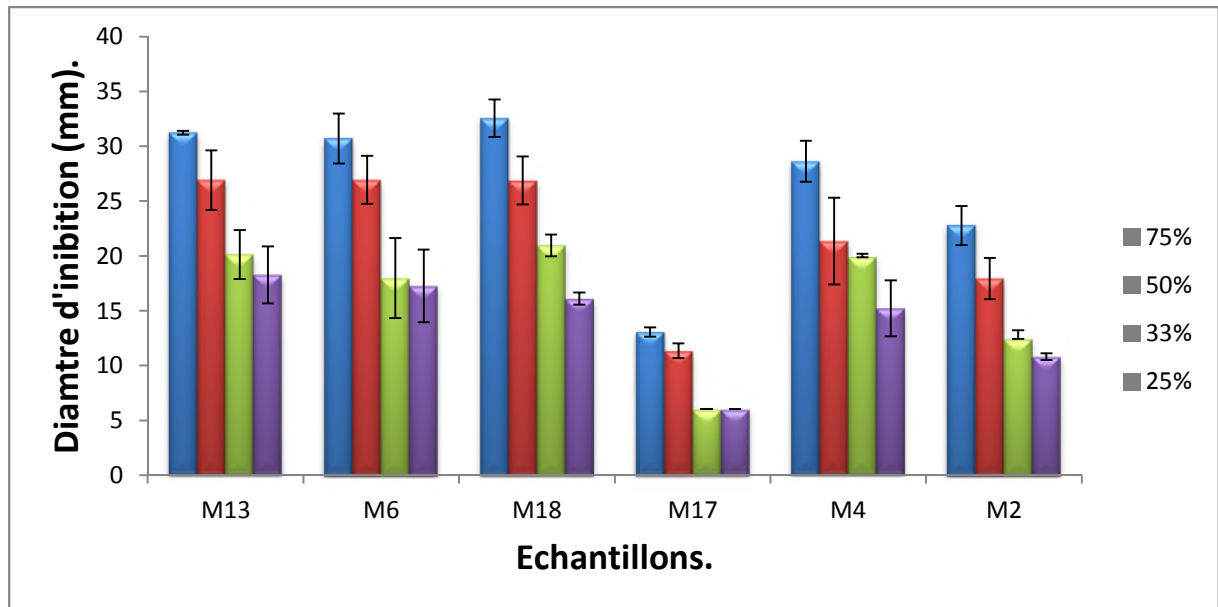


Figure 18 : Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance de *S. aureus*

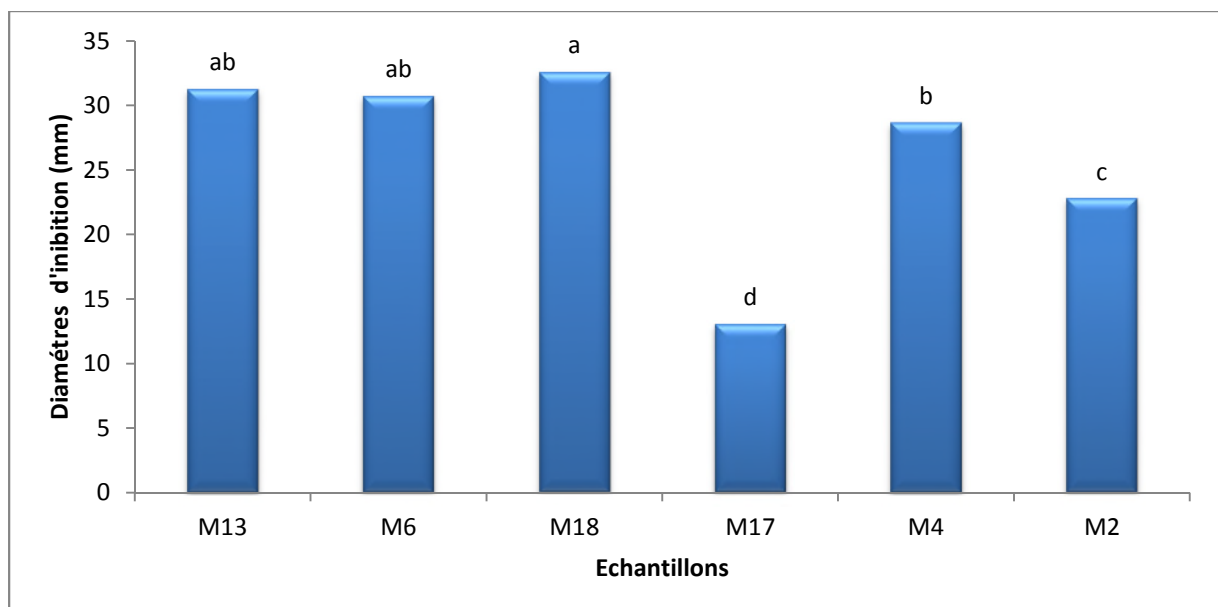


Figure 19: Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance de *S.aureus* à 75%

Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives.

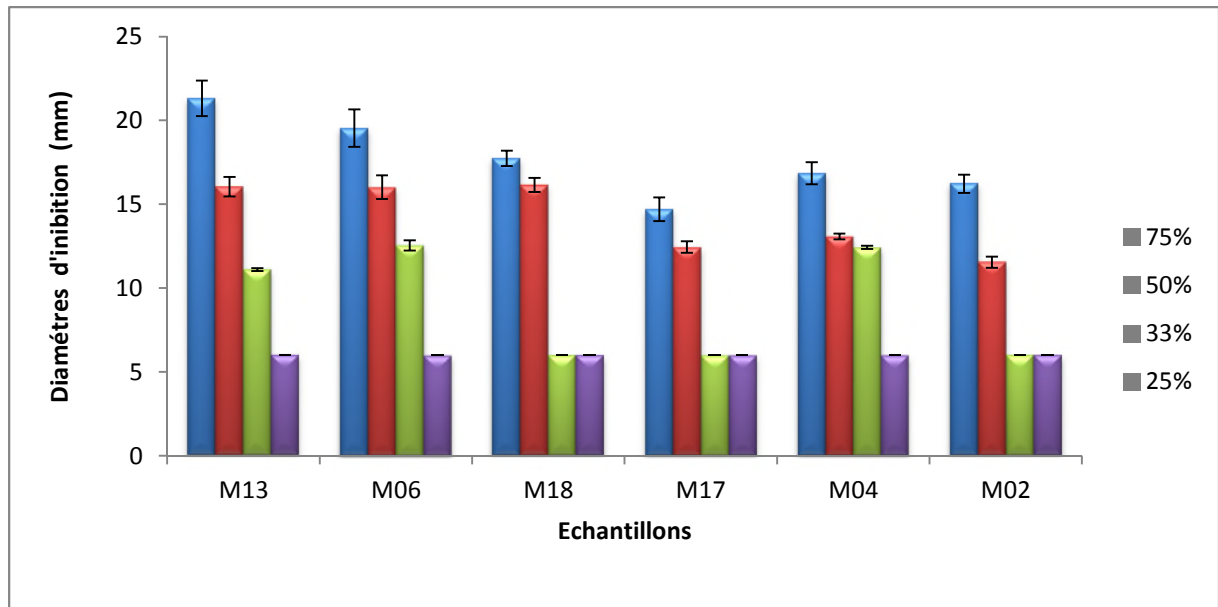


Figure 20 : Effet inhibiteur de différents types de miels sur la croissance d'*E. Coli*

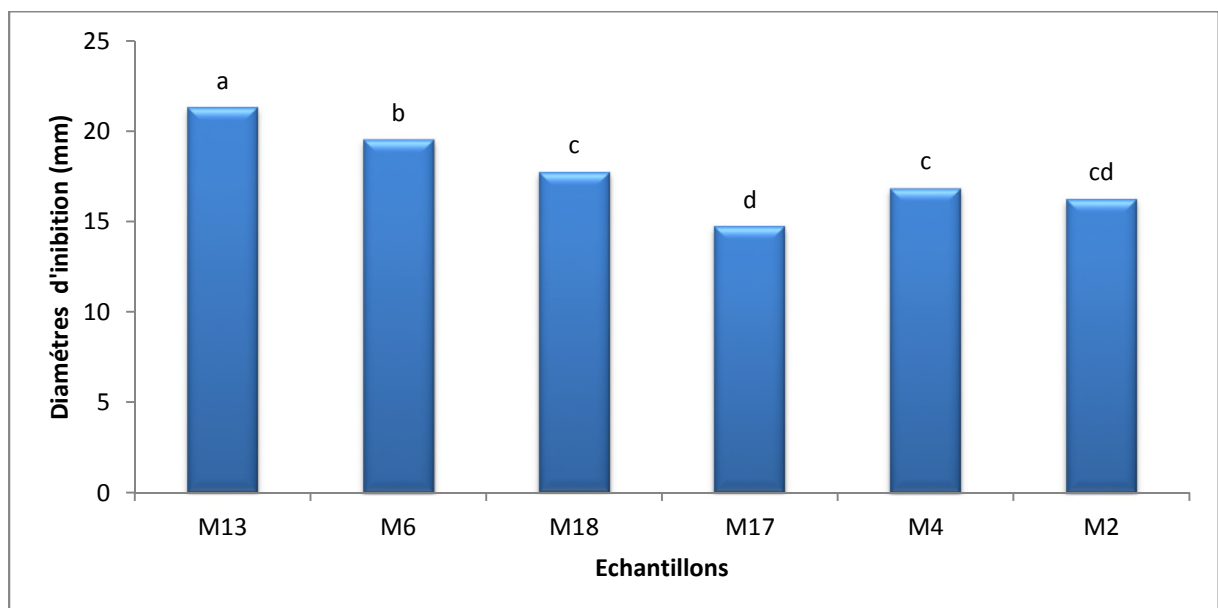


Figure 21 : Effet inhibiteur des différents types de miels sur la croissance d'*E.coli* à 75%

Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives

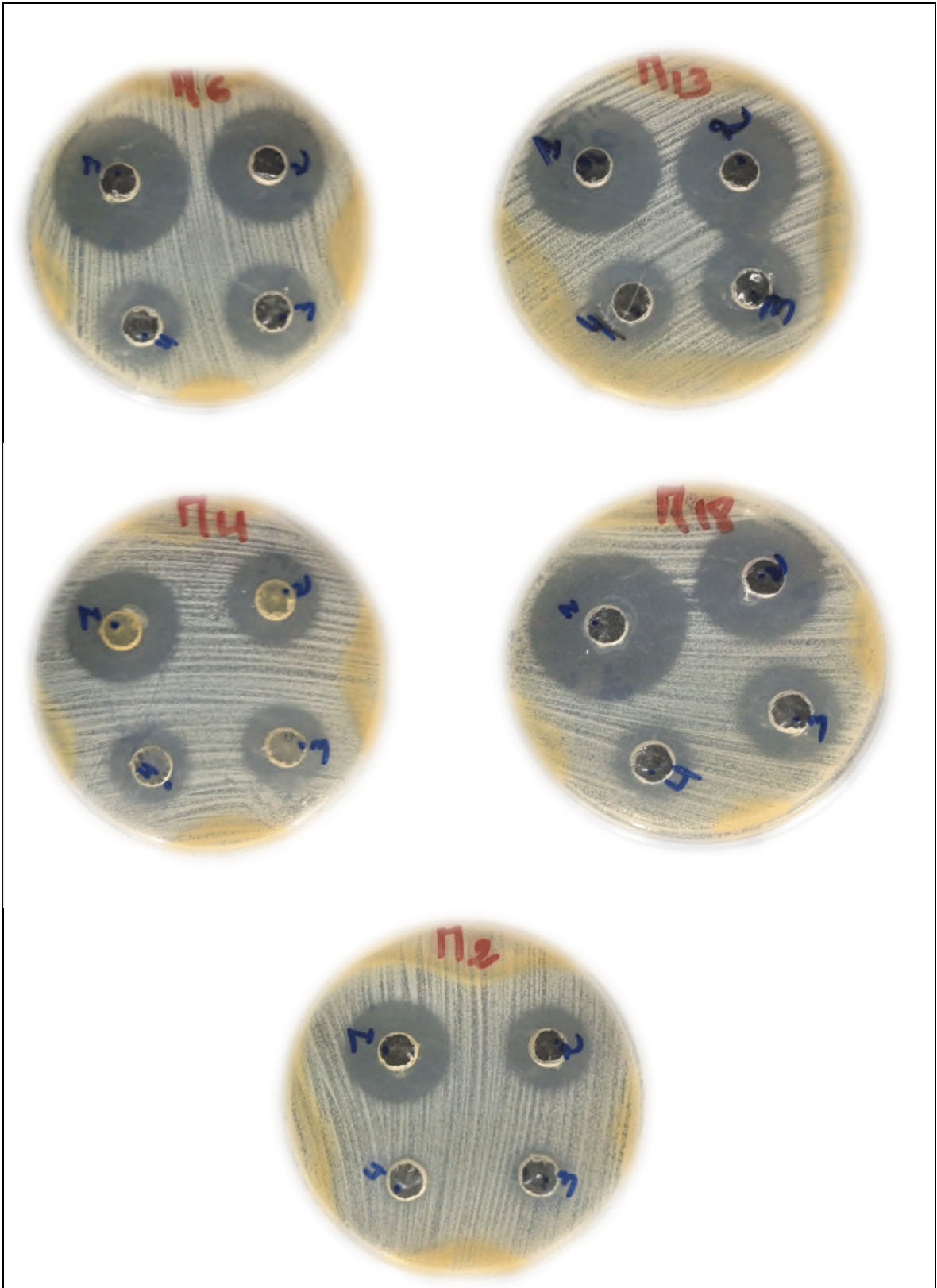


Figure 22 : Activité antibactérienne des miels vis avis *S. aureus*

4. Corrélations couleur, antioxydants et activités antioxydantes.

L'analyse statistique des résultats de la présente étude indique l'existence d'une corrélation très hautement significative entre les teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes ($r=0,67$). En outre, les composés phénoliques et les flavonoïdes sont en relation positive avec les ortho-diphénols ($r=0,81$) ($p<0,001$) (figure 23).

Les résultats obtenus concernant les composés phénoliques totaux et flavonoïdes sont en accord avec ceux obtenus par Al *et al.* (2009) avec un coefficient de corrélation de 0,83.

Le taux des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des orthodiphénols et la conductivité électriques manifestent des corrélations très hautement significative avec la couleur ($r=0,92$; $r=0,88$; $r=0,88$; $r=0,72$, respectivement) (figure 24). En effet, les échantillons des miels M4, M6, M10, M13 et M17 ont les couleurs les plus foncées et les teneurs les plus élevées en polyphénols, flavonoïdes et ortho-diphénols par rapport aux autres miels analysés. Les miels de Blida (M15) et de Tizi-Ouzou (M12) présentant une couleur claire sont les moins riches en antioxydants, protéines et proline.

D'après Taormina *et al.* (2001), la couleur d'un miel reflète en partie la quantité de caroténoïdes et de flavonoïdes qu'il contient.

Plusieurs études ont démontré l'existence de corrélations entre les antioxydants et les activités antioxydantes. Les matrices de corrélations montrent les coefficients de corrélations obtenus et révèlent l'existence de corrélations très hautement significatives entre les composés phénoliques des différents miels étudiés et leur pouvoir réducteur, le FRAP et l'activité antiradicalaire en utilisant l'ABTS et le DPPH avec des coefficients 0,70 ; 0,78 et 0,75, respectivement (figure 25). En revanche, aucune corrélation manifestée entre les polyphénols totaux et la méthode de réduction de molybdate et de chélation du fer.

Une corrélation hautement significative est observée entre les flavonoïdes et les activités antiradicalaires en utilisant l'ABTS et le DPPH, FRAP avec des coefficients de corrélations de 0,51 ; 0,52 ; 0,46, respectivement (figure 25).

En revanche, les flavonoïdes semblent contribuer de manière inverse avec la méthode de chélation du fer qui présente un coefficient de corrélation significatif ($p<0,05$; $r= -0,37$).

Il n'existe pas de corrélation entre les flavonoïdes, la réduction de molybdate et pouvoir chélateur du fer.

Les résultats de corrélation entre les teneurs en ortho-diphénols et les activités antiradicalaires en utilisant l'ABTS, le DPPH, FRAP et le pouvoir réducteur avec des coefficients sont illustrées dans la figure (figure 25). Une corrélation très hautement significative est constatée entre les ortho-diphénols et le FRAP et les activités antiradicalaire par l'ABTS ainsi que le DPPH ($r = 0,60$, $r = 0,73$, $r = 0,82$ respectivement). Par ailleurs, une corrélation significative est obtenue entre les ortho-diphénols et le pouvoir réducteur ($r = 0,43$).

En effet, les teneurs en antioxydants des échantillons de miels de Barbacha (M2), Tighremt (M6), Tizi-Ouzou (M13) et Tazeboujt (M4) sont les plus élevées et possèdent également les meilleures activités antioxydantes.

En général, les miels présentant les capacités antioxydantes les plus importantes sont les miels les plus sombres et opaques (Tomczak, 2010).

Une corrélation très hautement significative est constatée entre la couleur et les activités antiradicalaire avec l'ABTS ($r = 0,70$) et le DPPH ($r = 0,69$), le pouvoir réducteur ($r = 0,56$), le FRAP ($r = 0,67$) (figure 26).

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 ; Aljadi et Kmaruddin, 2004 ; Berreta *et al.*, 2005 ; Holdrena – Kedzia and Kedzia, 2006 et Wilczynska, 2010).

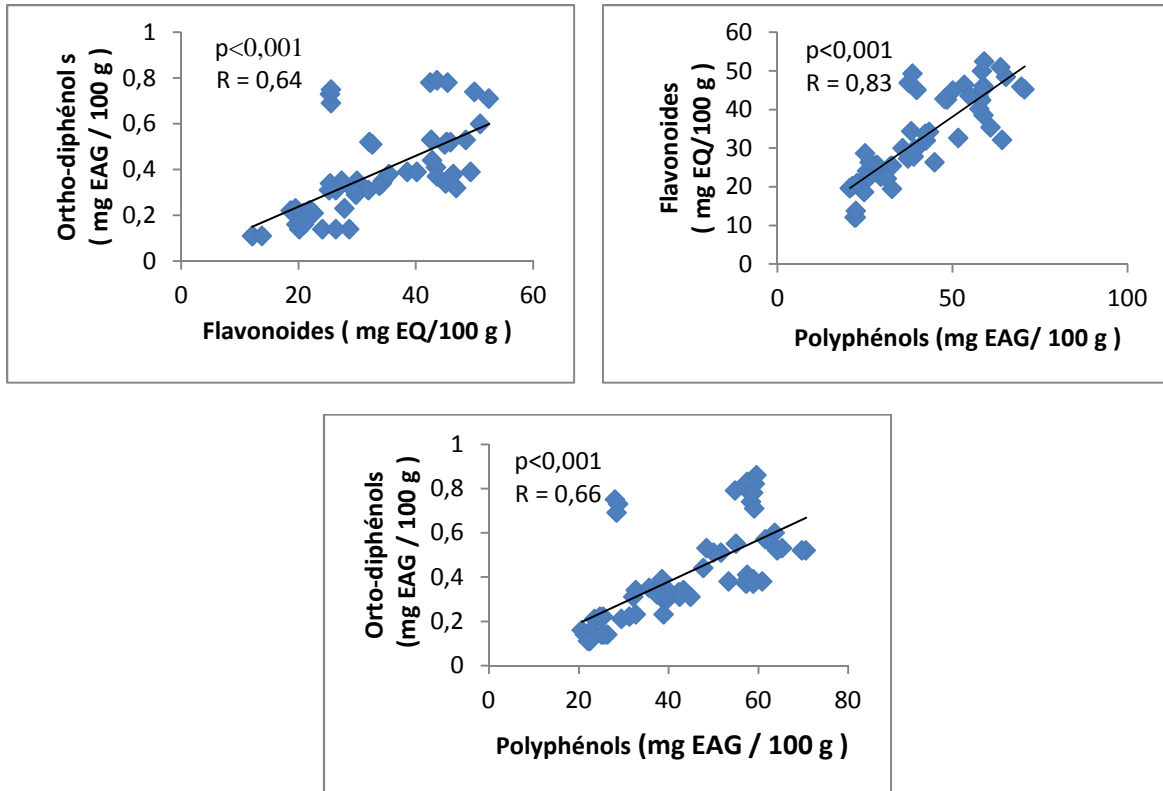


Figure23 : Corrélations entre les antioxydants.

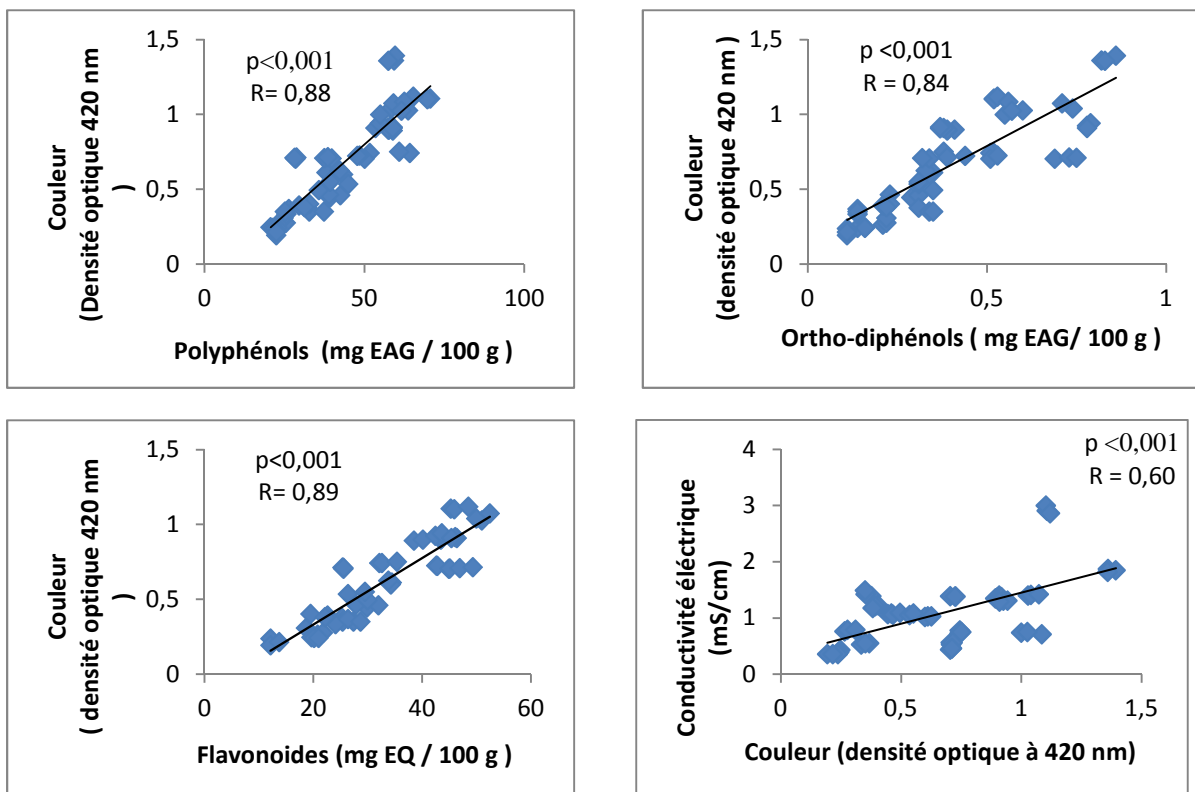
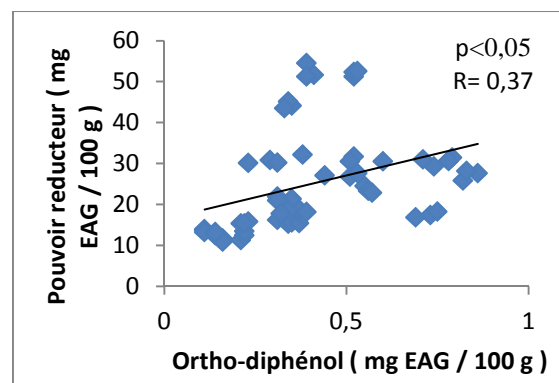
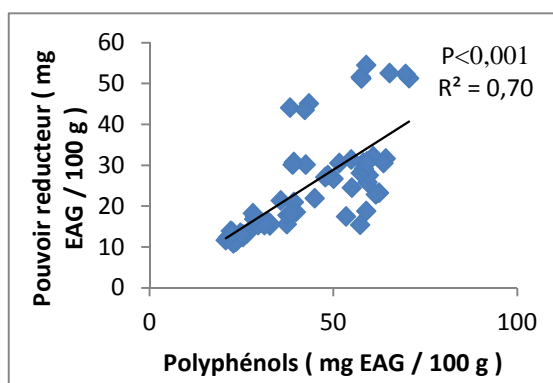
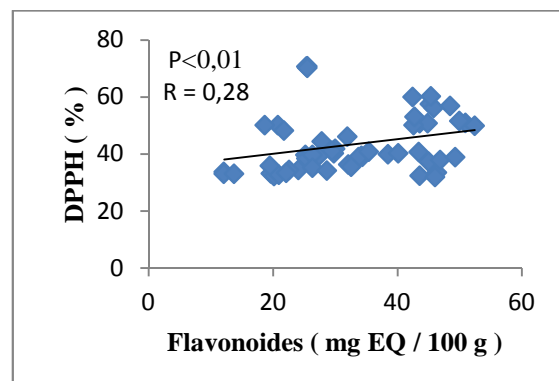
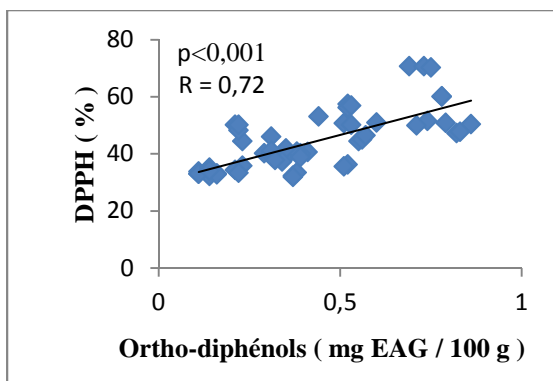
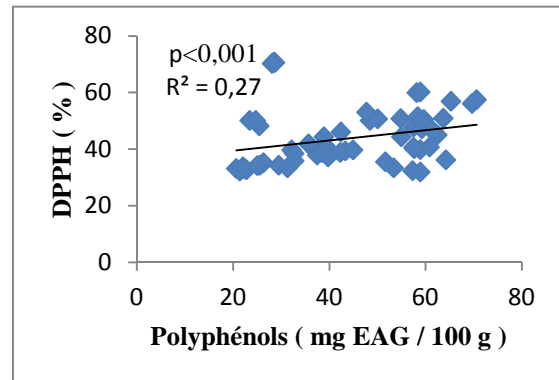
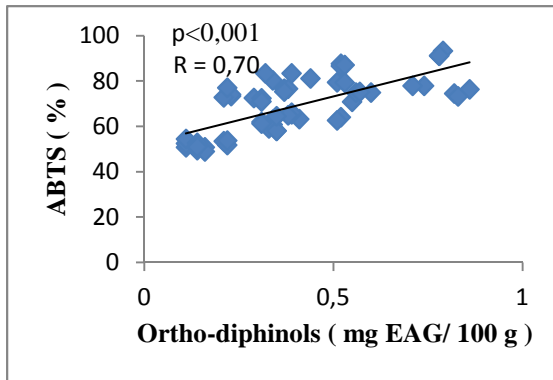
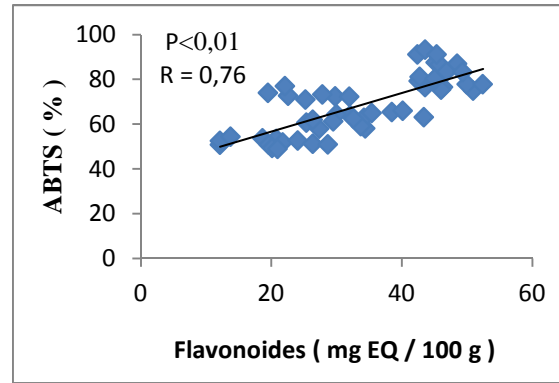
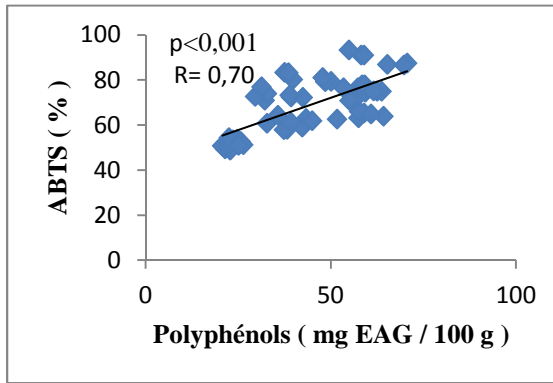


Figure 24 : Corrélations entre la couleur, les composés phénoliques et la conductivité électrique.



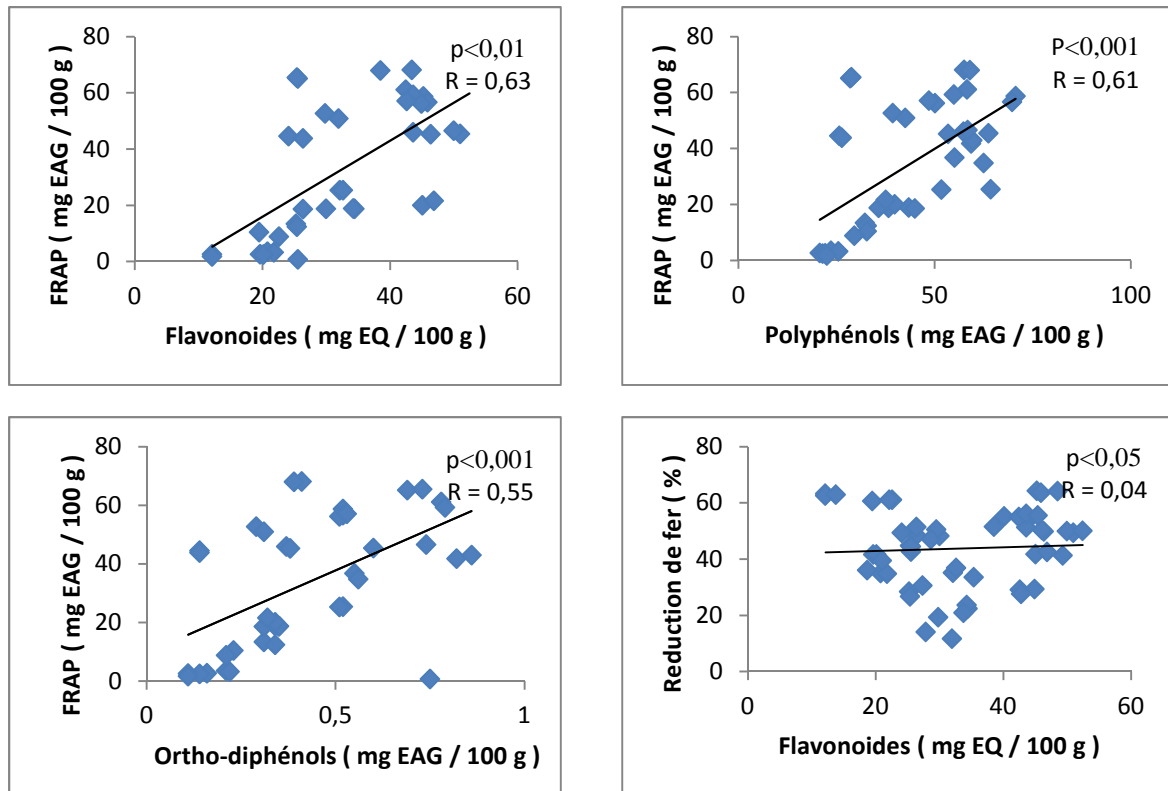


Figure 25 : Corrélations antioxydant et activité antioxydante.

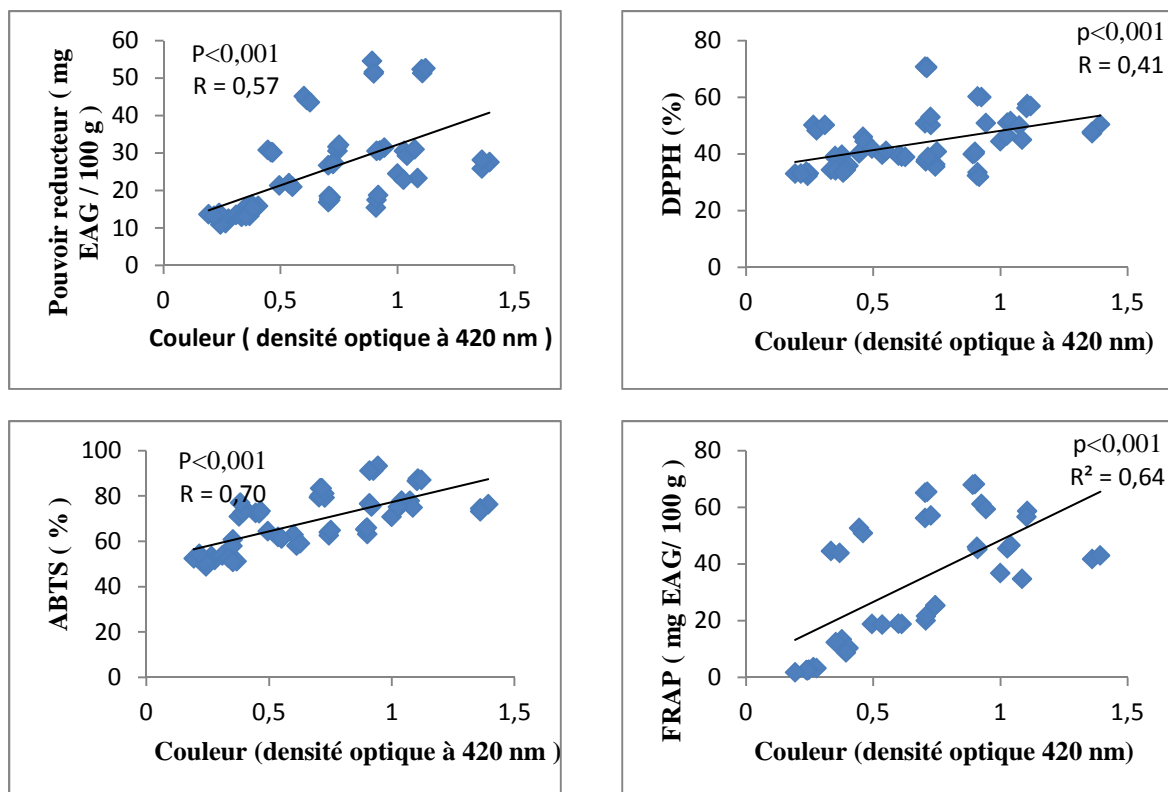


Figure 26 : Corrélations couleur et activités antioxydante.

Conclusion

Conclusion générale

L'Algérie possède une diversité végétale très importante et des conditions climatiques favorables à la production du miel. Cette étude est élaborée afin de cerner les critères de qualité de 20 échantillons de miels récoltés dans différentes wilayas algériennes, en se basant sur le dosage de différents antioxydants, les propriétés physico-chimiques et les activités antioxydantes et antibactériennes.

L'humidité des échantillons de miels analysés fluctue entre 13,73 à 18,33 %. Le pH est acide, oscille entre 3,58 à 4,40. La conductivité électrique est comprise entre 0,36 à 2,92 mS/cm. La plupart de ces miels sont élaborés à partir du miellat et/ou du nectar à l'exception des miels M8, M9, M12, M15, M16, M17, M18 et M19 qui ont une conductivité électrique inférieure à 0,8 mS/cm. Par conséquent, ces derniers sont élaborés à partir du nectar. Le pouvoir rotatoire a permis de déduire que tous les miels analysés sont lévogyres à l'exception du miel M6 qui est dextrogyre (+4,49) qui pourrait être un miel de miellat. La teneur en HMF enregistre des valeurs allant de 1,72 à 33,61 mg/kg. Les teneurs en protéines et en proline varient de 9,71 à 151,25 mg EBSA/100g et de 496,12 à 2846,76 mg/kg, respectivement.

Les résultats physico-chimiques obtenus ont permis de déduire que tous les miels analysés s'accordent avec les normes établis par le Codex Alimentarius. Chacun des paramètres analysés contribue à une indication précise sur la qualité du miel. Ainsi, ils peuvent être classés en trois groupes ; ceux qui déterminent la maturité (teneur en eau et proline), l'origine florale (conductivité électrique, pH et le pouvoir rotatoire) et la fraîcheur (HMF).

La teneur en antioxydants varie significativement entre les échantillons de miels analysés. La teneur en polyphénols totaux fluctuent entre 21,65 à 68,55 mg EAG/100 g ; le taux en flavonoïdes oscille de 12,57 à 51,13 mg EQ/100 g ; la concentration en orthodiphénols est comprise entre 0,11 à 0,84 mg EAG/100g. Les miels M6, M4 et M10 les plus riches en ces substances présentent la couleur la plus sombre ; les miels M15, M12 présentant une couleur claire sont les moins riches en antioxydants. Le potentiel antioxydant des miels analysés est confirmé à travers six tests. L'activité antioxydante dépend de la composition des échantillons de miels et diffère d'un échantillon à un autre. Elle enregistre des valeurs de 32,60 à 70,55% et de 49,73 à 91,83 % pour les activités antiradicalaires à savoir le DPPH et l'ABTS, respectivement ; de 13,11 à 52,46 % et 15,02 à 64,00 % pour les

pouvoirs réducteur et chélateur du fer. En plus elle est de 2,16 à 68,03 % et 825,34 à 1364,11 mg EAG/100g pour le test de FRAP et de réduction de molybdate, respectivement.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne :

- ✚ Les deux souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés, avec des différences d'un miel à un autre et d'une souche à une autre.
- ✚ *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus sensible par comparaison avec *Escherichia coli* ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives.
- ✚ L'effet antibactérien du miel peut être attribué à plusieurs facteurs présents dans le miel tels que : l'osmolarité, le pH, le peroxyde d'hydrogène et les composés phénoliques, MGO et les protéines (Couquet *et al.*, 2013).

L'étude de l'activité antioxydante des échantillons des miels Algériens par l'évaluation de leur potentiel antioxydant et antibactérien ainsi que la quantification de leurs composés phénoliques a confirmé les propriétés puissantes que possèdent le miel à piéger les radicaux libres et inhiber la croissance bactérienne. Suivant les résultats obtenus expérimentalement, les miels de la wilaya de Bejaïa présentent de bonnes qualités thérapeutiques par rapport à ceux des autres wilayas.

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

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherches sont évoqués :

- ✚ Effectuer des analyses physico-chimiques sur une large gamme d'échantillons de miels du pays afin de dégager des normes pour les miels spécifiques de l'Algérie ;
- ✚ Etablir des spectres polliniques des miels algériens et identifier d'autres composants par HPLC ;
- ✚ Approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactéries pathogènes ainsi que sur les souches résistantes ;
- ✚ Initier des tests de traitement de plaies dans les centres de santé humaine et animale.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

Abdulkadir G.MD., S T.MD., Hukum U.MD. and Murat T. MD.(2006). Mad honey poisoning. *American Journal of Emergency Medicine*, 24, 595–598.

Adams CJ., Boulton CH., Deadman BJ., Farr JM., Grainger MNC. And Manley-Harris M. (2008). Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate Research*,9: 343-651.

Adebolu T. (2005). Effect of natural honey on local isolates of diarrhea-causing bacteria in southwestern Nigeria. In *African Journal of Biotechnology*, 4(5): 1172-1174.

Al M.L., Daniel D., Moise A., Bobis O., Laslo L. and Bogdanov S. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112: 863-867.

Al-Habsi N.A. and Niranjana K. (2012). Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food Chemistry*,135(3):1448-54

Alisi C. S., Ojiako O.A., Igwe C. U., Ujowundu C. O., Anugweje K. and Gloria N. (2012). Okwu Antioxidant Content and Free Radical Scavenging Activity of Honeys of *Apis mellifera* of Obudu Cattle Ranch. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 2(4): 164-175.

Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85: 513–518.

Allen KL., Hutchinson G. and Molan PC. (2000). The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. *First World Healing Congress, Melbourne, Australia*, 54:10-13.

Al-Mamary M., Al-Meerri A. and Al-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.

Alvarez-Suarez J.M., Tulipani S., Diaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S. and 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.

Alqarni A.S., Owayss A.A. and Mahmoud A.A. (2012). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11: 13.

Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M. and Tacchini M. (1989). Honey phenolic compounds: a preliminary study on their identification and quantitation by families. *Apidologie*, 20:115-125.

Archer HG., Barnett S., Irving S., Middleton KR. and Seal DV. (1990) A controlled model of moist wound healing: comparison between semipermeable film, antiseptics and sugar paste. *International Journal of Experimental Pathology*, 71:155-70.

Asadi-pooya A., Pnjehshahin M. and Beheshti S. (2003). The antimycobacterial effect of honey: an in vitro study. In *Rivista di biologia*, 66 (3):491-496.

Assie. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat. Université de Limoges, 22-67.

Attipou K., Ankoum T., Ayite A. and Missouhou K. (1998). Traitement des plaies au miel. *Expérience de CHU de Lomé. Médecine d'Afrique Noire*, 1 :45-47.

Azeredo L.D.C., Azeredo M.A.A., De Souza S.R. and Dutra V.M.L. (2003). Proteins contents and physicochemical proprieties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80: 249-254

Badawy o., shasii s., tharwat e. and kamal m. (2004). antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *escherichia coli* 157:h7 and *salmonella typhimurium* infection. *revue scientifique et technique (international office of epizootics)*, 23 (3): 1011-1022.

Bath P.K. and Narpinder. S. (1999). A comparison between *helianthus annuus* and *ecaliptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*,67: 389-397.

Balasundram n, sundram k, samman s. (2006). phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99:191–203.

Balentine d.a., albano mc, et al., (1999). role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health. *nutr rev*,57(2):41-5.

Baltrusaityte V., Venskutonis P. and Ceksteryte V. (2007). Antibacterial activity of hony and beebread of different origin against *s. aureus* and *d. epidermidis*. *Food Technology Lithuaniat*, 45 (2): 201-208.

Barbara R. (2009). Le chemin du miel. *Atelier de reproduction, Agridea*, 23.

Becker A. (2005). Botulisme et miel. *L'abeille de France*, 910: 18-20.

Benaziza-Bouchema D. and Schweitzer P. (2010). Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. *Cahiers Agricultures*, 19:6.

Benzie I.F.F and Strain J.J (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) asa measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70-76.

Bera A., Almeida-muradian LB. and Sabato SF. (2009). Study of some physicochemical and rheological properties of irradiated honey. *Nukleonik*, 53(2): 85–87.

Biri M. (1986). L'élevage moderne des abeilles, Devecchi. S.a. Paris, 91-101.

Brahmi F.,Mechri.B., Dabbou S.,Dhibi M. and Hammami M.(2012).The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxydants from oliv leaves depending on seasonal variations.*Industrial Corps products*, 38:146-152.

Beretta G ., Granata P., Ferrero M ., Orioli M. and Facino R.M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytical Chichical Acta*, 533 : 185-91.

Bertoncejl J., Dobersek U., Jamnik M. and Golob T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*,105, 822–828

Blair S. (2009). Antimicrobial activity of honey. In Cooper R, Molan P, White R. Honey in modern Wound management. *Wound UK*, 21-46.

Blasa M., Candiracci M., Accorosi A., Piacentini M. P., Albertini M.C. and Piatti E. (2006). Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, 97, 217–222.

Bogdanov S., Marttin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl G., Russmann H., Persano-Oddo L., Sabatini A. G., Maecazzan G. L., Marioleas P., Tsigouri A., KerKvliet J., Ortiz A. & Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of The European Honey Commission. *Apidologie*. (extra issue), 1-59

Bogdanov S., Lüllman C., Marttin P., Von Der Ohe W., Russmann H., Vorwohl G., Persano-Oddo L., Sabatini A.G., Marcazzan G. L., Piro R., Flamini C., Morlot M., Heritier J., Borneck R., Marioleas P., Tsigouri A., KerKvliet J., Ortiz A., Ivanov T., D'Arcy B., Mossel B., & Vit P. (1999). Honey quality and international regulatory standard: review by the international honey commission. *Bee World*, 71: 20-26.

Bogdanov S. and Blumer P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre Suisse de recherches apicoles. Station fédérale des recherches laitières. Liebefeld, CH-3003 Berne,1-8.

Bogdanov S., Charrère J.D., Indorf A., Kilchenmann V. and Fluri P. (2002). Determination of residues honey after treatments with formic and oxalic acid under field condition. *Apidologie*, 33: 399-409.

Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., Iff D., Känzig A., Seiler K., Stöckl H. and Zürcher K. (2004): Produits apicoles: le Miel. Produits apicoles, 1-37.

Bogdanov S., Ruoff K. and Persano Oddo L. (2004). Physico- chemical methods for characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, 35 (1): 4–17.

Bogdanov S., Bieri K., Kilchenman V. and Gallmann P. (2005) schweizer sortenhonige. ALP forum 23 d, 3-55.

Bogdanov S. (2011). The honey book. Chapter 5, Honey composition. *Bee Product Science*, 1-10

Bonté F et Désmolière A. (2013). « Le miel, quel intérêt en cicatrisation? ». Le miel origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 18-21

Botelha M.A., Nogueira N.A., Bastos G.M., Fon seca T.L., Lemo T.L. and Mastos F.J. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil from lippie sidoides, carvard and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(3): 349-356.

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.

Brett M., Hallas G. and Mpamugo O. (2004). Wound botulism in the UK and Ireland. *Journal Of Medical Microbiology*, 53:555-561.

Brudzynski K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, 52 (12): 1228-1237 (10).

Brudzynski K and Lannigan R. (2012). Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's hydrogen peroxide. *Frontiers in Microbiology*, (12): 3-36.

Bruneau E. (2002). Le miel. In « le Traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 63-354.

Bruneton J. (1996). Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Paris, Lavoisier, 529.

Cai Y. Q., Lu M., Sun. and Corke H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*, 74: 2157-2184.

Carvalho C.A.L. et al. (2009). Physicochemical characteristics and sensory profil of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. *Anais da Academia brasileira de Ciencias*, 81(1): 143-149.

Chua L.S., Rahaman N. L. A., Adnan N.A . and Tan T.T. E. (2013). Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2013:1-8.

Codex Alimentarius (2001). Revised coctex standard for honey. *Revue*, 2: 1-7.

Commission Européenne (2002). Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 10 : 47-52

Cooper R., Molan P. and Harding K. (1999). Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. In *Journal of the Royal Society of Medicine*, 92(9):283-285.

Cooper R., Molan P. and Harding K. (2002). The sensitivity to honey of gram positive cocci of clinical significance isolated from wounds. In *Journal of Applied m icrobiology*, 93(5):857-863.

Couquet Y., Desmolière A. and Rigal M.L. (2013). « Le miel, quel intérêt en cicatrisation ? » Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, p. 22-25.

Culvenor C. C. J. (1985). Patterson's curse and toxic alkaloids. *Search. Australia*, 16: 219-223.

Cushine T.P et Lamb A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5): 343-356.

Daily H. (2010). Le réfractomètre, un outil essentiel, revue « Technique », 3.

Darrigol J. L. (1979). L'abeille. In « Le miel pour votre santé ». Editioin Dangles, 11-34.

Dastmalchi K, Dorman HJD, Kosar M, Hiltunen R (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 40: 239-248.

De Rodriguez G.O., De Ferrer B.S., Ferrar A. and Rodriguez B. (2004). Characterisation of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84: 599-502.

- Descottes B. (2000).** Miel et cicatrisation. Spécial Apithérapie. Abeille et Fleur, 34-41.
- Descottes B. (2009).** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. *Phytothérapie*, 7(2) :112-116
- Djossou J.A., Tchobo F.P., Yédomonhan H., Alitonou A.G. and Soumanou M. M. (2013).** Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. *Tropicultura*, 31, 3, 163-169.
- Diez M.J., Andres C. and Terrab A. (2004).** Parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. *International Journal of Food Science et Technology*, 39:167–176.
- Dilber E., Kalyoncu M., Yaris N., Okten A. (2002).** A Case of Mad Honey Poisoning Presenting with Convulsion: Intoxication Instead of Alternative Therapy Turk. *Journal Medecinal Science*, 32: 361-362.
- Dimins F., Kuka P., Cakste I. and Aug pole, I. (2008).** Use of physical and chemical parameters for the characteristics of honey quality. Proceedings of 8th International conference of Food Physics, 24-27 September, 2008 in Plovdiv, Bulgaria: *Journal of Food Physics*, 50-58.
- Dunford C., Cooper RA., White RJ. and Molan PC. (2000).** The use of honey in wound management. *Nursing Standard*, 15: 63-68.
- Duthie GG, Arthur JR, Beattie JA, Brown KM, Morrice PC, Robertson JD, Shortt CT, Walker KA & James WP (1993).** Cigarette smoking, antioxidants, lipid peroxidation, and coronary heart disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 686, 120–129.
- Ebrahimzadeh M. A., Pourmorad F. and Bekhradnia AR. (2008).** Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18): 3188-3192.
- Efem S.E.E., Udoh K.T. and Iwara C.I. (1992).** The Antibacterial Spectrum of Honey and Its Clinical Significance. *Infection*, 20(4):227-229.
- Elmastas M., Gulcin I., Beydemir O.I., Kufrevioglu H.Y. and Aboul E. (2006).** A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L) fruit extracts. *Analytical Letters*, 39:47.
- Emmanuelle H., Julie C. and Laurent G. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. *Science et Medecine*, 4 : 1-7.

- Ertürk Ö., Şahin H., Kolaylı S. et Ayvaz M-Ç. (2014).** Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea Region honeys. *Turkish Journal of Biochemistry*, 39 (1): 99–106.
- Escuredo O., Fernández-González M. and Seijo M.C. (2012).** Differentiation of Blossom Honey and Honeydew Honey from Northwest Spain. *Agriculture*, 2:25-37.
- Estevinhol L., Prereira A.P., Moreira L., Dias L.G. and Prereira E. (2008).** Antioxidant and antimicrobial effects of northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12): 3774-3779.
- Ferreira I.C.F.R., Aires E., Barreira J.C.M and Estivinho L.M. (2009).** Antioxydant activity of portuguese honey samples : different contributions of the entire honey and phenoliques extrat. *Food Chemistry*, 114,1438,-1443.
- Frankel S., Robinson G.E., Berenbaum M.R. (1998).** Antioxidant capacity and correlated characteristic of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, 37: 27–31.
- Garcia S., Barraco M. and Adria M. A (1986).** Interpretation of rheogrammic functions in holm oak honey. *S.T.P. PHARMA*, 2(15) :307-312.
- Gardener MC and Gillman MP. (2001).** The effects of soil fertilizer on amino acids in the floral nectar of corncockle, *Agrostemma githago* (Caryophyllaceae). *Oikos*, 92:101–106.
- Geckil H., Ates B., Durmaz G., Erdogan S. and Yilmaz I. (2005).** Antioxidant, free radical scavenging and metal chelating characteristics of propolis. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(1), 27-31.
- Gordon M.H. (1990).** The mechanism of antioxidant action in vitro. In: Hudson B.J.F (editor). *Food antioxidants*. Elsevier Applied Science. London, pp.1-18.
- Gheldof, N. and Engeseth, N.J. (2002).** Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 50: 3050–3055.
- Gheldof N., Xiao-Hong Wang. and Engeseth N.J. (2002a).** Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5870-5877.
- Gheldof N, Wang XH. And Engeseth NJ. (2003).** Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agric Food Chemistry*, 51: 1500-5.
- Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman, Segura-Carretero A. and Fernandez –Gutierrez A. (2006).** Advances in analysis of phenolics compounds in products derived from bees. *Journal of Phamaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1220-1234.

Goodarzi, B. and Khosravi A. (2013). The Effects of Simultaneous 8 Weeks Astragalus sp/ Euphorbia Cheriradenia Honey Supplementation and Endurance Training on Membrane Lipid Peroxidation of Erythrocytes after a Bout Acute Exhaustive Treadmill Exercise in Rats. *European Academic Research*, 1 (2): 2286- 4822.

Gulçin I., Oktay M., Kirreççi E. and Kufrevioglu O. I. (2003). Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-381.

Habib H.M., Al Meqbali F.T., Kamal H., Souka U.D. and Ibrahim W.H. (2014). Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153 :28–34.

Hegazi A.G and El-Hady F.K.A. (2009). Influence of honey on the surpression of human low density lipoprotein (LDL) peroxidation (in vitro). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6 (1): 113-121.

Hochet C. (2002). Le miel. In « le Traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 360-364.

Holderna K., E. and Kędzia B. (2006). Research on an antioxidant capacity of honeys. *Acta Agrobotanica*, 59: 265–269.

HUCHET E., COUSTEL J. AND GUINOT L. (1996). Les constituants chimiques du Miel Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment. 2^{ème} édition. OPIDA, 18-19 :168-172.

Ita N.B. (2011). Antioxidant activity of honey samples from the southern rainforest and northern savannah ecosystems in Nigeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* ,2(8): 2115-2120.

Isla M.I., Craig A., Ordonez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomon V. and Maldonado L. (2011). Physico chemical and bioactive properties 511 of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science. Technolgy*, 44 :1922– 1930.

Jean-Prost P., Médori P. and le conte Y. (2005). Apiculture, connaitre l'abeille, conduire le rucher. Edition TEC Doc, 7^e édition, 698.

Jeffrey A.E. and Echazarreta C.M. (1996). Medical uses of honey. *Revista Biomédica* ,7(1): 43 – 49.

Jenkins R., Wootton M., Howe R., Cooper R. (2012). Susceptibility to manuka honey of *Staphylococcus aureus* with varying sensitivities to vancomycin. *International journal of antimicrobial agents*, 40(1):88-89.

Joshi S.H, Pechhacker H., William A. and Von Der Ohe w. (2000). Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie*, 31:367–375.

Khalil M.I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M.A., Islam M.N., Sulaiman SA. and Gan S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9):11199–11215.

Khan FR., Ul Abadin Z. and Rauf N. (2007). Honey: nutritional and medicinal value. *International Journal of Clinical Practice*, 61: 1705-1707.

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

Kwakman P.H.S., te Velde A.A., de Boer L., Speijer D., Vandenbroucke-Grauls C.M.J.E. and Zaat A.J. (2010). How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*, 24:2576-2582.

Kwakman PH. And Zaat SA. (2012). Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 64:48 55.

Lachman, J., D. Kilihova, D. Miholova, J. Kosata, D. Titera and K. Kult (2007). Analysis of minority honey components: possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, 101:973-979.

Lampe K. F. (1988). Rhododendrons, mountain laurel and mad honey. *JAMA*, 259-2009.

Lequet L. (2010). Du Nectar au Miel de Qualité: Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Claude-Bernard Lyon I, France.

Liberato M. C. T. C., Morais S. M., Siqueira S. M. C., Menezes J. E. S. A., Ramos., D. N., Machado L. K. A. and Magalhães I. L. (2011). Phenolic Content and Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Properties of Honeys from Different Floral Origins. *Journal of Medicinal Food*, 14, 658-663.

Lobreau-Callen D., Marmiron V. and Clément M-C. (1999). Les miels. *Techniques de l'ingénieur*, 1-20.

Louveaux J. (1989). Les produits du rucher. In « Les abeilles et leur élevage », 165-199.

- Lusby PE., Coombes AL. and Wilkinson JM. (2005).** Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Archives of Medical Research*, 36:464-467.
- Lusby P.E., Coombes.A. and Wilkinson.J.M.(2002).** Honey: A potent agent for wound healing? *J. Wound Ostomy Continence Nurs*, 29: 295-300.
- Maksimovic´ Z., Malencic D., Kovacevic N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts *Bioresource Technology*, 96: 873–877.
- Malika N., Mohamed F. and Chakib E. (2005).** Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal of Agriculture and Biology*. 5: 773–776.
- Mandal M .D. and Mandal S. (2011).** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1: 154-160.
- Manyi-Loh C. E., Clarke A.M. and Ndip, R.N. (2011).** Identification of volatile compounds in solvent extracts of honeys produced in South Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 6(18): 4327–4334.
- Makhloufi C., Schweitzer P., Azouzi B., Persano Oddo L., Choukri A., Laaredj H. (2007).** Some properties of Algerian honeys. *Apiacta*, 42:73-80.
- Makhloufi C., Kerkvliet D., Ricciardelli D'albore G., Choukri A. and Samar R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.
- Marchenay P. et Berard L. (2007).** L'homme, l'abeille et le miel. Paris, De Borée. 223-225.
- Marquele, F.D., Di Mambro, V. M., Georgelti, S.R., Casagrande, R., Valim, Y. M.L et Fonseca, M.J.V. (2005).** Assesment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. *Journal of pharmaceutical and biochemical analysis*, 39:455-462.
- Mavric E., Wittmann S., Barth G. and Henle T., 2008,** Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka honeys from New Zealand, *MOLECULAR NUTRITION & FOOD RESEARCH*, 52: 483-489.
- Maurya S., Kushwaha A. K., Singh S. and Singh G. (2014).** An overview on antioxidative potential of honey from different flora and geographical origins. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 5(1): 9-19.
- Mbogning E., Tchoumboue J., Damesse F., Sanou Sobze M. and Canini A. (2011).** Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun. *Tropicicultura*, 29 (3): 168-175.
- Meda A., Lamien C.E., Millogo J., Romito M. and Nacoulma O.G. (2005).** Physicochemical Analyses of Burkina Faso Honey. *Acta Veterinaria Brno*, 74: 147-152.

MESCLE J.F. and ZUCCA J. (1996). Les facteurs de développement, in: Microbiologie alimentaire; Tome1 (Bourgois. C. M, Mesclé. J. F et Zucca. J, editors) édition: Lavoisier, Technique et Documentation, Londres Paris New York. Chapitre 1.4-33.

Miotto D. (2010). Elucidation of the components involved in the antioxidant activity of honey. Thèse de doctorat. Faculty of Biological Sciences, Brock University, p23-30.

Molyneux P. (2004). The use of the free stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songlakarin. Journal of Science Technoogiel, 26(2): 211-219.

Moniruzzaman M., Khalil MI., Sulaiman SA. and Gan SH. (2013). Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. BMC Complement Altern Med, 13(1): 43.

Moniruzzaman M., Sulaiman S.A., Mohd Azlan S. A. and Hua Gan S. (2013). Two-Year Variations of Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Contents in Acacia Honey. Molecules. Food chemistry, 18: 14694-14710.

Moussa A., Saad A. and Nouredine D. (2012). How Honey Acts as an Antioxidant. Medicinal & Aromatic Plants, 1: e121.

Muli E., Munguti A. and Raina S.K. (2007). Quality of Honey Harvested and Processed Using Traditional Methods in Rural Areas of Kenya. Acta Veterinaria Brno, 76: 315–320.

Nafea E.A., Zidan E.W. Asmaa, M.F. and Sehata, I.A.A. (2013). Determination of Organic Acids in Saudian Bee Honey Types. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. 5(2): 117-120.

Naithani V., Nair S. and Kakkar P. (2006). Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. Food Research International, 39: 176-181.

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

Nazarian H., Taghavizad R. and Majd A. (2010). Origin of honey proteins and method for its quality control. Pakistan Journal of Botany, 42(5): 3221-3228.

Nicolson S.W. (2007). Nectar consumers. In: S.W. Nicolson, M. Nepi. And Pacini E. Nectaries and nectar, 293–346.

Nombré I., Schweitzer P., Boussim J.I. and Rasolodimby J.M. (2010). Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso. African Journal of a food science, 4(7): 458-463.

Oudjdet K. (2012). Le miel une denrée à promouvoir. Etudes et enquêtes, 3 : 18-42.

Ortiz-Vázquez E., Cuevas-Glory L., Zapata-Baas G., Martínez-Guevara J. and Ramón-Sierra J. (2013). Which bee honey components contribute to its antimicrobial activity?. African Journal of Microbiology Research, 7(51): 5758-5765.

Ouchemoukh S., Louaileche H., and Schweitzer P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Chemistry, 18: 52–58.

Ouchemoukh S. (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, P. 162.

Paulus H, Kwakman S and Sebastian A.J. Zaat (2012). Antibacterial Components of Honey. IUBMB LIFE, 64(1): 48-55.

Prieto P., Pineda M. and Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269, 337-341.

Rakha M .K., Nabil Z. I. and Hussein A. A. (2008). Cardioactive and vasoactive effects of natural wild honey against cardiac malperformance induced by hyperadrenergic activity. Journal of Medicinal Food, 11: 91-98.

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

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 254.

Rossant A. (2011). Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenante. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoges, 136.

Rozaini M. Z., Zuki A. B. Z., Noordin M., Norimah Y. and Nazrul-Hakim A. (2004). The effects of different types of honey on tensile strength evaluation of burn wound tissue healing. Journal of Applied Research in Veterinary Medicine, 2(4): 290-296.

Salwa H.A.and Maher A.A.M. (2014). Antibacterial Potential and Physicochemical Properties. Global Advanced Research Journals, 3(3):049-058.

Sanz M.L., Gonzalez M., De Lorenzo C., Sanz J. and Martinez-Castro I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honey dew. Food Chemistry, 91: 313-317.

Schneider M., Coyle S., Warnock M., Gow I. and Fyfe L. (2012). Anti-Microbial Activity and Composition of Manuka and Portobello Honey. *Phytotherapy*, 27(8): 1162-1168.

Schivre E. (2006). L'abeille, ses produits de sécrétion et leurs utilisations thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Nancy, 169.

Schlesier K., Harwat M., Bohm V. and Bitsch R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36(2):177–187.

Schramm D. D., Karim M., Schrader H. R., Holt R. R., Cardetti M. and Keen CL. (2003). Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1732- 5.

Schweitzer P. (2005). Encore des miels hors normes. *Abeille de France*, 917 :03.

Schweitzer P. (2005a). La toxicité naturelle de certains miels. *Abeille de France*, 913 : 183-1

Serem J.S. and Bester M.J. (2012). Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food Chemistry*, 133: 1544–1550.

Sesta G., Piana M.L., Oddo L.P., Lusco L. and Belligoli P. (2008). Methyl anthranilate in citrus honey. Analytical method and suitability as a chemical marker. *Apidologie*, 39: 344-342.

Sherlock O., Dolan A., Athman R., Power A., Gethin G., Cowman S., Humphreys H. (2010). Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6:10-47.

Siess M. H., Le bon A. M., Canivenc-Lavier M. C., Amiot M. J., Sabatier S., Auber S. Y. and Suschetet M. (1996). Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes and Benzo pyrene-DNA Binding in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (8): 2297-2301.

Sonmez M., Turk G., Yuce A. (2005). The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and test osterone levels of male Wistar rats. *Theriogenol*, 63: 2063-2072.

Tandlich R., Smogrovicova D., Frith K. N., Wilhelmi B. S. and Limson J. L. (2011). Chemical, microbial and antioxidant properties of selected honey varieties from south Africa. *Foodbalt*, 2: 159-162.

Taormina P. J., Niemira B. A. and Beuchat L.R. (2001). Inhibitory activity of honey against food borne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69, 217– 225.

Terrab A. Díez M. J. and Heredia F.J.N. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79:373–379.

Terrab A., Díez M. J. and Heredia F. J. (2003). Palynological, physicochemical and color characterization of Moroccan honeys. Orange (*Citrus sp.*) honey. *Food Science and Technology International*, 38 : 383-7.

Theunissen F., Grobler S. and Gedalia I. (2001). The antifungal action of three South African honeys on *Candida albicans*. *Apidologie*. 32: 371–379.

Tomczak C. (2010). Utilisation du miel dans le traitement des plaies. revue bibliographique. Thèse de Doctorat. l'école nationale vétérinaire de Lyon, p.99-100.

Truzzi C., Annibaldi A., Illuminati S., Finale C. and Scarponi G. (2014). Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chemistry*, 150: 477–481.

Vallianou NG., Gounari P., Skourtis A., Panagos J. and Kazazis C. (2014). Honey and its Anti-Inflammatory, Anti-Bacterial and Anti-Oxidant Properties. *General Medicin*, 2: 132.

Van Der Berg A. J. J., Van Der Worm E., Quarles Van Ufford H. S., Halkes S. B., Hoekstra M. J. and Benkelman C. J. (2008). An invitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory proprieties buckwheat. *Journal of Wound Care* , 17(4):172-178.

Visavadia BG., Honeysett J. and Danford MH. (2006). Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *BRITISH JOURNAL of Oral and MAXILLOFACIAL SURGERY* , 44:38-41.

Voidarou C., Alexopoulos A., Plessas S., Karapanou A., Mantzourani I, Stavropoulou E., Fotou K., Tzora A., Skoufos I. and Bezirtzoglou E. (2011). Antibacterial activity of different honeys against pathogenic Bacteria. In *Anaerobe*,17(6):375-379.

Volvolà L. and Celechovska O. (2002). Activity of enzymes and trace element content in bee honey. *Acta Veterinaria Brno*, 71: 375-378.

Vorlová L and Přidal A. (2002): Invertase and diastase activity in honeys of Czech provenience. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun*, 57–66.

Wahdan H.A.L. (1998). Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection*. 29(1): 26-31.

Weston R.J., Brocklebank L.K. and Lu Y. (2000). Identification and quantitative levels of antibacterial components of some new Zealand honeys. *Food Chemistry*, 70(4): 427-435.

White J. (1981). Natural honey toxicants. *Bee world*, 62: 23-28.

Wilczyńska A. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60(4): 309-313.

Yao L. K., Razak S. L. A., Ismail N., Fai N. C., Asgar M. H. A. M., Sharif N. M., Aan G.J. and Jubri Z. (2011). Malaysian gelam honey reduces oxidative damage and modulates antioxidant enzyme activities in young and middle aged rats. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5: 5618–5625.

Yoneyama H. and Katsumata R. (2006). Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70: 1060-1075.

Annexes

Annexe 1 : Table de CHATAWAY

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

Annexe 2 : courbes d'étalonnages

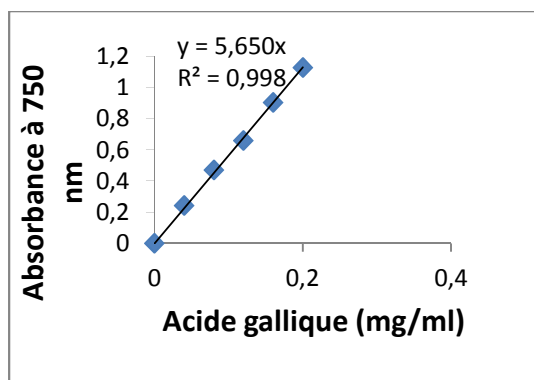


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.

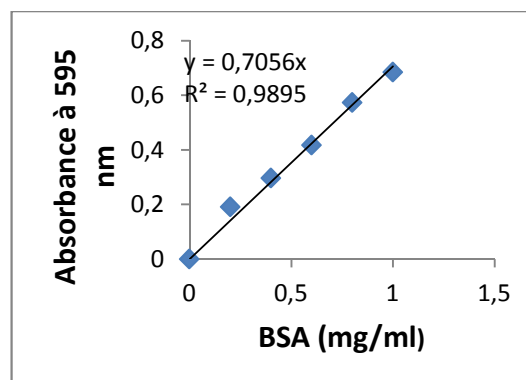


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines.

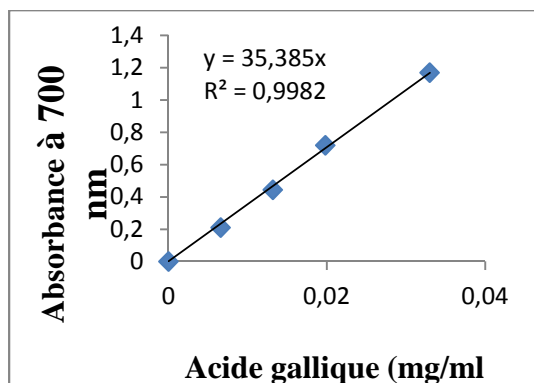


Figure 6: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

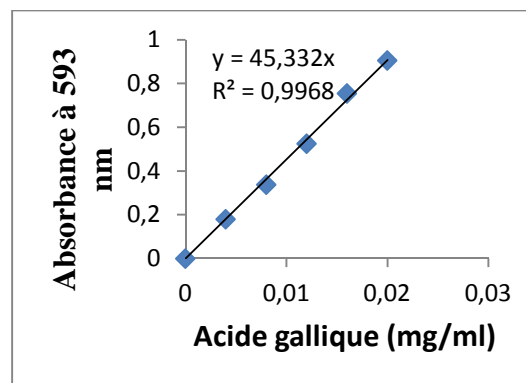


Figure 6: Courbe d'étalonnage de test FRAP

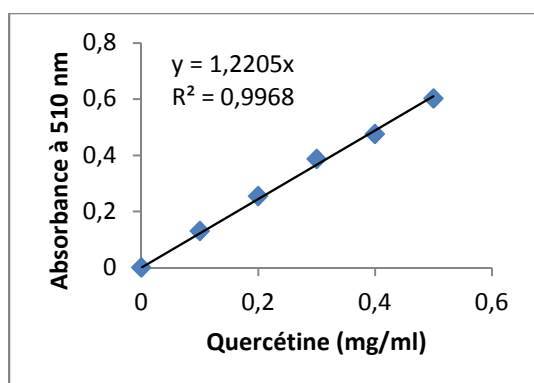


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

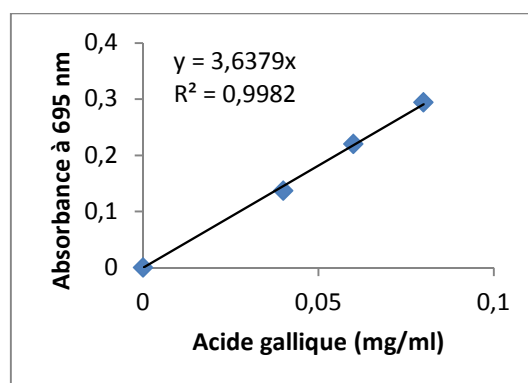


Figure 7: Courbe d'étalonnage du molybdate.

Annexe 3 : Matrices de corrélation

STAT. ELEMENT.	Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=32 (Suppression des observ. à VH)																		
Variable	IR	BRIX	PH	HUMÉDITÉ	COULEUR	C_ELECTR	P_ROTATO	HMF	PROLINE	PROTEINE	CPT	FLAVONOI	O_DIPHIN	DPPH	ABTS	FRAP	FEROZINE	R_MOLYBD	P_REDUCT
IR	1,00	.97	.18	-.87	-.34	-.36	.46	-.07	-.35	-.37	-.40	-.31	-.43	-.49	-.37	-.29	.41	-.29	-.45
BRIX	.97	1,00	.19	-.87	-.43	-.43	.51	-.06	-.42	-.42	-.48	-.39	-.49	-.54	-.41	-.36	.44	-.25	-.49
PH	.18	.19	1,00	-.05	.19	.02	.28	-.31	-.14	-.00	.25	-.08	-.05	.03	.19	.37	.53	-.04	.18
HUMÉDITÉ	-.87	-.87	-.05	1,00	.40	.37	-.51	-.00	.36	.36	.47	.33	.40	.37	.38	.34	-.37	.42	.38
COULEUR	-.34	-.43	.19	.40	1,00	.72	-.36	.02	.79	.74	.92	.88	.88	.69	.70	.67	-.05	-.21	.56
C_ELECTR	-.36	-.43	.02	.37	.72	1,00	-.45	.26	.62	.40	.81	.51	.62	.71	.62	.55	.04	-.44	.62
P_ROTATO	.46	.51	.28	-.51	-.36	-.45	1,00	-.24	-.51	-.39	-.45	-.33	-.29	-.24	-.02	-.36	.52	-.22	-.62
HMF	-.07	-.06	-.31	-.00	.02	.26	-.24	1,00	.09	-.17	-.01	.11	-.02	-.05	-.25	-.34	-.08	.00	.12
PROLINE	-.35	-.42	-.14	.36	.79	.62	-.51	.09	1,00	.61	.75	.79	.72	.56	.44	.64	-.33	-.27	.49
PROTEINE	-.37	-.42	-.00	.36	.74	.40	-.39	-.17	.61	1,00	.68	.70	.72	.52	.71	.62	-.25	.18	.48
CPT	-.40	-.48	.25	.47	.92	.81	-.45	-.01	.75	.68	1,00	.67	.81	.76	.75	.78	.03	-.18	.70
FLAVONOI	-.31	-.39	-.08	.33	.88	.51	-.33	.11	.79	.70	.67	1,00	.81	.52	.51	.46	-.37	-.19	.29
O_DIPHIN	-.43	-.49	-.05	.40	.88	.62	-.29	-.02	.72	.72	.81	.81	1,00	.82	.73	.60	-.18	-.17	.43
DPPH	-.49	-.54	.03	.37	.69	.71	-.24	-.05	.56	.52	.76	.52	.82	1,00	.71	.64	-.06	-.38	.58
ABTS	-.37	-.41	.19	.38	.70	.62	-.02	-.25	.44	.71	.75	.51	.73	.71	1,00	.58	.07	-.12	.36
FRAP	-.29	-.36	.37	.34	.67	.55	-.36	-.34	.64	.62	.78	.46	.60	.64	.58	1,00	-.02	-.15	.62
FEROZINE	.41	.44	.53	-.37	-.05	.04	.52	-.08	-.33	-.25	.03	-.37	-.18	-.06	.07	-.02	1,00	-.26	-.03
R_MOLYBD	-.29	-.25	-.04	.42	-.21	-.44	-.22	.00	-.27	.18	-.18	-.19	-.17	-.38	-.12	-.15	-.26	1,00	-.06
P_REDUCT	-.45	-.49	.18	.38	.56	.62	-.62	.12	.49	.48	.70	.29	.43	.58	.36	.62	-.03	-.06	1,00

Figure : Corrélation significative marquées à p 0,05

STAT. ELEMENT.	Corrélations significatives marquées à p < ,01000 N=32 (Suppression des observ. à VH)																		
Variable	IR	BRIX	PH	HUMÉDITÉ	COULEUR	C_ELECTR	P_ROTATO	HMF	PROLINE	PROTEINE	CPT	FLAVONOI	O_DIPHIN	DPPH	ABTS	FRAP	FEROZINE	R_MOLYBD	P_REDUCT
IR	1,00	.97	.18	-.87	-.34	-.36	.46	-.07	-.35	-.37	-.40	-.31	-.43	-.49	-.37	-.29	.41	-.29	-.45
BRIX	.97	1,00	.19	-.87	-.43	-.43	.51	-.06	-.42	-.42	-.48	-.39	-.49	-.54	-.41	-.36	.44	-.25	-.49
PH	.18	.19	1,00	-.05	.19	.02	.28	-.31	-.14	-.00	.25	-.08	-.05	.03	.19	.37	.53	-.04	.18
HUMÉDITÉ	-.87	-.87	-.05	1,00	.40	.37	-.51	-.00	.36	.36	.47	.33	.40	.37	.38	.34	-.37	.42	.38
COULEUR	-.34	-.43	.19	.40	1,00	.72	-.36	.02	.79	.74	.92	.88	.88	.69	.70	.67	-.05	-.21	.56
C_ELECTR	-.36	-.43	.02	.37	.72	1,00	-.45	.26	.62	.40	.81	.51	.62	.71	.62	.55	.04	-.44	.62
P_ROTATO	.46	.51	.28	-.51	-.36	-.45	1,00	-.24	-.51	-.39	-.45	-.33	-.29	-.24	-.02	-.36	.52	-.22	-.62
HMF	-.07	-.06	-.31	-.00	.02	.26	-.24	1,00	.09	-.17	-.01	.11	-.02	-.05	-.25	-.34	-.08	.00	.12
PROLINE	-.35	-.42	-.14	.36	.79	.62	-.51	.09	1,00	.61	.75	.79	.72	.56	.44	.64	-.33	-.27	.49
PROTEINE	-.37	-.42	-.00	.36	.74	.40	-.39	-.17	.61	1,00	.68	.70	.72	.52	.71	.62	-.25	.18	.48
CPT	-.40	-.48	.25	.47	.92	.81	-.45	-.01	.75	.68	1,00	.67	.81	.76	.75	.78	.03	-.18	.70
FLAVONOI	-.31	-.39	-.08	.33	.88	.51	-.33	.11	.79	.70	.67	1,00	.81	.52	.51	.46	-.37	-.19	.29
O_DIPHIN	-.43	-.49	-.05	.40	.88	.62	-.29	-.02	.72	.72	.81	.81	1,00	.82	.73	.60	-.18	-.17	.43
DPPH	-.49	-.54	.03	.37	.69	.71	-.24	-.05	.56	.52	.76	.52	.82	1,00	.71	.64	-.06	-.38	.58
ABTS	-.37	-.41	.19	.38	.70	.62	-.02	-.25	.44	.71	.75	.51	.73	.71	1,00	.58	.07	-.12	.36
FRAP	-.29	-.36	.37	.34	.67	.55	-.36	-.34	.64	.62	.78	.46	.60	.64	.58	1,00	-.02	-.15	.62
FEROZINE	.41	.44	.53	-.37	-.05	.04	.52	-.08	-.33	-.25	.03	-.37	-.18	-.06	.07	-.02	1,00	-.26	-.03
R_MOLYBD	-.29	-.25	-.04	.42	-.21	-.44	-.22	.00	-.27	.18	-.18	-.19	-.17	-.38	-.12	-.15	-.26	1,00	-.06
P_REDUCT	-.45	-.49	.18	.38	.56	.62	-.62	.12	.49	.48	.70	.29	.43	.58	.36	.62	-.03	-.06	1,00

Figure : Corrélation significative marquées à p 0,01

STAT. ELEMENT.	Corrélations significatives marquées à p < ,00100 N=32 (Suppression des observ. à VH)																		
Variable	IR	BRIX	PH	HUMÉDITÉ	COULEUR	C_ELECTR	P_ROTATO	HMF	PROLINE	PROTEINE	CPT	FLAVONOI	O_DIPHIN	DPPH	ABTS	FRAP	FEROZINE	R_MOLYBD	P_REDUCT
IR	1,00	.97	.18	-.87	-.34	-.36	.46	-.07	-.35	-.37	-.40	-.31	-.43	-.49	-.37	-.29	.41	-.29	-.45
BRIX	.97	1,00	.19	-.87	-.43	-.43	.51	-.06	-.42	-.42	-.48	-.39	-.49	-.54	-.41	-.36	.44	-.25	-.49
PH	.18	.19	1,00	-.05	.19	.02	.28	-.31	-.14	-.00	.25	-.08	-.05	.03	.19	.37	.53	-.04	.18
HUMÉDITÉ	-.87	-.87	-.05	1,00	.40	.37	-.51	-.00	.36	.36	.47	.33	.40	.37	.38	.34	-.37	.42	.38
COULEUR	-.34	-.43	.19	.40	1,00	.72	-.36	.02	.79	.74	.92	.88	.88	.69	.70	.67	-.05	-.21	.56
C_ELECTR	-.36	-.43	.02	.37	.72	1,00	-.45	.26	.62	.40	.81	.51	.62	.71	.62	.55	.04	-.44	.62
P_ROTATO	.46	.51	.28	-.51	-.36	-.45	1,00	-.24	-.51	-.39	-.45	-.33	-.29	-.24	-.02	-.36	.52	-.22	-.62
HMF	-.07	-.06	-.31	-.00	.02	.26	-.24	1,00	.09	-.17	-.01	.11	-.02	-.05	-.25	-.34	-.08	.00	.12
PROLINE	-.35	-.42	-.14	.36	.79	.62	-.51	.09	1,00	.61	.75	.79	.72	.56	.44	.64	-.33	-.27	.49
PROTEINE	-.37	-.42	-.00	.36	.74	.40	-.39	-.17	.61	1,00	.68	.70	.72	.52	.71	.62	-.25	.18	.48
CPT	-.40	-.48	.25	.47	.92	.81	-.45	-.01	.75	.68	1,00	.67	.81	.76	.75	.78	.03	-.18	.70
FLAVONOI	-.31	-.39	-.08	.33	.88	.51	-.33	.11	.79	.70	.67	1,00	.81	.52	.51	.46	-.37	-.19	.29
O_DIPHIN	-.43	-.49	-.05	.40	.88	.62	-.29	-.02	.72	.72	.81	.81	1,00	.82	.73	.60	-.18	-.17	.43
DPPH	-.49	-.54	.03	.37	.69	.71	-.24	-.05	.56	.52	.76	.52	.82	1,00	.71	.64	-.06	-.38	.58
ABTS	-.37	-.41	.19	.38	.70	.62	-.02	-.25	.44	.71	.75	.51	.73	.71	1,00	.58	.07	-.12	.36
FRAP	-.29	-.36	.37	.34	.67	.55	-.36	-.34	.64	.62	.78	.46	.60	.64	.58	1,00	-.02	-.15	.62
FEROZINE	.41	.44	.53	-.37	-.05	.04	.52	-.08	-.33	-.25	.03	-.37	-.18	-.06	.07	-.02	1,00	-.26	-.03
R_MOLYBD	-.29	-.25	-.04	.42	-.21	-.44	-.22	.00	-.27	.18	-.18	-.19	-.17	-.38	-.12	-.15	-.26	1,00	-.06
P_REDUCT	-.45	-.49	.18	.38	.56	.62	-.62	.12	.49	.48	.70	.29	.43	.58	.36	.62	-.03	-.06	1,00

Figure : Corrélation significative marquées à p 0,001

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de quelques propriétés physico-chimiques (humidité, pH, conductivité électrique, couleur et teneur en protéines, proline et en HMF), des taux en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes et orthodiphénols) et des activités antioxydantes (Les pouvoirs réducteur et chélateur du fer, activités antiradicalaires avec le DPPH et l'ABTS, le test de FRAP et la réduction de molybdate) de 20 échantillons des miels Algériens. En outre, l'activité antibactérienne est testée avec 6 miels, vis-à-vis *staphylococcus aureus* et *Echershia coli*. Tous les miels analysés sont conformes à la législation. L'humidité et la proline oscillent entre 13,73 à 18,33 % et 496,12 à 2846,76 mg/kg respectivement, la teneur en HMF varie de 1,72 à 33,61 mg/kg. Les analyses de la proline et d'HMF prouvent leur authenticité. La teneur en polyphénols totaux fluctue entre 21,65 à 68,55 mg EAG/100 g. les miels analysés possèdent des activités antioxydantes variables. Le pourcentage du pouvoir chélateur du fer varie de 15 à 64%. Ces variations sont dues à l'origine botanique des échantillons de miels analysés. De nombreuses corrélations sont observées entre la couleur, les antioxydants et les activités antioxydantes. En effet les échantillons de miels M6, M13 ont les couleurs les plus foncées et les teneurs les plus élevée en polyphénoliques totaux. Par conséquent, ils présentent des activités antioxydantes importantes. L'étude de l'activité antioxydante des échantillons de miels Algériens par l'évaluation de leur potentiel antioxydant et antibactérien ainsi que la quantification de leurs composés phénoliques a confirmé les propriétés puissantes que possèdent le miel à piéger les radicaux libres et inhiber la croissance bactérienne.

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

Abstract

This work is a contribution to the evaluation of some physico-chemical properties (moisture, pH, electrical conductivity, color and protein content, proline and HMF), rates of antioxidants (total phenolic content, flavonoids and ortho-diphenols) and antioxidant activities (the reducing power and iron chelator, radical scavenging activity with DPPH and ABTS, the test of FRAP and the reduction of molybdate) of 20 samples of honey Algerians. In addition, the antibacterial activity was tested with 6 honeys, against *Echershia coli* and *Staphylococcus aureus*. All the honeys analyzed are in conformity with the legislation. Moisture and proline range from 13,73 to 18,33 % and 496,12 to 2846,76 mg / kg respectively, the HMF content varies from 1,72 to 33,61 mg / kg. Analysis of proline and HMF prove their authenticity. The content of total polyphenols fluctuates between 21, 65 to 68, 55 mg g EAG/100. Honeys analyzed variables have antioxidant activities. The percentage of iron chelating power ranges from 15 to 64%. These variations are due to the botanical origin of honey samples analyzed. Many correlations were observed between color, antioxidants and antioxidant activities. Indeed honey samples M6, M13 have the darker colors and the highest of total phenolic content. Therefore, they have significant antioxidant activity. The study of the antioxidant activity of honey samples Algerians by assessing their antioxidant and antibacterial and quantification of phenolic compounds confirmed their powerful properties that have honey to scavenge free radicals and inhibit bacterial growth potential.

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