

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie physico-chimique

Spécialité pharmacologie et toxicologie



Réf :

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

Master

Thème :

**Analyse des paramètres d'authenticité et de qualité et
l'évaluation des activités antibactériennes des miels
produits par l'abeille *Apis mellifera***

Présenté par :

SADOU Tassadit & MEDJAHED Thilelli

Soutenu le : 30/06/2024



Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	
Mme HAMADACHE N.	MAA	Président
Mme AZZOUZ Z.	MCB	Encadrant
Mme KERNOU O.	MAB	Co-encadrant
Mme BENMESSAOUD Y.	MCB	Examinateur
Mr OTMANI A	MCB	Invité

Année Universitaire : 2023-2024




Dédicace



A cœur veillant, rien d'impossible,
A conscience tranquille, tout
est accessible, Quand il y a la
soif d'apprendre,

Les études sont avant tout notre unique et
seul atout, Souhaitons que le fruit de nos
efforts fournis jour et nuit, Nous mènera vers
le bonheur fleuri.



Je dédie cet humble travail à tous ceux qui me sont chers :

A ma douce mère ZOUINA qui m'a toujours entourée avec sa tendresse et son
amour, à qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et de santé ;



A mon père ALLAOUA pour son amour, sa patience, son soutien, son
encouragement, et ses sacrifices sans limites

A mes frères AHMED, NACER ET MADJID

A mes sœurs SOUHILA, SAMIRA ET TOUTOU

Et leurs familles Mouhamed, Sofiane et Ahcen

Et à mes neveux et nièces Houcine Walid, Ilyes Ameelia Aylan Nelya



A mes très chers grands-parents à qui je souhaite une longue vie
Jedi Mahour abd el madjid et jida Nait saadi tounsia

A mes tentes Noura, zakia et yamina

A mon fiancé IFTISSEN Nabil



THILELLI





Dédicace

Avant toute chose, je remercie Allah, le tout-puissant qui m'a donné la santé, la volonté et la patience de continuer mes études jusqu'à présent

Je dédie ce modeste travail à la femme qui m'a toujours soutenu dans chaque démarche vers le succès depuis mon existence, ma merveilleuse mère, Ghania

À mon père Bachir qui m'accordait sa confiance

À mon cher grand frère, Mastias

À ma chère petite sœur, Thanina

À ma cousine de cœur, Tiziri

À toutes mes copines avec qui j'ai partagé mes plus beaux jours

Ainsi qu'à toute personne qui m'a prêté main forte durant mon parcours étudiant et/ou

celui de vie personnelle

Merci pour votre soutien, aide et patience <3

Tassadit






Remerciement



Au terme de ce travail, Nous tenons à remercier le Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail


Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à nos encadrants madame Zahra AZZOUZ et madame Ourdia KERNOU et monsieur Amar OTMANI pour leurs conseils précieux ainsi que pour la confiance et l'aide qu'ils nous ont accordé pour mener ce travail à terme.




Un très grand merci à Madame HAMADACHE N, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Madame BENMESSAOUD Y, pour avoir acceptée d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants et personnels du département Biologie physicochimique de Bejaia pour le temps qu'ils nous ont consacrés



Nos remerciements les plus sincères et les plus profonds sont adressés à nos parents pour leur patience et tous les sacrifices qui sont consentis



Merci à tous et à toutes.



Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I. Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur le miel..... 3

1.1. Définition 3

1.2. Classification 3

1.2.1. Selon la source naturelle 3

1.2.2. Selon l'origine botanique 4

1.3. Composition chimique 4

1.3.1. Composants majeurs..... 4

1.3.2. Composants mineurs 5

1.3.3. Eléments figurées 7

1.4. Propriétés organoleptiques du miel 7

1.4.1. Couleur 7

1.4.2. Texture et aspect 7

1.4.3. Arôme..... 8

1.5. Élaboration du miel..... 8

1.5.1. Transformation du nectar en miel par les abeilles..... 8

1.5.2. Récolte par l'apiculteur..... 8

1.5.3. Conservation du miel..... 9

2. Polyphénols du miel et leur effets biologiques

2.1. Polyphénols du miel..... 9

2.2. Activités biologiques du miel 11

2.2.1. Activités antioxydantes..... 11

2.2.2. Activités antibactériennes.....	11
2.2.3. Activité anti-cancéreuse.....	12
2.2.4. L'activité anti-inflammatoire.....	12
 Chapitre II. Matériel et méthode.	
1. Echantillon	13
2. Analyses physico-chimiques	14
2.1. Brix et l'humidité	14
2.2. Potentiel d'hydrogène (pH)	14
2.3. L'acidité libre, lactone et totale	14
2.4. La conductivité électrique	14
2.5. La couleur	15
2.6. L'hydrométhylfurfural (HMF)	15
2.7. Dosage des protéines	16
2.8. Dosage de proline	16
2.9. Dosage des composés phénoliques totaux	16
2.10. Dosage des flavonoïdes	17
3. Extraction de composés phénoliques	17
4. L'activité antibactérienne des extraits polyphénoliques du miel	17
4.1. Préparation de la suspension bactérienne.....	17
4.2. Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).....	18
4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	19
5. Analyses statistiques.....	20
 Chapitre III. Résultats et discussion	
1. Les paramètres physico-chimiques	21
1.1. Brix	21
1.2. Humidité	22
1.3. pH	23

1.4. Acidité.....	24
1.5. La conductivité électrique	27
1.6 La couleur	28
1.7. HMF	29
1.8. Teneur en protéines	31
1.9. Teneur en proline	31
2. Composés bioactifs	33
2.1. Teneur en composés phénoliques	33
2.2. Teneur en flavonoïdes	34
3. Activité antibactérienne	35
3.1. Test de sensibilité	35
3.2. CMI	36
4. Mécanisme d'action des polyphénols	38
5. Corrélations	39
6. Analyses en composantes principales (ACP)	40
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Teneur moyenne en composés phénoliques des différents types de miels issu de divers régions algériennes	10
II	L'origine florale, l'identifiant, la région, la couleur, la consistance et l'année de récolte des miels analysés	13
III	Noms des couleurs selon l'échelle Pfund	29
IV	Résultats des CMI des extraits polyphénoliques contre <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> .	37
V	Corrélations entre les paramètres physico-chimiques, composés bioactifs et activités antibactériennes.	41

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photographie des sept miels analysés	13
2	Les cultures bactériennes de 18h de <i>Escherichia coli</i> et <i>staphylococcus</i>	18
3	Matériel utilisé pour la méthode de puits	18
4	Matériel utilisé pour les microdilutions	19
5	Les résultats de Brix des miels analysés	21
6	Les teneurs en eau des miels analysés	22
7	Valeurs de pH des miels analysés	23
8	Acidité libre des miels analysés	24
9	Acidité lactone des miels analysés	26
10	Acidité totale des miels analysés	27
11	Conductivité électrique des échantillons étudiés	28
12	Intensité de couleur des échantillons analysés	29
13	Teneur en HMF des échantillons de miel analysés	30
14	Teneurs en protéines des miels étudiés	31
15	Teneur en proline des miels analysés	32
16	Teneur en composés phénoliques des miels analysés	34
17	Teneurs en flavonoïdes des miels analysés	35
18	Effet antibactérien des extraits phénoliques des miels sur les deux souches bactériennes.	36
19	Les diamètres des zones d'inhibition des extraits phénoliques des miels	36
20	Graphique de l'analyse en composante principale des paramètres	43

Listes des abréviations

ACP : Analyse en Composant Principale
ADN: Acide DésoxyriboNucléique
ANOVA: Analysis of Variance
ATCC: American Type Culture Collection
BSA : Serum Albumin Bovin
CE : Conductivité Electrique
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DZI : Diamètre du la Zone d'Inhibition
EAG : Equivalent Acide Gallique
E. coli : Escherichia coli
ERO : espèces réactives de l'oxygène
EQ : Equivalent Quercétine
HMF : HydrométhylFurfural
Meq: Milliéquivalent
Mhb: Miller Hinton bouillon
Mg : Milligramme
mM: milli-Molaire
N: Normal
nm : Nanomètre
pH: Potentiel Hydrogène
Ppm: Parties par million
p/v: poids/volume
S. aureus: *Staphylococcus aureus*
UV: Ultraviolet

Introduction

L'Algérie dispose de régions montagneuses favorables à l'apiculture, chaque région produit des variétés spécifiques de miel en fonction de la flore locale, au moins 13 variétés qui ont été identifiées par le ministère de l'Agriculture et du Développement rural.

Le miel est fréquemment mentionné dans la littérature et dans Coran pour ses vertus nutritives et médicinales. Il est composé près de 200 substances. Sa composition riche et très complexe est influencée par divers facteurs, comprenant l'espèce végétale butinée, la nature du sol, la race de l'abeille, les conditions environnementales et les techniques pratiquées par les apiculteurs (**Homrani, 2020**).

Le miel est constitué d'une haute concentration en sucres (environ 80 %), d'une quantité d'eau non négligeable ainsi que des composés mineurs comme les protéines, les acides aminés, les enzymes, les vitamines, les minéraux et les polyphénols. Les paramètres physicochimiques du miel (humidité, pH, la conductivité électrique, HMF, ...etc.) permettent d'évaluer la qualité, l'origine et la fraîcheur de ce dernier. Ils sont variables selon de nombreux facteurs comme l'origine florale, les conditions climatiques et les méthodes de récolte et de stockage (**Da Silva et al., 2016**).

Le miel fournit au corps humain des molécules exogènes bioactifs comme les polyphénols qui ont des propriétés antioxydantes et antibactériennes importantes. L'activité antibactérienne du miel est efficace contre un large spectre de bactérie, Gram-positives et Gram-négatives (par exemple : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*), cette efficacité est principalement attribuée à la présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et d'autres substances non peroxydiques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui agissent en synergie pour inhiber la croissance des bactéries pathogènes, L'efficacité antibactérienne des polyphénols est bien établie depuis le début des années 1990 (**Almasaudi, 2020**).

Les antibiotiques sont couramment utilisés pour lutter les infections bactériennes, mais ils peuvent entraîner des effets secondaires et des bactéries résistantes. Pour cela, des investigations sont déclenchés à la recherche de substances naturelles dite efficaces avec moins d'effets indésirables possibles.

Dans ce contexte, que cette étude vise à analyser les paramètres physicochimiques des miels récoltés de différentes régions et évaluer l'activité antibactérienne de leurs extraits polyphénoliques.

La structure de l'étude est divisée en trois chapitres :

1. La synthèse bibliographique, qui explore deux grands thèmes : les généralités sur le miel et les polyphénols du miel ainsi que leurs effets biologiques.
2. Le deuxième chapitre, consacré à la partie expérimentale, inclut l'analyse des paramètres physicochimiques, l'extraction des polyphénols et l'évaluation de l'activité antibactérienne.
3. Le troisième et dernier chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur le miel

1.1. Définition

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes, de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur ces parties, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**codex alimentarius, 2022**).

1.2. Classification

1.2.1. Selon la source naturelle

La variabilité des miels dépend des sécrétions nectarifères de plantes ou du miellat produit. Ces matières premières utilisées pour la fabrication du miel sont variables en fonction des facteurs externes, liés aux conditions climatiques de la zone et à la nature des sols sur lesquels se développent les plantes (**Koudegnan et al., 2021**).

➤ Miel de nectar

Le miel de nectar, également connu sous le nom de miel floral, est produit par les abeilles à partir du nectar qu'elles recueillent dans les structures spécialisées des fleurs des plantes en floraison. Ce nectar, sécrété par les glandes nectarifères des fleurs (nectaires), constitue la principale source de matière première pour la fabrication du miel de nectar (**Pita-Calvo et Vázquez., 2017**). Chaque fleur butinée par les abeilles laisse sa marque distinctive dans le miel, que ce soit par ses pigments, ses arômes uniques, ou ses grains de pollen. Cette empreinte florale contribue à la diversité des caractéristiques sensorielles du miel, influençant sa couleur, son goût et son arôme (**Diez et al., 2004**).

➤ Miel de miellat

Le miel de miellat est obtenu à partir des sécrétions (miellat) produites par certains arbres et plantes, notamment les genres *Pinus* (pins), *Abies* (sapins), *Castanea* (châtaigniers) et *Quercus* (chênes). En plus des sécrétions végétales, ce miel provient également des excréments d'insectes suceurs de plantes, principalement ceux de la famille des *Aphididae*, comme les pucerons, qui se nourrissent de la sève des plantes (**Pita-Calvo et Vázquez., 2017**).

Le miellat est un liquide épais et visqueux, riche en azote, acides organiques,

minéraux et sucres complexes, bien plus concentré que le nectar. Les abeilles collectent le miellat pour compléter ou remplacer le nectar, ce qui produit un miel qui se caractérise souvent par une couleur plus sombre et un goût plus intense et moins sucré que le miel de fleurs. Il peut également présenter des nuances de saveurs maltées ou caramélisées, en fonction des plantes et des insectes d'origine (**Pita-Calvo et Vázquez., 2017 ; Bonté et al., 2011**).

1.2.2. Selon l'origine botanique

➤ **Miels monofloraux**

Le miel est classé comme monofloral lorsqu'il est produit principalement à partir du nectar d'une seule espèce végétale. Toutefois, dans des conditions normales de production, un miel monofloral pur n'existe pas réellement, car même lorsqu'une espèce botanique est dominante, il y a souvent des contributions mineures d'autres plantes. En l'absence de produits de référence clairs, il est difficile de définir précisément la monofloralité et d'établir des seuils entre monofloralité et polyfloralité. Selon la norme du Codex Alimentarius pour le miel et la directive du Conseil de l'UE relative au miel, l'utilisation d'une appellation botanique sur l'étiquette est permise si le miel « provient entièrement ou principalement de cette origine particulière et possède les propriétés organoleptiques, physico-chimiques et microscopiques correspondant à cette origine » (**Otmani., 2021 ; Schievano et al., 2016**).

➤ **Miel multifloraux**

Les miels polyfloraux sont élaborés par les abeilles à partir de nectar et/ou du miellat de plusieurs variétés florales sans prédominance d'une variété précise. Ils sont souvent nommés d'après leur origine géographique, comme « Miel de haute montagne », ou selon le type de paysage floral, tel que « Miel de forêt ». Parfois, ils sont étiquetés comme « Miel toutes fleurs » ou « Miel de printemps », souvent composés principalement de nectar de colza mélangé à d'autres variétés florales (**Schievano et al., 2016**).

1.3. Composition chimique

1.3.1. Composants majeurs

➤ **Eau et saccharides**

Environ 17 % de la composition du miel est de l'eau, tandis que les polysaccharides représentent environ 80 % de sa composition. Ces polysaccharides sont principalement des monosaccharides, avec une moyenne d'environ 31 % de glucose et 38 % de fructose (ou lévulose). Ces sucres proviennent majoritairement de l'hydrolyse du saccharose présent dans le nectar ou le miellat, réalisée par l'invertase ou par des acides. Les disaccharides tels que le maltose (7,3 %) et le saccharose (1,3 %), ainsi que des molécules moins courantes comme le kojibiose, sont également présents. Les tri- et polysaccharides représentent entre 1,5 % et 8 % du contenu total, incluant des composés comme l'erlose, la raffinose, la mélézitose, le dextrantriose et le mélibiose (**Pita-Calvo et Vázquez., 2017 ; Bonté et al., 2011**).

1.3.2. Composants mineurs

➤ **Acides organiques**

L'acide gluconique, dérivé du glucose, est le principal acide organique présent dans le miel. En plus de cet acide, une variété d'autres acides organiques, tels que l'acide acétique, benzoïque, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique, sont également présents, totalisant environ une vingtaine d'acides au total. De plus, les lactones, qui sont des composés permanents, contribuent également à la fonction acide du miel. Des dérivés naturels de l'acide benzoïque sont également présents, bien qu'en quantités minimales, généralement mesurées en parties par million (ppm) (**Bonté & Desmoulière., 2013**).

➤ **Acides aminés et protéines**

Les acides aminés et les protéines sont présents en quantités relativement faibles dans le miel, représentant environ 0,26 % de sa composition totale, tandis que la teneur en azote est négligeable, généralement autour de 0,041 %. Ces composés comprennent principalement des peptones, des albumines, des globulines et des nucléoprotéines, provenant des plantes, ou des sécrétions des abeilles. Le miel contient également de petites quantités d'acides aminés libres tels que la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine ou la méthionine (**Bonté & Desmoulière., 2013**).

➤ **Lipides**

La proportion de lipides est infime, sous forme de glycérides et d'acides gras (acides palmitique, oléique et linoléique) (**Lobreau-Callen et al., 2000**).

➤ **Sels minéraux**

Les matières minérales sont présentes dans les miels courants à un taux d'environ 0,1 %, mais leur concentration est plus élevée dans les miels foncés. Ces minéraux incluent le potassium, le calcium, le sodium, le magnésium, le cuivre, le manganèse, le chlore, le soufre, le silicium, le fer, ainsi que plus de trente oligo-éléments. La quantité de ces minéraux dépend des plantes butinées par les abeilles et du type de sol sur lequel ces plantes poussent (**Bogdanov et al., 2004**).

➤ **Enzymes**

Les enzymes présentes dans le miel proviennent soit des nectars des fleurs, soit des sécrétions salivaires de l'abeille. Parmi les plus connues, la gluco-invertase, qui catalyse l'hydrolyse des disaccharides. D'autres enzymes telles que la catalase, la phosphatase, des enzymes acidifiantes et la glucose-oxydase, qui transforme le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène, sont également présentes. Ces enzymes sont sensibles à la chaleur et sont détruites lors du chauffage. La présence ou l'absence de ces enzymes peut indiquer une surchauffe du miel lors de son traitement thermique destiné à en faciliter la manipulation. Cependant, une température excessive peut entraîner leur dénaturation (**Ouchemoukh, 2012**).

➤ **Vitamines**

Le miel contient des quantités relativement faibles de vitamines, principalement des vitamines du groupe B, qui proviennent des grains de pollen en suspension. Parmi celles-ci, figurent la thiamine B1, la riboflavine B2, la pyridoxine B6, l'acide pantothénique B5, l'acide nicotinique B3, la biotine B8 ou H et l'acide folique B9. De plus, une certaine quantité de vitamine C est également présente dans le miel. Les vitamines contenues dans le miel sont mieux conservées lorsque le pH est bas (**Bonté & Desmoulière, 2013**).

➤ **Hydrométhylfurfural (HMF)**

L'hydroxyméthylfurfural (HMF) est un composé organique présent naturellement dans certains aliments, notamment le miel. Il se forme lors de la dégradation des sucres, en particulier du fructose, sous l'effet de la chaleur, de l'acidité ou du temps.

Dans le contexte du miel, une teneur élevée en HMF peut désigner un vieillissement

du miel ou une exposition à des températures élevées pendant sa fabrication ou son stockage, ce qui peut altérer sa qualité et ses propriétés. C'est pourquoi les réglementations alimentaires (Codex Alimentarius) fixent souvent des limites maximales de HMF (<40 mg/kg) dans le miel pour garantir sa fraîcheur et sa sécurité alimentaire (**Pasias *et al.*, 2017 ; Cozzolino *et al.*, 2011**).

1.3.3. Eléments figurés

D'autres composants peuvent également être présents dans le miel, notamment des oligo-éléments, des pollens, des spores, des algues unicellulaires, des levures osmotolérantes (qui peuvent être responsables de la fermentation), ainsi que des champignons microscopiques (**Le Conte., 2002 ; Bonté & Desmoulière., 2013 ; Assie., 2004**).

1.4. Propriétés organoleptiques du miel

1.4.1. Couleur

La couleur du miel est la première caractéristique physique immédiatement perceptible par les consommateurs. Elle varie de la transparence semblable à l'eau à des nuances foncées, presque noires. Cette couleur est influencée par la composition chimique du miel, impliquant plusieurs composés tels que les caroténoïdes, les composés phénoliques, les minéraux et les acides aminés (**Achouri *et al.*, 2021**).

1.4.2. Texture et aspect

Le miel peut présenter diverses textures, allant du liquide au cristallisé, du dur au mou, voire même pâteux, selon son mode de stockage et son degré de cristallisation. Cependant, la cristallisation du miel est un processus naturel qui se produit pendant son entreposage. La vitesse et le degré de cristallisation dépendent de plusieurs facteurs, tels que l'origine botanique, la proportion de glucose, de fructose et d'eau, la température de stockage, la viscosité et le niveau de sursaturation en glucose. La teneur en glucose d'un miel est influencée par sa composition en sucres provenant du nectar, et ce sont ces sucres simples qui initient la cristallisation du miel. En règle générale, plus un miel est riche en glucose, plus il a tendance à cristalliser rapidement (**Achouri *et al.*, 2021**).

1.4.3. Arôme

L'arôme est un facteur de qualité important dans les produits alimentaires. L'arôme de miel d'abeille dépend de la composition de la fraction volatile. En règle générale, les miels foncés sont plus aromatiques que les autres (**Bruneau *et al.*, 2000**).

1.5. Élaboration du miel

1.5.1. Transformation du nectar en miel par les abeilles

Après récolte, le nectar ou le miellat est stocké dans le jabot de la butineuse avant son retour à la ruche. Dans ce réservoir, le nectar est mélangé à des bactéries et enzymes. Les enzymes, telles que les α -glucosidases et les glucose-oxydases (GOX), transforment le saccharose en glucose, fructose et en acide gluconique. Les bactéries lactiques et acétiques fructophiles fermentent le nectar, produisant de l'acide lactique et acétique, ainsi que du CO₂ et parfois de faibles quantités d'éthanol (**Dufay, 2022**).

À son retour, la butineuse transmet le contenu de son jabot à d'autres abeilles par trophallaxie. Ces abeilles poursuivent la transformation du nectar en miel en ajoutant enzymes et bactéries. Des régurgitations successives exposent le nectar à l'air chaud de la ruche, déshydratant le contenu et concentrant les sucres. Ce processus réduit le volume et crée un environnement défavorable aux micro-organismes.

Les magasinieres déshydratent ensuite le contenu dans des alvéoles, le transformant en miel en un à cinq jours selon les conditions. Le miel final a une teneur en eau inférieure à 18% et est scellé dans les alvéoles avec de la cire (**Dufay, 2022**).

1.5.2. Récolte par l'apiculteur

La récolte du miel implique de retirer les cadres de la/des hausse(s) pour laisser suffisamment de réserves aux abeilles, surtout en hiver. Les cadres doivent être operculés, indiquant une maturation complète par les ouvrières. L'absence d'opercule signale un contenu encore trop humide, risquant une fermentation par des levures. Les opercules de cire sont enlevés pour permettre l'écoulement du miel, à l'aide d'outils comme couteaux ou peignes à désoperculer, ou des machines spéciales. Les cadres sont ensuite placés dans une centrifugeuse, l'extracteur, pour projeter et récupérer le miel par gravité. On obtient ainsi du miel "centrifugé" ou "extrait".

Il peut aussi être pressé manuellement ("miel pressé") ou égoutté des rayons désoperculés ("miel égoutté"). Le miel est filtré pour enlever les impuretés visibles (cire, propolis, pollen). Une seconde filtration (ultrafiltration) peut éliminer les impuretés microscopiques telles que les grains de pollen, donnant du "miel filtré". Enfin, le miel est stocké pendant 4 à 5 jours à 20 °C minimum dans un "maturateur" en inox. Après cette décantation, l'écume d'impuretés est retirée et le miel est prêt à être conditionné (**Dufay, 2022**).

1.5.3. Conservation du miel

Il est essentiel de conserver le miel correctement, en le protégeant de la lumière et de l'humidité. Il convient d'établir une date limite d'utilisation. La teneur en eau doit être maintenue entre 17 et 18 % pour éviter toute fermentation due à l'effet hygroscopique, ce qui pourrait diminuer l'activité de la peroxydase après trois mois. Bien que le miel puisse être conservé à température ambiante dans les zones tempérées, il est recommandé d'éviter toute exposition à des températures supérieures à 25°C (idéalement entre 12°C et 25°C). De plus, il est crucial de protéger le miel des rayons UV, car leur exposition peut entraîner des transformations indésirables, donc le stockage à l'abri de la lumière UV est recommandé (**Lechaux, 2013**).

2. Polyphénols du miel

Les polyphénols sont des composés phytochimiques qui font partie des métabolites secondaires du règne végétal, facilement incorporés en miel provenant du nectar ou du pollen des plantes ciblées par l'abeille. Ils sont majoritairement des flavonoïdes et des acides phénoliques, des variations intéressantes de la teneur ont été observées en fonction de la source florale et l'origine géographique du miel (tableau I), leur identification et quantification dans les échantillons de miel ont considérablement augmenté ces dernières années, en raison de leur importance et bénéfiques pour la santé (**Gómez-Caravaca *et al.*, 2006; Pyrzynska & Biesaga, 2009; Campone *et al.*, 2014; Cianciosi *et al.*, 2018**).

Tableau I : Teneur moyenne en composés phénoliques des différents types de miels issu de divers régions algériennes (Otmani, 2022)

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

2.1. Activités biologiques du miel

2.1.1. Activités antioxydantes

Le stress oxydatif c'est un déséquilibre entre la production des molécules réactives notamment les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et le système antioxydant de l'organisme et cela par une hyperproduction des ERO lors du métabolisme cellulaire, une exposition à des radicaux libres ou bien une carence des antioxydants qui induit troubles fonctionnels, des dommages au niveau cellulaire ; acides nucléiques, protéines...etc en provoquant des maladies graves par exemple les cancers (**Rahal *et al.*, 2014; Cianciosi *et al.*, 2018**). Des recherches sont étalées sur les propriétés antioxydantes des polyphénols, ces derniers font partie des antioxydants exogènes qui ont un pouvoir réducteur (**Mouhoubi-Tafnine *et al.*, 2016**). L'activité antioxydante des flavonoïdes et les acides phénoliques est impliquée dans le piégeage des oxydants et limiter la réaction en chaîne avant que les cellules ne soient endommagées (**Habellah *et al.*, 2016**).

2.1.2. Activités antibactériennes

Le miel à des propriétés antimicrobiennes très intéressantes vis-à-vis des microorganismes pathogènes, par définition, c'est la capacité d'inhiber ou de neutraliser complètement les bactéries (antibactérien : bacteriostatique ou bactéricide), les champignons par l'effet antifongique ou bien les virus ; l'effet antiviral (**Cianciosi *et al.*, 2018b**). En culture, il peut prévenir et inhiber la croissance de pathogènes uniques et polymicrobiens (**Al-Waili *et al.*, 2014**). Le miel a un pouvoir antibactérien grâce à ses facteurs physico-chimiques (pH, l'osmolarité et le peroxyde d'hydrogène H₂O₂) mais aussi les facteurs phytochimiques comme les polyphénols (**Couquet *et al.*, 2013**).

Les composés phénoliques sont des composés bioactifs qui participent à la lutte contre les microorganismes, en particulier les bactéries avec différents degrés d'inhibition, généralement les bactéries gram-positives sont les plus sensibles que les bactéries gram-négatives (**Estevinho *et al.*, 2008**). Les polyphénols ont plusieurs mécanismes d'actions sur les microorganismes mais n'est toujours pas parfaitement compris. Ils peuvent causer des dommages à la paroi cellulaire entraînant une fuite de composants intracellulaires, influencer la biosynthèse des protéines, modifier les processus métaboliques dans les cellules bactériennes, inhiber la synthèse d'ADN (en supprimant l'activité de l'ADN gyrase) et l'ATP (**Efenberger-Szmechtyk *et al.*, 2021**).

2.1.3. Activité anti-cancéreuse

Les polyphénols du miel ont montré un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules cancéreuses dans l'acide caféique, ester phénylique d'acide caféique, chrysine, Galangin, Quercétine, Acacetin, Kaempférol, Pinoembrine, Pinobanksine et L'apigénine, ces derniers sont considérés comme des agents pharmacologiques promoteurs pour traiter le cancer (**Jaganathan & Mandal, 2009**).

2.1.4. L'activité anti-inflammatoire

Le miel a montré dans diverses recherches des effets anti-inflammatoires promoteurs contre les infections inflammatoires, d'une partie grâce à ses composés phénoliques mais aussi son pouvoir antioxydant pour éliminer les ROS qui peuvent causer ces inflammations. Le miel inhibe la production de médiateurs pro-inflammatoires notamment la réduction du TNF- α , de l'IL-6 (**Navaei-Alipour et al., 2021**).

Les flavonoïdes du miel ont une capacité à inhiber les enzymes pro-inflammatoires telles que la COX, la LOX, l'iNOS et les médiateurs pro-inflammatoires, notamment l'oxyde nitrique, les cytokines et les chimiokines, module le facteur transcriptionnel NF- κ B contrôlant l'expression de plusieurs médiateurs inflammatoires (**Silva et al., 2021; Mohammed, 2022**).

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Echantillon

Sept échantillons de miels collectés durant l'année 2023 de différentes régions en Algérie (figure 01). Les échantillons sont conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leurs analyses.



Figure 01 : Photographie des sept miels analysés.

Le tableau II représente l'origines florales, la région, la couleur, la consistance et l'année de récolte des miels analysés.

Tableau II : L'origine florale, l'identifiant, la région, la couleur, la consistance et l'année de récolte des miels analysés.

IDENT	ORIGINE GEOGRAPHIQUE	ORIGINE FLORALE (PRESUME)	COULEUR	CONSISTANCE	ANNEE DE RECOLTE
M1	Akfadou (Bejaia)	Polyfloral	Noir	Liquide	2023
M2	Toudja (Bejaia)	Polyfloral	Ambre clair	Liquide	2023
M3	Adekar (Bejaia)	Polyfloral	Ambre clair	Pâteux	2023
M4	Tichy (Bejaia)	Polyfloral	Ambre clair	Liquide	2023
M5	Tighremt (Bejaia)	Polyfloral	Ambre clair	Cristallisé	2023
M6	Naama	Monofloral	Blanc	Pâteux	2023
M7	Souk el tenine (bejaia)	Polyfloral	Noir	Liquide	2023

2. Analyses physico-chimiques

Le Brix, l'Humidité, le pH, la conductivité électrique (CE), l'acidité, l'HMF et la proline sont déterminés selon les recommandations de la commission internationale du miel (Bogdanov *et al.*, 1997).

2.1. Brix et humidité

À l'aide d'un réfractomètre, une goutte de miel est déposée et finement étalée sur la platine de prisme après l'avoir calibrée avec l'eau distillée. Le pourcentage de Brix et l'indice de réfraction sont obtenus par une observation à travers l'oculaire de réfractomètre suite au partage de la ligne horizontale entre une zone claire et obscure, cette ligne coupe deux échelles verticales graduées. L'indice de réfraction permet de déterminer la teneur en eau du miel en se référant à la table de CHATAWAY à 20 °C (Annexe 1).

2.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Des solutions de miel sont préparées par la dissolution de 2,5 g de miel dans 25 ml d'eau distillé 10 % (p/v). La mesure du pH de ces solutions de miel est effectuée à l'aide d'un pH-mètre à 20 °C.

2.3. Acidité libre, lactone et totale

Une solution aqueuse de miel (10 % ; p/v) est titrée avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,05 N) sous agitation jusqu'à un pH de 10,5 pour déterminer l'acidité libre. Un titrage inverse avec une solution de chlorure d'hydrogène (0,05 N) est effectué pour la solution jusqu'au pH initial pour déterminer l'acidité des lactones. Les résultats sont calculés selon les formules suivantes :

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

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

$$\text{Acidité totale} = \text{Acidité libre} + \text{Acidité des lactones}$$

2.4. Conductivité électrique

Une solution de miel (20 %, p/v) est préparée à partir d'une quantité M de miel homogénéisé dans 25 ml d'eau distillée. La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre, les résultats sont exprimés en millisiemens/cm :

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

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

Où :

M : Quantité de miel a pesée

MS : Teneur en matière sèche de miel CE : Conductivité Electrique

0,032 : Facteur de correction

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

2.5. La couleur

Une quantité de 1g de miel est dissoute dans 2 ml d'eau distillée. Les absorbances sont mesurées au spectrophotomètre à 635 nm puis converties en PFund en utilisant la formule ci-dessous :

$$PFund \text{ (mm)} = -36,70 + 371,39 \times Abs$$

La détermination de la couleur des miels analysés selon l'échelle Pfund. (**Kaškonienė et al. 2009**)

Où :

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

Abs : Absorption de la solution de miel.

2.6. Hydrométhylfurfural (HMF)

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

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

Où :

A₂₈₄ : Absorbance à 284 nm ; A₃₃₆ : Absorbance à 336 nm ; W : Masse en grammes de l'échantillon de miel ; 149,7 : Constante.

2.7. Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée selon la méthode d'**Azeredo et al. (2003)**. Une solution aqueuse de miel à 50 % est préparée en homogénéisant 0,5 g de miel avec 1 ml d'eau distillée. Ensuite, 0,1 ml de cette solution est mélangé avec 5 ml de réactif de Bradford (BF). Après homogénéisation par vortex, les échantillons sont incubés pendant 2 minutes dans l'obscurité. Les absorbances sont mesurées à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'albumine de sérum bovin (BSA) pour 100 g de miel, en référence à la courbe d'étalonnage de la BSA ($y=0,442X + 0,015$; $R^2 = 0,9927$).

2.8. Dosage de proline

Un volume de 1 ml d'acide formique et 1ml de ninhydrine (3 % ; p/v) sont ajoutés à un volume de 0,5 ml de deux solutions préparées séparément (la solution de miel (5 % ; p/v) et la solution standard de proline (0,003 % ; p/v)). Les deux solutions sont agitées pendant 15 min puis chauffées au bain marie à 100 °C pendant 15 min. Les deux solutions sont ensuite transférées vers un bain marie à 70 °C pendant 10 min. Un volume de 5 ml de la solution de 2-propanol (50 % ; v/v) est ajouté à chaque mélange. Après 45 min d'incubation la lecture des absorbances s'est faite à 510 nm. La teneur en proline est calculée par l'équation suivante

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

Où :

E_s : Absorbance de l'échantillon de miel ; E_A : Absorbance de la solution standard de la proline

E_1 : mg de proline pour la solution standard ; E_2 : Quantité de miel ; 80 : Facteur de dilution.

2.9. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques est déterminée en utilisant la méthode de **Naithani et al., (2006)**. Pour ce faire, une solution aqueuse de miel à 10 % est préparée en homogénéisant 0,1 g de miel avec 1 ml d'eau distillée. Ensuite, 0,1 ml de cette solution est mélangé avec 0,1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (50 %) et 2 ml de carbonate de sodium (190 mM). Après homogénéisation, les échantillons sont incubés pendant 30 minutes dans l'obscurité.

Les absorbances sont ensuite mesurées à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 100 g de miel, en référence à

la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 1,3577X + 0,0402$; $R^2 = 0,996$).

2.10. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode décrite par **Al *et al.*, (2009)**. Un volume de 0,3 ml de nitrite de sodium (5 % ; p/v) est additionné à 1 ml de la solution de miel (12,5 % ; p/v). Le mélange est incubé pendant 5min, un volume de 0,3 ml de chlorure d'aluminium (10 % ; p/v) est ajouté à la solution puis incubation pendant 6 min. Un autre volume de 2 ml d'hydroxyde de sodium (4 % p/v) est ajouté au mélange. La lecture des absorbances s'est faite à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine 800 mg⁻¹ de miel en référence à la courbe de la quercétine ($y = 0,7323X - 0,023$; $R^2 = 0,996$).

3. Extraction de composées phénoliques

L'extraction solide-liquide des composés phénoliques des échantillons de miel est réalisée selon le protocole de **Ferreres *et al.*, (1994)**. Une quantité de 50 g de miel est dissoute dans 125 ml d'eau distillée acidifiée (pH = 2). Après homogénéisation, la solution de miel est filtrée à l'aide de papier filtre et le filtrat est ensuite passé à travers une colonne en verre contenant de la résine Amberlite XAD-4. La résine est lavée successivement deux fois avec 100 ml d'eau distillée acidifiée (pH = 2), puis avec 300 ml d'eau distillée. Un volume de 400 ml de méthanol est ajouté à la résine pour l'élution, et la fraction phénolique élue est évaporée à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les résidus secs sont dissous dans 5 ml d'eau distillée, puis 15 ml d'éther diéthylique sont ajoutés à la solution. Le mélange se sépare en deux phases, et la phase organique est récupérée à l'aide d'une micropipette. Cette opération est répétée trois fois. Le séchage de l'éther diéthylique est ensuite effectué sous une hotte chimique et les extraits phénoliques récupérés sont conservés à 4°C.

4. Activité antibactérienne

4.1.Préparation de la suspension bactérienne

Deux souches bactériennes de référence sont utilisées, une souche Gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et une souche Gram négative (*Escherichia coli* ATCC 25922) dans le but d'évaluer l'effet antibactérien des extraits polyphénoliques des miels

Trois à cinq colonies bien isolées, sur gélose nutritif (GN), issues d'une culture de 24h/ 37°C sont ensemencé dans une quantité de bouillon nutritifs. Des cultures jeune de 18 h (figure 02) sont alors récupérés à une charge de 10^8 UFC/mL ($DO_{630}=0.08-0.13$) (Pourhajibagher *et al.*, 2016).

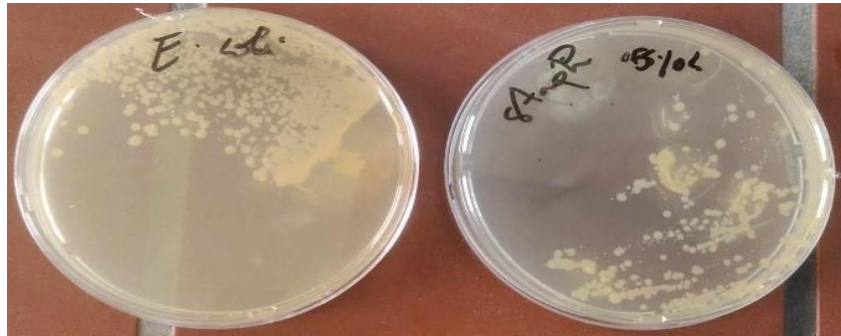


Figure 02 : Les cultures bactériennes de 18h de *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*.

4.2. Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien (figure 03).



Figure 03 : Matériel utilisé pour la méthode de puits.

Des boites de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton agar sont ensemencées aseptiquement par une suspension de 10^7 cellules/ml qui provient d'une culture jeune de bactéries. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après le séchage des boites, la gélose est perforée à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Une goutte de GN est déposée aux profondeurs des puits pour empêcher la fuite des extraits au fond de la boite de Petri.

50 μ l de chaque extrait est déposé dans un puit. Après 2h au frigo les boites sont incubées dans une étuve à 37° pendant 24h. Le diamètre de chaque zone d'inhibition est donné en mm.

Les résultats sont comparés au contrôle positif (disque d'antibiotique : gentamicine) et au contrôle négatif (DMSO).

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

Un produit est considéré actif, Les échantillons de miel sont classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce *et al.*, 2003) : non sensible (<8mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19mm) et extrêmement sensible (>20 mm).

4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), un protocole bien décrit par Patton *et al.*, (2006) a été suivie. Sept dilutions de 100 µl pour chaque extrait polyphénolique (concentration mère de 16.5 mg/ml de DMSO pour l'extrait 01 et 17,5 mg/ml de DMSO pour le reste des extraits) sont déposées dans les puits d'une microplaque stérile, puis l'ajout de 100 µl de suspension bactérienne, à 10⁵ UFC/ml de Miller Hinton bouillon (MHB), dans chaque puits a été effectué. Pour l'obtention du témoin, un volume de 100 µl de DMSO est inoculé avec 100 µl la suspension bactérienne. La densité optique est déterminée dans le lecteur de microplaques à 630 nm avant l'incubation à T₀. La plaque est ensuite incubée pendant 24 heures à 37 °C.



Figure 04 : Matériel utilisé pour les microdilutions.

Après incubation, les densités optiques sont de nouveau lues à T₂₄. Le pourcentage d'inhibition est déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = 1 - (\text{AT} / \text{AC}) \times 100$$

Où :

AT : Absorbance T₂₄ – Absorbance T₀ de l'échantillon, AC : Absorbance T₂₄ – Absorbance T₀ de contrôle.

5. Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type de trois essais. L'analyse statistique est effectuée pour identifier la présence ou l'absence de différences significatives dans les paramètres physicochimiques, les teneurs en composés phénoliques et les activités antibactériennes entre les échantillons de miel analysés. Pour cela, le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé, notamment pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) entre ces différents échantillons. La comparaison des moyennes des miels analysés est réalisée par le test Post Hoc HSD de Tukey, et les résultats sont classés par ordre croissant : $a > b > c > d > e > f$. Les valeurs partagées par la même lettre ne présentent aucune différence statistique significative, et les barres verticales représentent les écarts types.

Les corrélations entre les paramètres étudiés sont calculées en utilisant la matrice de corrélation ($p < 0,5$; $p < 0,1$; $p < 0,001$). L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est utilisée pour révéler graphiquement les similitudes et les différences entre les miels étudiés.

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Paramètres physico-chimiques

1.1. Brix

Le degré de Brix représente la composition en glucides. Les différents résultats obtenus à partir du test de brix des échantillons de miel analysés sont représentés dans la figure 5. Selon ces résultats, le degré de brix le plus élevé est obtenu par le miel M2 de Toudja (84,28 %). En revanche, la valeur la plus faible est enregistrée par le miel M5 de Tighremt (78,08 %).

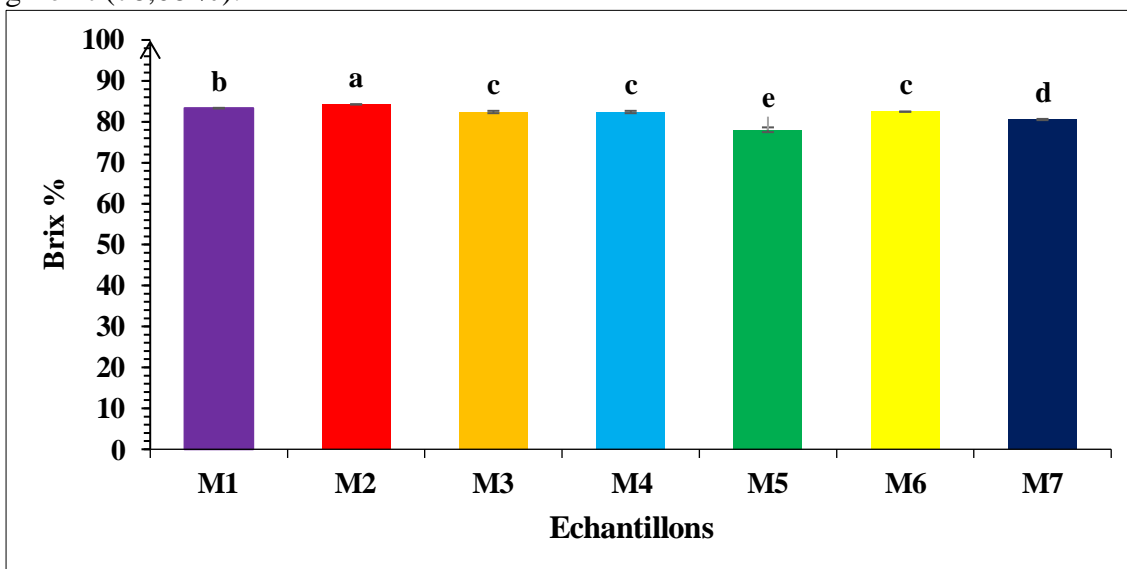


Figure 5 : Résultats de brix des miels analysés.

L'analyse de la variance de brix montre un groupe homogène (M3, M4 et M6) qui ne présente pas de différence significative, les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

L'intervalle de brix des miels analysés (78,08 à 84,28 %) répond à la norme fixée par le **codex alimentarius (2001)** qui suggère que la teneur en sucre est supérieure à 65 %. Les résultats obtenus dans cette étude sont largement supérieurs à ceux rapportés par **Islam et al., (2012)** dans les miels bangladais avec des valeurs qui oscillent entre 42,8 et 60,6 %. Cependant, des résultats similaires sont enregistrés dans les miels malaysiens (63,33 à 84,11%) (**Ismail et al., 2021**).

Ils existent plusieurs paramètres qui peuvent expliquer ces variations des valeurs de brix entre les miels analysés. De part l'origine botanique et géographique qui sont parfois différents, ainsi que la composition phytochimique de ces échantillons (**Bogdanov, 1997; Koula et al., 2014**).

1.2. Humidité

Les résultats des teneurs en eau des miels analysés sont donnés dans la figure 6. A première vue de diagramme en bâtons ci-dessous, Le miel M5 de Tighremt présente la teneur en humidité la plus élevée (20,2 %), suivi par le miel M7 de Souk el Tenine (17,8 %). Les miels M6 de Naama, M4 de Tichy et M3 d'Adekar ont tous une teneur en eau de 15,9 %, tandis que le miel M1 d'Akfadou enregistre une teneur de 15 %. En revanche, le miel M2 de Toudja affiche la teneur en humidité la plus basse (13,8 %) parmi les échantillons analysés.

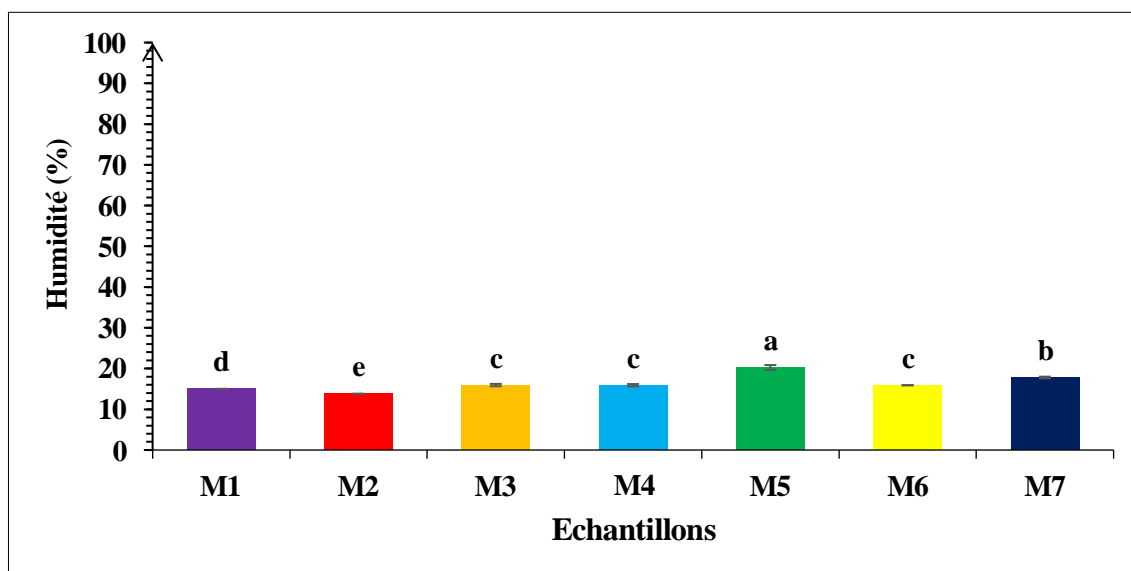


Figure 6 : Teneurs en eau des miels analysés.

L'analyse ANOVA de l'humidité révèle un groupe homogène (M3, M4 et M6) qui ne présente pas de différences significatives. En revanche, les autres échantillons (M1, M2, M5 et M7) sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les valeurs d'humidité des miels M1, M2, M3, M4, M6 et M7 sont inférieures à 20 %, ce qui est conforme à la limite fixée par le **Codex Alimentarius (2001)**. Cela signifie que ces miels sont matures. Toutefois, le miel M5 de Tighremt présente une teneur en eau plus élevée (20,2 %), ce qui le rend susceptible à la fermentation. Les valeurs d'humidité des miels analysés se situent dans la plage rapportée par **Karabagias et al. (2014a)** pour les miels grecs (10,50 à 20,50 %). De plus, les résultats obtenus dans cette étude sont en grande partie cohérents avec ceux de **Fechner et al. (2016)** sur les miels argentins, dont les valeurs varient entre 15 % et 19,6 %.

Les différences des taux d'humidité des miels est influencée par le degré de maturité, les conditions climatiques ainsi que les conditions d'extraction et de stockage (Fechner *et al.*, 2016).

1.3. pH

Les différentes valeurs du potentiel hydrogène sont illustrés dans la figure 7. Les résultats obtenus montrent que les miels analysés sont légèrement acides et les valeurs de pH varient d'un miel à l'autre. En regardant le diagramme en bâtons ci-dessous, il bien clair que les miels de Tighremt (M5) et de Naàma (M6) enregistrent le pH le plus faible avec une valeur de 4,1. En revanche, le miel de Tichy (M4) montre le pH le plus élevé avec une valeur de 4,8.

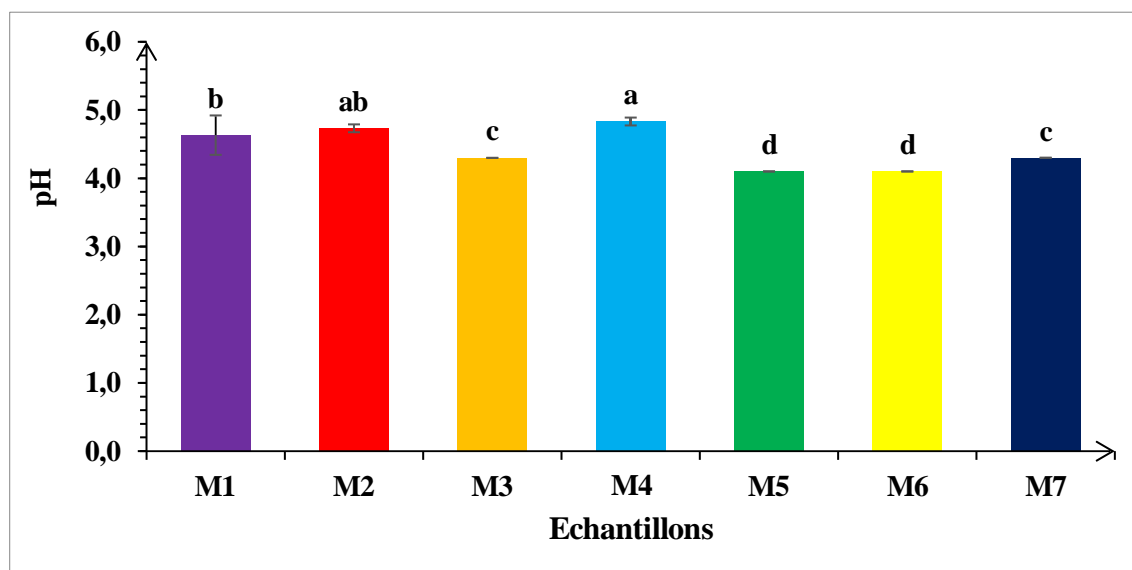


Figure 07 : Valeurs de pH des miels analysés.

Du point de vue statistique, les deux groupes homogènes (M5, M6) et (M3, M7) ne présentent pas de différences significatives et leurs valeurs de pH obtenues sont conformes à la norme fixée pour les miels de nectar (3,3 à 4,6), ce qui indique que ces miels sont probablement issus de nectar. En revanche, les miels M1, M2 et M4 sont statistiquement différents avec une significativité de $p < 0,05$. Ces échantillons montrent des pH situés dans l'intervalle des miels de miellat (4,2 à 5,5), ce qui suggère qu'ils pourraient provenir de miellat.

Les résultats obtenus dans cette étude sont supérieurs à ceux de Belhaj *et al.* (2015), qui ont trouvé des valeurs de pH allant de 3,39 à 4,19 dans les miels marocains.

En revanche, **Habib *et al.* (2014)** ont rapporté des valeurs de pH allant de 3,99 à 6,33 dans les miels des régions arides, lesquelles sont similaires aux valeurs de pH des miels analysés.

Les échantillons analysés n'ont pas dépassé les normes, ce qui peut indiquer leur fraîcheur. La variation du pH du miel dépend des plantes visitées par les abeilles, de leurs sécrétions salivaires, ainsi que des processus enzymatiques et fermentatifs lors de la transformation de la matière première (**Belhaj *et al.*, 2015**).

1.4. Acidité

1.4.1. Acidité libre

L'acidité libre du miel est due à la présence d'acides organiques, notamment d'acide gluconique en équilibre avec leurs lactones ou esters et d'ions inorganiques tels que le phosphate et le chlorure (**Singh & Bath, 1997**).

Les résultats de l'acidité libre des miels analysés sont représentés dans la figure 8. Les valeurs obtenues varient de 9,32 à 89 meq/kg. Le miel M1 d'Akfadou se singularise par l'acidité libre la plus remarquable suivi par le miel M2 de Toudja (74 meq/kg). D'autre part, le miel M4 de Tichy présente l'acidité libre la plus faible.

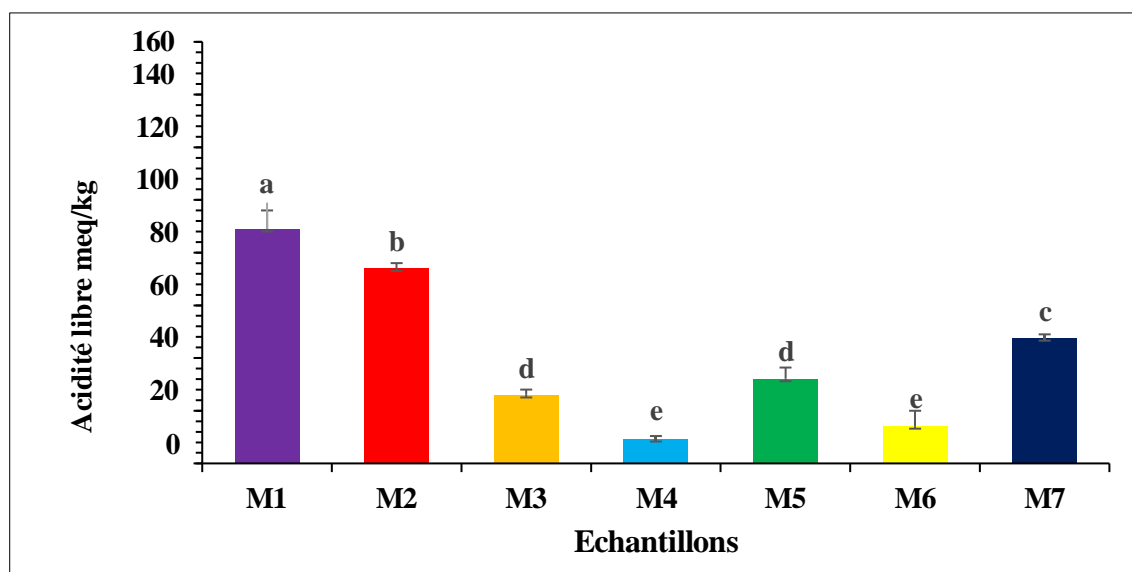


Figure 8 : Acidité libre des miels analysés.

L'analyse statistique révèle la présence de deux groupes homogènes, (M3, M5) et (M4, M6), qui ne présentent pas de différences significatives.

En revanche, les autres échantillons de miel montrent des différences statistiquement significatives dans leurs acidités libres à $p < 0,05$. Les résultats d'acidité de cette étude sont supérieurs à ceux de **Bakchiche et al. (2018)**, dont les valeurs se situent entre 19,35 et 23,28 meq/kg, à l'exception des acidités libres des miels M4 et M6, qui sont inférieures à ces valeurs. Par ailleurs, **Assia et al. (2007)** ont rapporté des résultats similaires à ceux de M3, M5 et M7, avec un intervalle de 27,02 à 44,88 meq/kg.

Une faible valeur d'acidité indique la fraîcheur de miel, tandis qu'une forte acidité indique la fermentation des sucres en acides organiques.

De plus, la texture du miel influence son acidité : un miel à la texture épaisse présente généralement une faible acidité, car la fermentation produisant des acides libres est plus difficile. À l'inverse, un miel à la texture liquide tend à être plus acide. Par ailleurs, la durée de stockage a également un impact sur l'acidité du miel : un vieux miel est souvent plus acide en raison de la fermentation accrue, qui entraîne la formation d'acides libres (**Ayubi, 2018**).

Dans cette étude, les miels M1 et M2 ont dépassé la fourchette normale d'acidité libre fixée par le **Codex Alimentarius (2001)**, qui ne doit pas excéder 50 meq/kg. Cela peut s'expliquer par la fermentation des sucres en acides organiques due au vieillissement de ces miels. En revanche, les autres miels respectent les normes, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur. Le miel M4 présente la valeur d'acidité la plus faible, avec une grande différence par rapport aux autres, probablement parce qu'il n'a pas subi de fermentation.

1.4.2. Acidité Combinée

L'acidité combinée est le résultat de la cyclisation des acides organiques pour former des esters cycliques appelés lactones. Cette réaction se traduit par la perte d'une molécule d'eau et la disparition de la fonction carboxylique de l'acide. L'acidité lactonique est considérée comme la réserve d'acidité lorsque les miels deviennent alcalins (**Otmani, 2022**).

Les valeurs d'acidité combinée des miels étudiés sont données dans la figure 9. Selon les résultats obtenus, les miels M6 de Naàma (98,8 meq/kg) et M4 de Tichy (86,68 meq/kg) marquent l'acidité combinée la plus élevées. Cependant, le miel M5 de Tighremt présente la valeur la plus faible (38,8 meq/kg).

L'analyse de la variance a révélé trois groupes distincts avec des différences non significatives : (M1, M2, M3, M5), (M4, M6) et (M5, M7). Le miel M5 n'a pas montré de différences notables par rapport aux miels M2, M3 et M7. En revanche, M7 est statistiquement différent de M2 et M3.

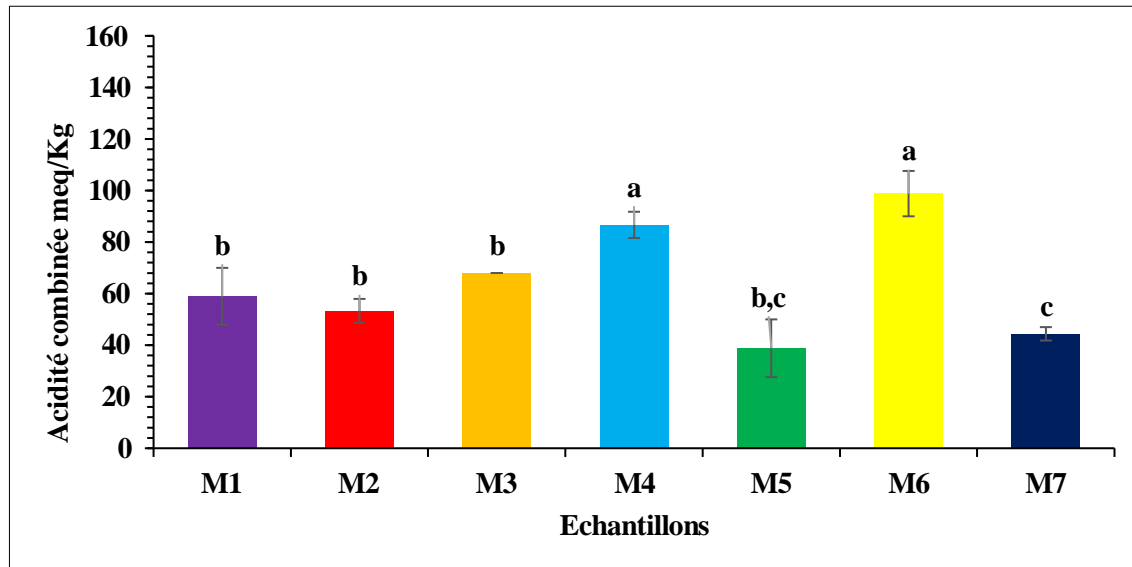


Figure 9 : Acidité lactone des miels analysés.

1.4.3. Acidité totale

L'acidité totale est la somme de l'acidité libre et de l'acidité combinée. A la lumière des résultats illustrés dans la figure 10, les valeurs obtenues pour l'acidité totale des différents échantillons de miel montrent une variation significative entre les échantillons. L'acidité totale, mesurée en milliéquivalents par kilogramme (meq/kg), est un indicateur important de la qualité du miel, influençant son goût et sa conservation (Ayubi, 2018).

Le miel M1 d'Akfadou présente la plus haute acidité avec 148 meq/kg, ce qui pourrait être dû à une maturation ou une fermentation plus avancée, ou à une source florale spécifique aux caractéristiques plus acides. Le miel M2 de Toudja, avec une acidité de 127 meq/kg, montre également un niveau relativement élevé, possiblement pour des raisons similaires à celles de M1, bien que moins prononcées.

Les miels M3 (94 meq/kg), M4 (96 meq/kg) et M7 (92 meq/kg) ont des valeurs d'acidité très proches, suggérant des conditions de production et de stockage similaires ou des sources florales comparables. Cependant, le miel M5 de Tighremt, avec l'acidité la plus basse à 71 meq/kg, pourrait indiquer un miel plus doux ou mieux conservé.

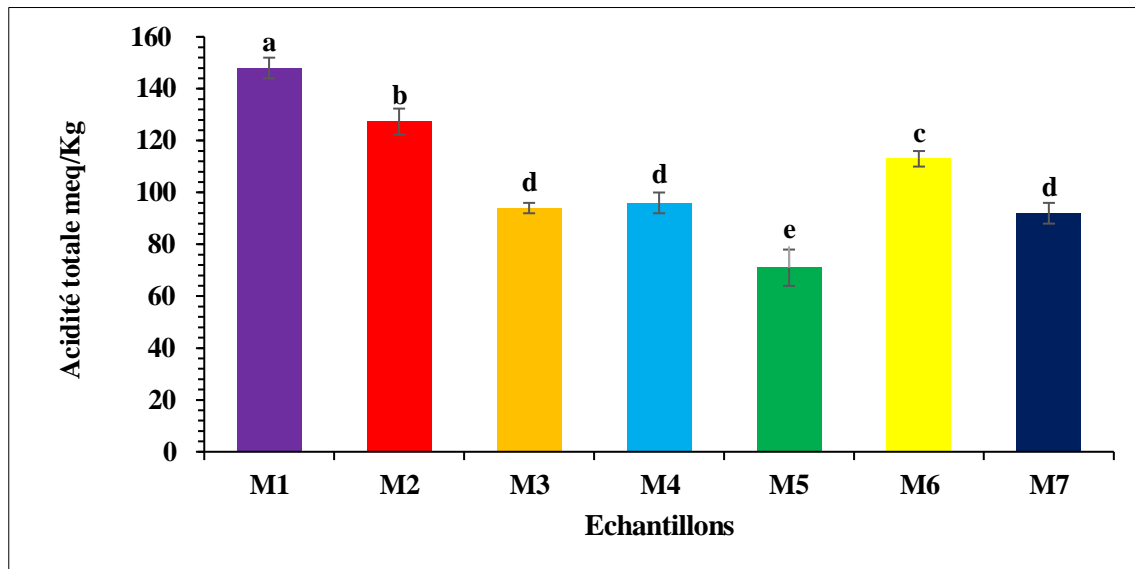


Figure 10 : Acidité totale des miels analysés.

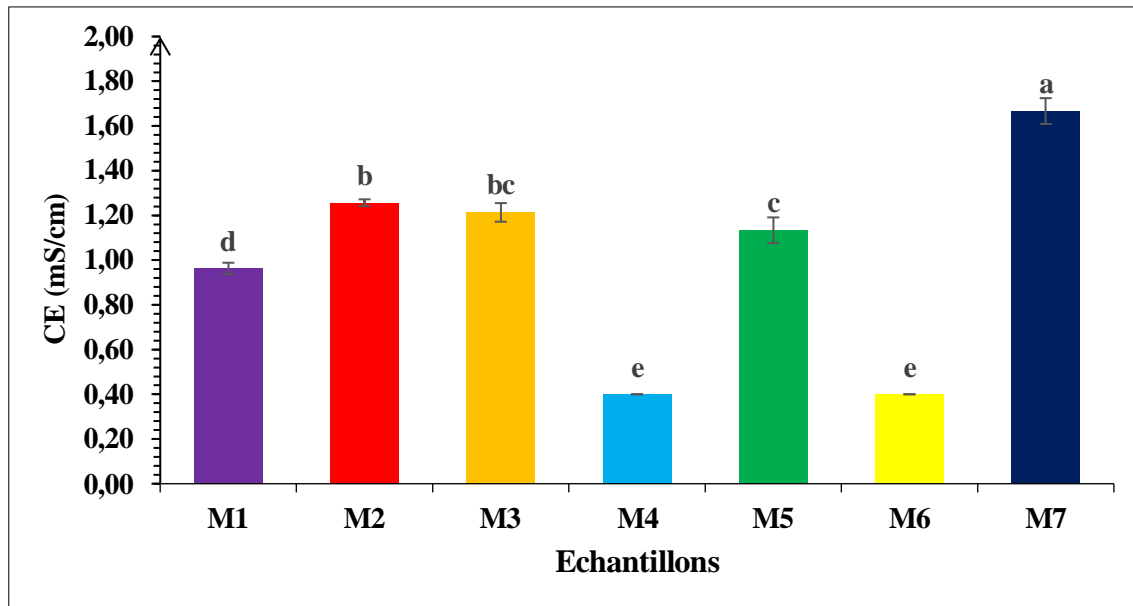
L'analyse statistique révèle un groupe homogène composé des miels M3, M4 et M7, présentant des différences non significatives entre eux. En revanche, les autres échantillons de miel montrent des différences significatives avec un $p < 0,05$.

Pour la plupart des miels étudiés, les résultats obtenus sont très élevés comparés à ceux trouvés par **Habib *et al.* (2014)** et **Kumar *et al.* (2018)** dans les miels des régions arides et des miels indiens avec des intervalles de 10,88 à 40,69 meq/kg et de 22,67 à 49,33 meq/kg, respectivement.

1.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) est un paramètre de qualité qui permet d'estimer la teneur en ions dans le miel. Les variations importantes dans les résultats de la CE des échantillons de miel révèlent leur origine botanique et leur composition minérale. Selon les résultats représentés dans la figure 11, les conductivités des miels M7 de Souk el tenine (1,67 mS/cm) et M5 de Tighremt (1,13 mS/cm) sont plutôt élevés, indiquant une présence importante de minéraux, souvent liée à des miels de miellat. Par contre, les conductivités de M4 et M6 sont beaucoup plus faibles avec une valeur de 0,40 mS/cm, sans doute en raison de sources florales. L'analyse statistique de la conductivité électrique montre un groupe homogène, sans différence significative (M4 et M6) et les autres miels sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

D'après le **Codex Alimentarius (2001)**, les échantillons M1, M2, M3, M5 et M7 ont une conductivité électrique supérieure à 0,8 mS/cm, ce qui suggère qu'ils sont issus de miellats. Par contre, la conductivité de M4 et M6 est inférieure à 0,8 mS/cm, ce qui laisse supposer qu'ils sont issus de nectar. Toutefois, la valeur du pH laisse entendre que les miels M4 et M5 sont probablement un mélange de miellat et de nectar moins minérales (nectar).



La figure 11 : Conductivité électrique des échantillons étudiés.

Les valeurs de conductivité électrique obtenues sont supérieures à ceux rapportés par **Makhloufi et al. (2021)** dans les miels algériens avec des valeurs qui oscillent entre 0,22 et 0,42 mS/cm. Cependant, **Rodopoulou et al. (2022)** ont obtenues des résultats similaires dans les miels grecs (0,28 à 1,7 mS/cm).

La conductivité électrique est un critère lié à l'origine botanique et à la composition chimique du miel, il est souvent utilisée dans le contrôle de qualité de ce dernier (**Karabagias et al., 2014b; Da Silva et al., 2016**).

1.6. Couleur

La couleur du miel est la première caractéristique physique remarquée par les consommateurs. Il s'agit d'un élément sensoriel important qui affecte dans une large mesure la sélection du miel (**Ouchemoukh, 2012**).

D'après les résultats illustrés dans la figure 12 et le tableau III, la couleur des miels analysés varie du blanc à l'ambre foncé, avec des intensités de couleur allant de 15,67 mm Pfund pour le miel M6 de Naama à 109,98 mm Pfund pour le miel M5 de Tighrent.

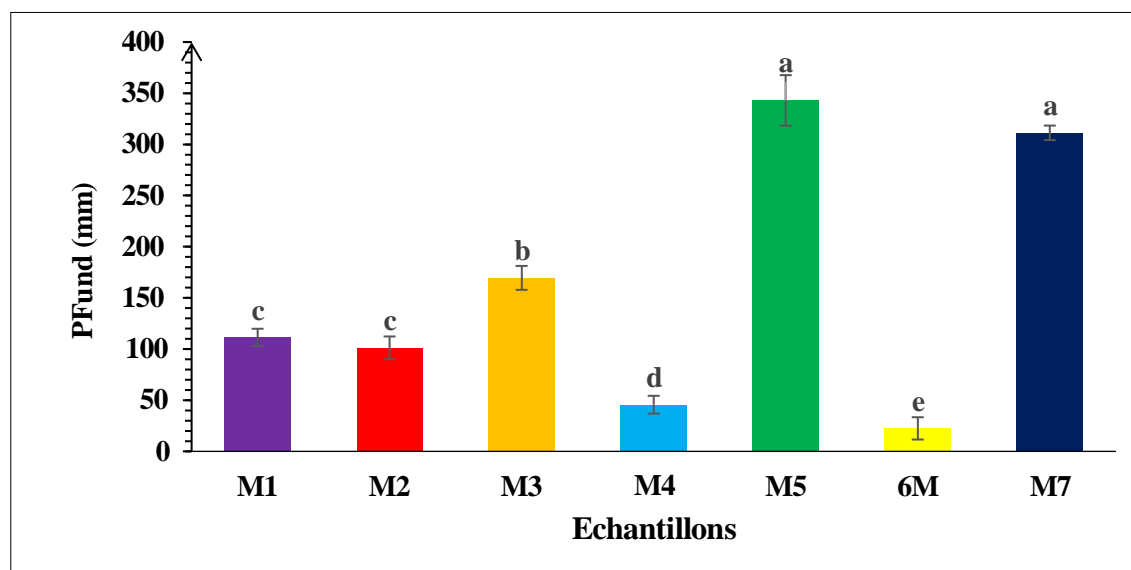


Figure 12 : Intensité de couleur des échantillons analysés.

L'analyse ANOVA de la couleur révèle 2 groupes homogènes (M5, M7) et (M1, M2) qui ne diffèrent pas statistiquement. En revanche, le reste des échantillons (M3, M4 et M6) présentent des différences significatives à $p < 0,05$.

Les résultats obtenus sont plus élevés que ceux rapportés par *Smetanska et al.* (2021) sur les miels de diverses origines (20,281 à 94,843 mm Pfund) et par *Pauliuc et al.* (2020) dans les miels roumains (29 à 74 mm Pfund).

La couleur peut-être affecter par l'exposition à la chaleur ou bien par la durée de conservation du miel. L'intensité de couleur diffère selon l'origine botanique et géographique du miel, suggérant l'existence d'une corrélation positive entre la couleur et la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes du miel (*Da Silva et al., 2016; Smetanska et al., 2021*).

Tableau III : Noms des couleurs selon l'échelle Pfund.

Echantillons	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Noms des Couleurs	Ambre	Ambre	Ambre foncé	Ambre extra clair	Ambre foncé	Blanc	Ambre foncé

1.7. Teneurs en HMF

Les résultats concernant la teneur en HMF (Hydroxyméthylfurfural) des miels analysés sont illustrés dans la figure 13.

Selon le Codex **Alimentarius** (2001), la limite maximale recommandée pour la teneur en HMF est de 40 mg/kg. Les échantillons M1, M4 et M7 ont dépassé cette limite avec des teneurs respectives de 61,73, 64,82 et 109,98 mg/kg, indiquant une exposition à des températures élevées ou un stockage prolongé, affectant ainsi leur qualité. En revanche, les teneurs en HMF des échantillons M2 et M6 sont respectivement de 15,42 et 15,67 mg/kg, ce qui est bien inférieur aux limites recommandées, indiquant une meilleure qualité et fraîcheur.

Les concentrations en HMF des miels M3 et M5 sont respectivement de 31,64 et 31,94 mg/kg, ce qui est légèrement inférieur à la limite, indiquant une qualité acceptable mais avec un risque potentiel de dégradation. Ces résultats soulignent l'importance de bonnes pratiques de récolte, de transformation et de stockage pour maintenir une qualité de miel conforme aux normes internationales.

L'analyse statistique des teneurs en HMF montre deux groupes homogènes (M3 et M5) et (M2 et M6). Les autres miels sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés par **Sharif et al. (2018)**, qui se situent dans l'intervalle de 14,5 à 112,5 mg/kg. Cependant, **Eshete & Eshete. (2019)** ont rapporté des valeurs inférieures variant de 5 à 30 mg/kg.

Les teneurs en HMF des échantillons peuvent être influencées par plusieurs facteurs notamment la température, le temps de chauffage, les conditions de stockage et certaines propriétés chimiques du miel qui sont liées à la source florale (**Mouhoubi-Tafinine et al., 2018**).

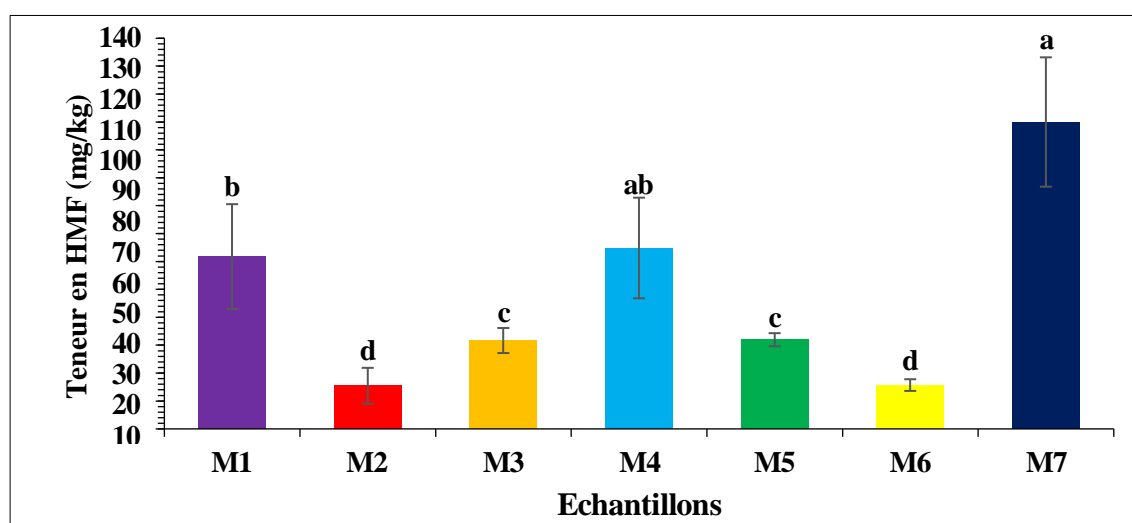


Figure 13 : Teneurs en HMF des échantillons de miel analysés.

1.8. Teneurs en protéines

Les résultats des concentrations en protéines des miels étudiés sont donnés dans la figure 14. Le miel M5 de Tighremt enregistre la plus grande teneur (152,49 mg EBSA/100g), tant dit que celui d'Akfadou (M1) présente la concentration la plus faible avec une valeur de 29,41 mg EBSA/100g.

L'étude statistique des teneurs en protéines, montre que les sept échantillons étudiés sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux enregistrer par **Ismail *et al.* (2021)** dans les miels malaysiens (27,44 à 105,89 mg EBSA/100 g) et ceux rapportés par **Alvarez-Suarez *et al.* (2010)** dans les miels cubains avec un intervalle de 12 à 92,3 mg EBSA/100 g, sauf pour les miels M2, M5 et M7 qui ont des teneurs supérieurs à cet intervalle.

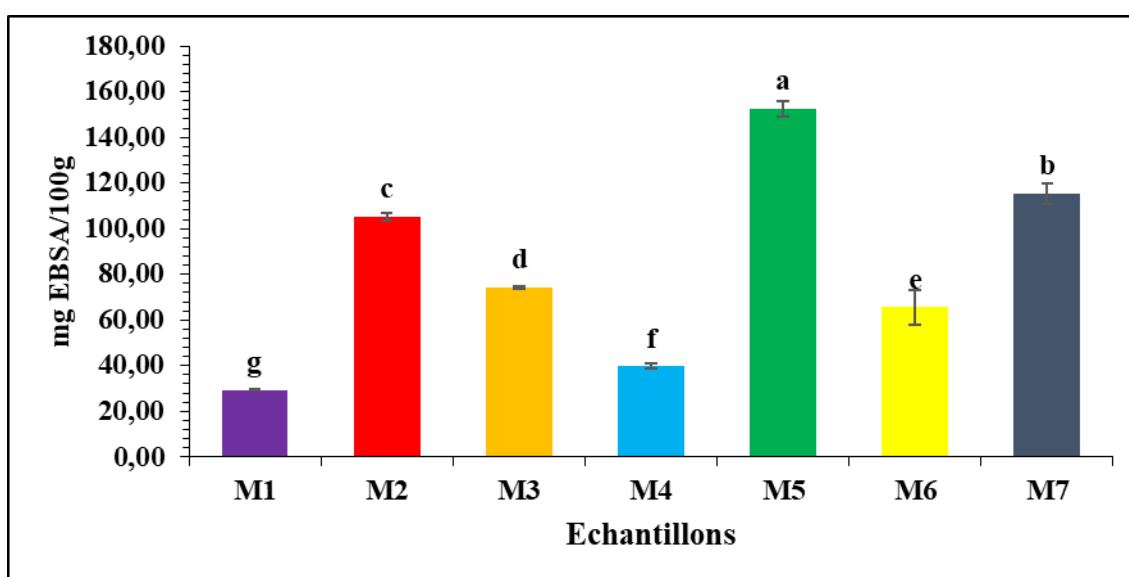


Figure 14 : Teneurs en protéines des miels étudiés.

La variation des teneurs en protéines des miels est probablement due aux protéines provenant de pollen, ou aux protéines sécrétées par les abeilles lors de la transformation du nectar en miel (**Mureşan *et al.*, 2022**).

1.9. Teneurs en proline

La proline fait partie des acides aminés provenant des sécrétions salivaires des abeilles lors de la transformation du nectar des plantes en miel.

Les résultats illustrés dans la figure 15 montrent que tous les échantillons analysés présentent des taux de proline supérieurs à la limite minimale établie par le **Codex Alimentarius (2001)** (>183 mg/kg).

Cela indique que tous les miels analysés sont mûrs et non adultérés.

Le miel de Toudja (M2) affiche la concentration la plus élevée en proline avec une valeur de 956,69 mg/kg, tandis que le miel d'Akfadou (M1) présente la teneur la plus basse, soit 482,63 mg/kg.

L'analyse ANOVA des teneurs en proline a révélé deux groupes homogènes (M4, M6, M7) et (M5, M6) qui ne manifestent pas de divergences remarquables. Cependant, les miels M1, M2 et M3 sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

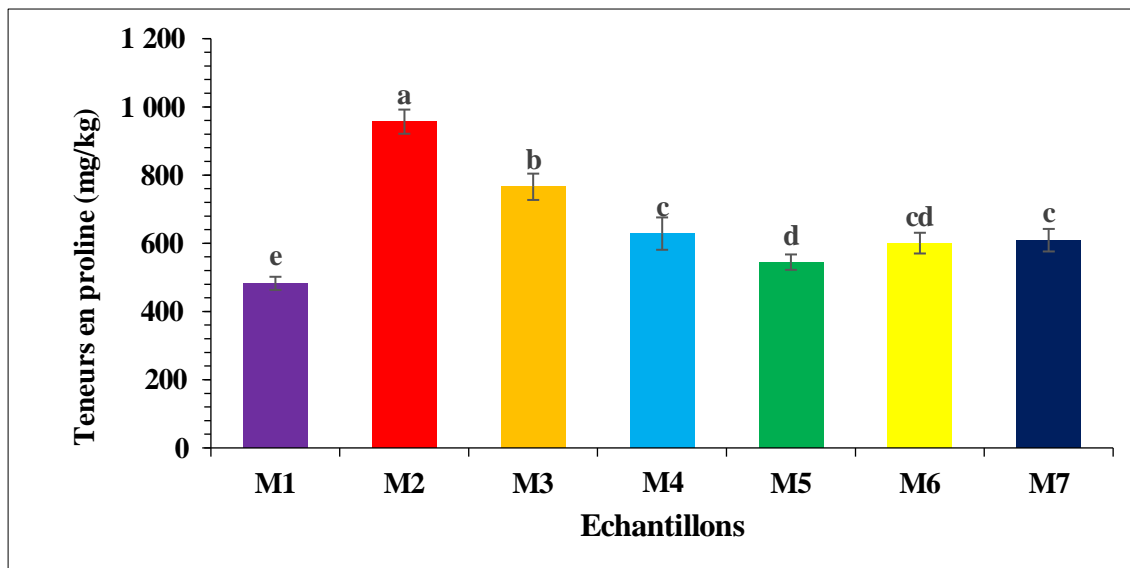


Figure 15 : Teneurs en proline des miels analysés.

Les résultats de cette étude sont nettement plus élevés de ceux obtenus par **Ouchemoukh *et al.* (2007)** dans les miels de Bejaia avec un intervalle de 202 à 680 mg/kg et par **Truzzi *et al.* (2014)** qui ont trouvés des teneurs entre 229 et 665 mg/kg. Cependant, **Meda *et al.* (2005)** ont rapportés des teneurs similaires dans les miels de Burkina-Faso (437.8 à 2169.4 mg/kg).

La teneur en proline est un indice de maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications. On considère qu'un miel est arrivé à maturité lorsque sa teneur en proline est supérieure à 183 mg/kg. Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification (**Assia *et al.*, 2007**).

2. Composés bioactifs

2.1. Teneurs en composés phénoliques

Les résultats de dosage polyphénols à partir des différents miels sont donnés dans la figure 16. Le miel M7 de Souk el tenine se distingue par la teneur la plus élevée en composés phénoliques avec une concentration de 456,51 mg EAG /100 g, suivi du miel M5 de Tighremt (368,12 mg EAG/100 g). Ces deux miels pourraient potentiellement présenter les meilleures activités bioactives, notamment antibactériennes, en raison de leurs concentrations élevées en composés phénoliques. Les miels M2 de Toudja (176,38 mg EAG/100 g) et M4 de Tichy (170,98 mg EAG/100 g) montrent des niveaux modérés de composés phénoliques, tandis que les miels M1 (151,33 mg EAG/100 g), M6 (134,64 mg EAG/100 g) et M3 (116,72 mg EAG/100 g) affichent les teneurs les plus faibles.

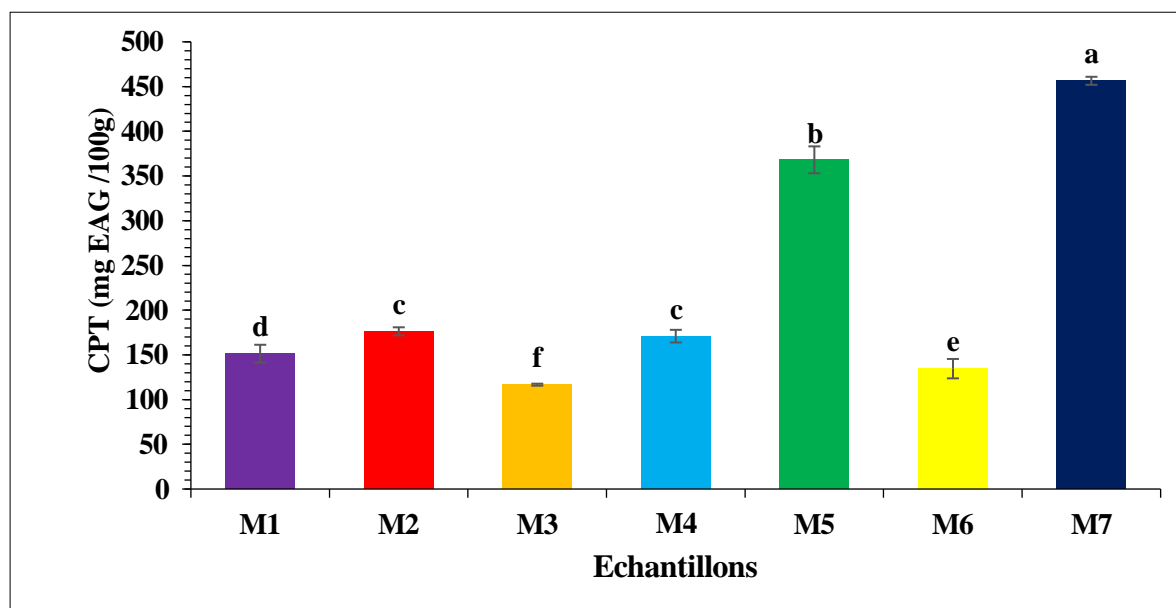


Figure 16 : Teneurs en composés phénoliques des miels analysés.

Le test ANOVA révèle un groupe homogène (M2, M4) qui ne montre pas de différences significatives, les autres miels sont statistiquement différents dans leurs teneurs en composés phénoliques ($p < 0,05$).

Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux de **Meda *et al.* (2005)**, qui ont trouvé des teneurs en polyphénols variant entre 32,59 et 114,75 mg EAG/100 g, ainsi qu'à ceux rapportés par **Scherzad *et al.* (2020)** pour les miels algériens, dont les teneurs variaient entre 51,90 et 67,03 mg EAG/100 g.

Les miels contiennent un grand nombre de composés phénoliques, leur nature et leur quantité peut s'expliquer par la diversité de l'origine botanique (**Amiot *et al.*, 1989**).

2.2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats des teneurs en flavonoïdes sont représentés dans la figure 16. Les miels M5 et M7 de couleur ambre foncé contiennent la quantité la plus importante en flavonoïdes avec des concentrations de 128,62 et 207,94 mg EQ/100 g, respectivement, tandis que le miel M6 de couleur blanc est le moins riche en ces composés avec une valeur de 66,04 mg EQ/100 g. Ces résultats sont en accord avec des recherches précédentes qui ont montré que les miels les plus foncés renferment des quantités plus élevées de flavonoïdes par rapport au miels plus clairs (Otmani *et al.*, 2021).

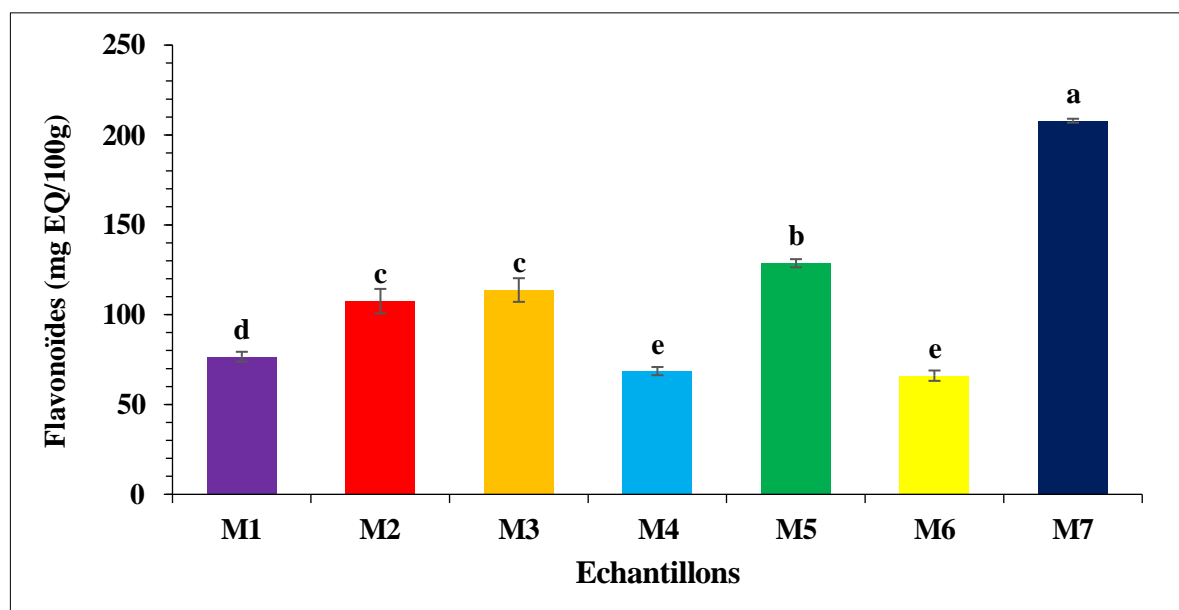


Figure 17 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

L'analyse de la variance des concentrations en flavonoïdes montre la présence de deux groupes statistiquement homogènes et les autres miels sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats de l'analyse des teneurs en flavonoïdes dans cette étude sont plus élevés que ceux rapportés par Bouyahya *et al.* (2017), qui ont trouvé des teneurs variantes entre 19,64 et 43,24 mg EQ/g, ainsi que ceux de Meda *et al.* (2005), dont les résultats variaient de 0,17 à 8,35 mg EQ/100 g d'extrait.

La variation des teneurs en flavonoïdes du miel dépend de la source florale, de la région, de la saison et du site de récolte (Bakchiche *et al.*, 2018).

3. Activités antibactériennes

3.1. Test de sensibilité

Les résultats du test de sensibilité des sept extraits phénoliques provenant de différents miels, ainsi que ceux d'un antibiotique de référence, ont été examinés sur deux types de bactéries : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Ces résultats sont présentés dans la figure ci-dessous.

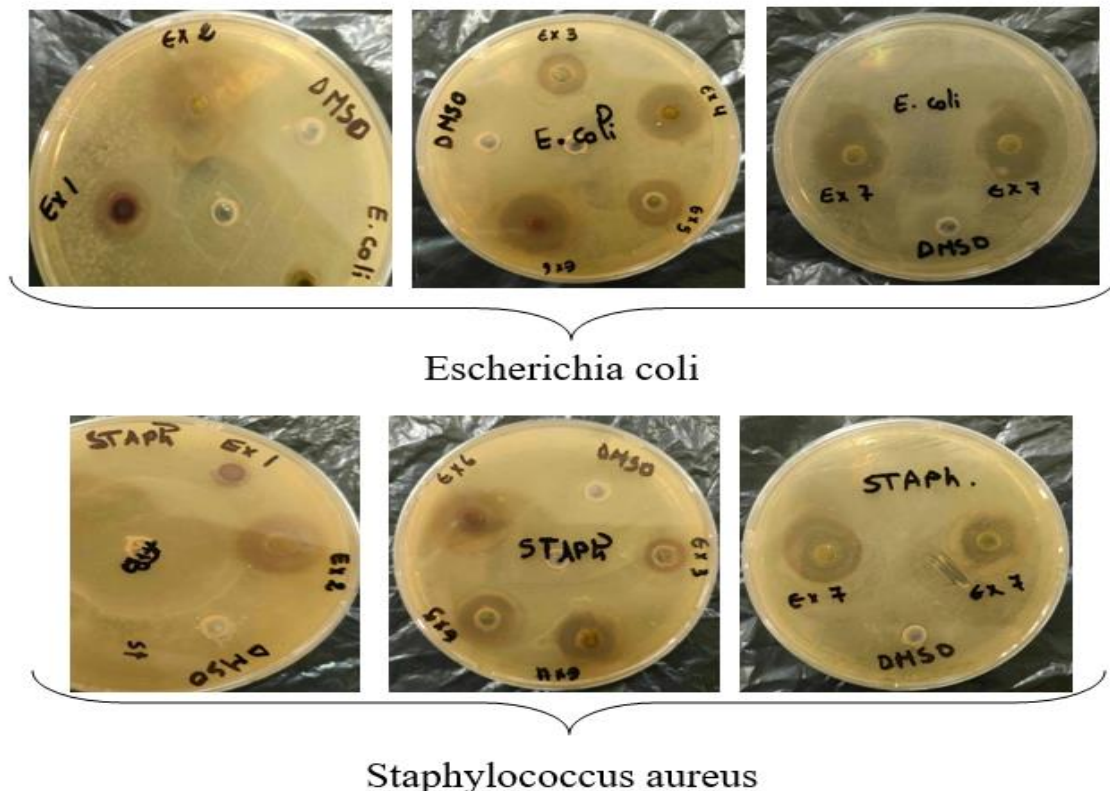


Figure 18 : Effet antibactérien des extraits phénoliques des miels sur les deux souches bactériennes.

Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 23 mm pour *Escherichia coli* et entre 10 et 21 mm pour *Staphylococcus aureus*, indiquant ainsi une activité d'inhibition efficace contre les deux souches bactériennes.

L'analyse antibactérienne révèle une sensibilité extrême d'*E. coli* ATCC 25922 à l'égard des extraits 2, 6 et 7, avec des diamètres d'inhibition dépassant 20 mm, une sensibilité très élevée aux extraits 4 et 5, et une sensibilité moindre aux autres échantillons phénoliques (Ext 3 et Ext 1). L'extrait 2 présente le plus grand diamètre d'inhibition mesuré (23,25 mm), tandis que le plus petit diamètre est observé pour l'extrait 3 (12,125 mm). La souche bactérienne *S. aureus* ATCC 6538 est extrêmement sensible aux extraits 7 et 2, très sensible aux extraits 6, 4, 5 et sensible aux Ext 1, Ext 3.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé est enregistré par les extraits phénoliques 7 (DZI=21,5 mm) et 2 (DZI=21 mm). Cependant, l'inhibition la plus faible a été enregistrée par Ext 1 (DZI=10 mm) et Ext 3 (DZI=12 mm).

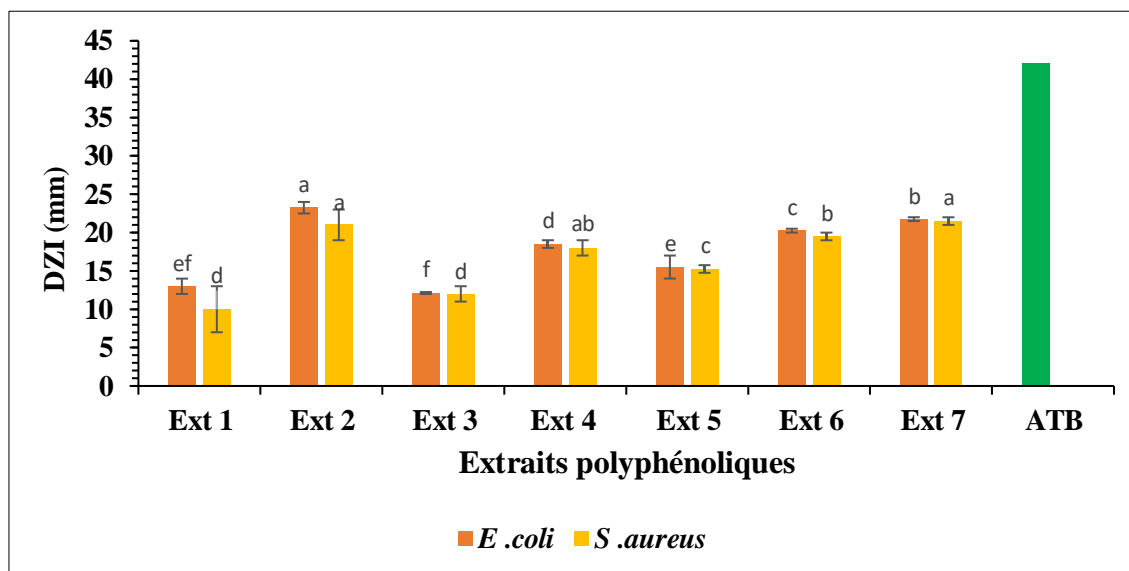


Figure 19 : Diamètres des zones d'inhibition des extraits phénoliques des miels.

Les diamètres des zones d'inhibition (DZI) mesurés montrent que leur activité antibactérienne est largement inférieure à celle de l'antibiotique de référence, la gentamicine, qui présente un diamètre de 42 mm.

Les résultats obtenus à partir des extraits phénoliques des miels montrent que les extraits 2 et 7 ont un effet inhibiteur pertinent vis-à-vis des deux souches bactériennes, *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 6538. L'extrait 7 se distingue des autres extraits phénoliques par sa concentration élevée en composés phénoliques et flavonoïdes, ainsi que par son activité antibactérienne remarquable. Cependant, l'extrait 2, malgré une teneur modérée en polyphénols, démontre une puissance inhibitrice plus prononcée.

3.2. CMI

Les résultats de test de CMI des sept extraits phénoliques sur les deux souches bactériennes *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 6538 sont rapportés dans le tableau suivant.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus élevée contre *E. coli* ATCC 25922 est observée dans l'extrait phénolique du miel provenant de la région d'Adkar correspondant au miel 3, avec une valeur de 0,14 mg/ml. En revanche, cette souche a manifesté une résistance significative aux autres extraits phénoliques testés.

Tableau IV : Résultats des CMI des extraits phénoliques contre *E. coli* et *S. aureus*.

EXTRAITS PHENOLIQUES	<i>E. COLI</i> CMI (MG/ML)	<i>S. AUREUS</i> CMI (MG/ML)
EXT 1	-	< 0,137
EXT 2	-	< 0,137
EXT 3	< 0,137	< 0,137
EXT 4	-	17.5
EXT 5	-	-
EXT 6	-	-
EXT 7	-	-
- RESISTANTE (PAS D'EFFET)		

Les résultats des CMI obtenues contre *S. aureus* ATCC 6538 varient de 0,14 à 17,5 mg/ml. Les extraits phénoliques des miels 1, 2 et 3 des régions d'Akfadou, Toudja et Adkar respectivement ont présenté les CMI les plus faibles, tandis que l'extrait polyphénolique du miel 4 de Tichy a enregistré la CMI la plus élevée à 17,5 mg/ml. En revanche, la croissance de *S. aureus* ATCC 6538 persiste dans les extraits phénoliques des miels 5, 6 et 7 des régions de Tighremt, Naàma et Souq el Tanin respectivement, suggérant probablement l'absence d'inhibition de la bactérie.

Une meilleure activité est observée vis-à-vis les bactéries Gram positive par rapport aux bactéries Gram négatives.

La teneur en composés phénoliques est partiellement responsable de l'activité antibactérienne du miel, cette dernière peut être due aux effets synergiques de plusieurs composés phénoliques (Almasaudi, 2021).

Pour le test de sensibilité et les CMI, des zones d'inhibition ont été observées pour les extraits 2, 5, 6 et 7 dans le milieu semi-solide, tandis qu'une résistance des bactéries *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 6538 a été constatée dans la microplaque. Cela peut être expliqué par le fait que les milieux semi-solides sont souvent utilisés dans les tests de sensibilité pour permettre une meilleure diffusion des agents antimicrobiens à travers le milieu, favorisant ainsi la détection de l'activité antibactérienne. En revanche, dans les tests de CMI en milieu liquide, les bactéries sont en suspension dans un milieu bouillant, ce qui peut affecter la manière dont elles interagissent avec l'extrait phénolique (Panda & Rath, 2020).

Les différences de texture et de viscosité entre les milieux semi-solides et liquides peuvent également influencer la manière dont l'extrait phénolique interagit avec les bactéries. Par exemple, dans un milieu semi-solide, l'extrait phénolique peut diffuser plus efficacement à travers le milieu et atteindre les bactéries, ce qui pourrait conduire à une activité antibactérienne détectable. En revanche, dans un milieu liquide, la diffusion peut être moins efficace, ce qui pourrait expliquer pourquoi aucune activité antibactérienne n'a été observée dans les tests de CMI (**Zhang *et al.*, 2018**).

4. Mécanisme d'action des polyphénols

De nombreux composés phénoliques peuvent avoir une activité antibactérienne notable. Étant donné que de nombreux extraits de plantes sont riches en composés phénoliques, cela présente un intérêt particulier pour le développement d'alternatives naturelles aux médicaments. Les mécanismes par lesquels les composés phénoliques exercent leurs actions antibactériennes ne sont pas encore complètement compris, mais on sait qu'ils agissent à plusieurs niveaux cellulaires. Plusieurs auteurs ont expliqué cette activité par la modification de la perméabilité des membranes cellulaires (**Bouarab-Chibane *et al.*, 2019**).

Les groupes OH des composés phénoliques interagissent avec la membrane cellulaire des bactéries par liaison hydrogène ce qui entraîne généralement soit la perturbation de la structure de la membrane qui induit une perte de contenu cellulaire, ou la délocalisation des électrons (en raison des doubles liaisons du noyau aromatique), ce qui génère une dépolarisation des bactéries (qui agissent comme des échangeurs de protons) et affecte ainsi la force motrice des protons, réduisant le gradient de pH à travers la membrane ce qui provoque la mort cellulaire (**Bouarab-Chibane *et al.*, 2019**).

D'autre part, la présence de groupes alkyle dans le noyau aromatique génère des radicaux phénoxyles qui renforcent l'efficacité antibactérienne des substances phénoliques en modifiant leur solubilité pour favoriser l'interaction avec les membranes bactérienne. Donc, l'augmentation du caractère lipophile des composés phénoliques renforce leur action antimicrobienne. Ceci peut induire des dommages irréversibles à la membrane cytoplasmique et une coagulation du contenu cellulaire qui peut même conduire à l'inhibition des enzymes intracellulaires (**Bouarab-Chibane *et al.*, 2019**).

Il existe au moins trois mécanismes sur lesquels plusieurs auteurs s'accordent (**Chibane et al., 2019**) ;

1) modification de la perméabilité des membranes cellulaires, formation de granules cytoplasmiques et rupture de la membrane cytoplasmique.

2) modifications de diverses fonctions intracellulaires induites par la liaison hydrogène des composés phénoliques avec les enzymes par l'intermédiaire de leurs groupes OH

3) la modification de la morphologie fongique (rigidité et perte d'intégrité de la paroi cellulaire) induite par différentes interactions avec membranes cellulaires.

Tandis qu'il a été démontré que les acides phénoliques perturbent l'intégrité des membranes, car ils provoquent une fuite conséquente de constituants intracellulaires essentiels. Les flavonoïdes peuvent se lier à des protéines solubles situées à l'extérieur des cellules et avec les parois cellulaires des bactéries, favorisant ainsi la formation de complexes. Les flavonoïdes peuvent également agir en inhibant le métabolisme énergétique et la synthèse de l'ADN, affectant ainsi la synthèse des protéines et de l'ARN. Dans le cas des bactéries Gram-positives, la modification du pH intracellulaire ainsi qu'une interférence avec le système de production d'énergie (ATP) ont été rapportées (**Bouarab-Chibane et al., 2019**).

5. Corrélations

La matrice de corrélation (tableau V) montre un lien très hautement significatif entre le Brix et l'humidité. Le miel est principalement composé de glucides, dont la teneur est exprimée par le degré Brix (**Conti et al., 2014**).

Les teneurs en composés bioactifs présentent des corrélations hautement significatives avec la couleur. Des résultats similaires concernant la relation entre les composés phénoliques totaux et la couleur sont rapportés par **Bertoncelj et al. (2007)** pour les miels italiens ($r=0,84$) et par **Moniruzzaman et al. (2013)** pour les miels malaisiens ($r=0,93$). **Otmani et al. (2021)** ont également observé une corrélation très hautement significative entre la concentration en flavonoïdes et la couleur des miels algériens ($r=0,93$). De manière générale, la teneur en composés phénoliques est plus faible dans les miels clairs que dans les miels foncés (**Beretta et al., 2005**).

Cette observation est confirmée par les résultats de la présente étude.

Le tableau V montre une corrélation très hautement significative entre les composés phénoliques et les flavonoïdes ($r=0,86$). **Otmani *et al.* (2021)** et **Alvarez-Suarez *et al.* (2010)** ont rapporté des coefficients de corrélation similaires avec des valeurs respectives de 0,80 et 0,83.

Les résultats des corrélations révèlent des corrélations très hautement significatives entre les activités antibactériennes contre *E. coli* et *S. aureus*. Cela suggère que les miels étudiés ont le même effet, qu'il s'agisse de bactéries Gram positives ou Gram négatives.

6. Analyses en composantes principales (ACP)

Une analyse en composantes principales (ACP) est réalisée pour illustrer les différences et les similitudes entre les miels étudiés en termes de paramètres physico-chimiques, de concentrations de composés bioactifs et d'activité antibactérienne. Le tracé des valeurs propres montre un point d'inflexion après la deuxième composante principale, ce qui montre que seuls CP1 et CP2 (représentant 65,14 % de la variation totale) suffisent à expliquer pleinement les résultats obtenus.

La figure 20 (A et B) indique que CP1 explique 45,49 % des données et représente, dans la partie négative du graphique, l'intensité de couleur ($r= -0,95$), les composés phénoliques ($r= -0,92$), l'humidité ($r= -0,86$), les protéines ($r= -0,86$), les flavonoïdes ($r= -0,84$), la conductivité électrique ($r= -0,64$), l'HMF ($r= -0,37$) ainsi que les diamètres des zones d'inhibition de *E. coli* ($r= -0,10$) et de *S. aureus* ($r= -0,25$). En revanche, le brix, le pH, l'acidité et la proline apparaissent dans la partie positive.

CP2 explique 19,65 % des données et représente, dans la partie positive, les diamètres des zones d'inhibition de *E. coli* ($r= 0,70$), la proline ($r= 0,66$), l'acidité libre ($r= 0,59$), les diamètres des zones d'inhibition de *S. aureus* ($r= 0,56$), la conductivité électrique ($r= 0,54$), le brix ($r= 0,45$), les flavonoïdes ($r= 0,41$), le pH ($r= 0,40$), l'acidité totale ($r= 0,38$), les protéines ($r= 0,21$), les composés phénoliques ($r= 0,19$), l'HMF ($r= 0,14$) et l'intensité de couleur ($r= 0,01$). Cependant, l'humidité ($r= -0,47$) et l'acidité combinée ($r= -0,28$) sont représentées dans la partie négative.

Tableau V : Corrélations entre les paramètres physico-chimiques, composés bioactifs et activités antibactériennes.

	Brix	Hum	pH	AL	AC	AT	CE	Couleur	HMF	Prot	Prol	CPT	Flav	DZIEC	DZISA
Brix	1														
Hum	-0,999	1													
pH	0,612	-0,618	1												
AL	0,351	-0,368	0,324	1											
AC	0,453	-0,426	0,120	-0,556	1										
AT	0,613	-0,620	0,432	0,930	0,231	1									
CE	-0,243	0,225	-0,144	0,493	-0,824	-0,150	1								
Couleur	-0,807	0,794	-0,454	0,104	-0,827	-0,609	0,757	1							
HMF	-0,216	0,227	0,160	0,100	-0,269	-0,123	0,357	0,367	1						
Prot	-0,683	0,655	-0,501	-0,040	-0,646	-0,616	0,596	0,788	-0,069	1					
Prol	0,491	-0,519	0,279	0,096	-0,019	0,099	0,246	-0,208	-0,414	0,192	1				
CPT	-0,743	0,734	-0,341	0,035	-0,660	-0,542	0,613	0,852	0,576	0,722	-0,265	1			
Flav	-0,489	0,479	-0,305	0,134	-0,680	-0,444	0,868	0,823	0,571	0,667	0,044	0,856	1		
DZIEC	0,148	-0,167	0,134	-0,006	0,021	0,014	0,068	-0,108	0,053	0,278	0,415	0,294	0,253	1	
DZISA	-0,024	0,006	-0,065	-0,200	0,004	-0,227	0,073	0,012	0,070	0,378	0,383	0,381	0,337	0,931	1

	Non significative		Significative (p<0,05)		Hautement significative (p<0,01)		Très hautement significative (p<0,001)
--	-------------------	--	------------------------	--	----------------------------------	--	--

Hum : humidité ; **AL** : acidité libre ; **AC** : acidité combinée ; **AT** : acidité totale ; **CE** : conductivité électrique ; **HMF** : hydroxyméthylfurfural ; **Prot** : protéines ; **Prol** : proline ; **CPT** : composés phénoliques totaux ; **Flav** : flavonoïdes ; **DZIEC** : diamètres de zone d'inhibition d'*E. coli* ; **DZISA** : diamètres de zone d'inhibition de *S. aureus*.

La discrimination par CP1 et CP2 révèle quatre groupes distincts. Le premier groupe (M1, M3, M4 et M6), situé en bas à droite du graphique, se distingue par une acidité combinée élevée, mais présente de faibles valeurs en composés bioactifs et activités antibactériennes. Le deuxième groupe (M2), en haut à droite du graphique, se caractérise par des valeurs élevées en brix, proline et acidité totale, mais affiche des valeurs moyennes en composés bioactifs, conductivité électrique, intensité de couleur et protéines, ainsi que de faibles valeurs en humidité et HMF. Le troisième groupe (M5), situé en bas à gauche du graphique, montre les niveaux les plus élevés d'humidité et de concentration en protéines, avec des valeurs moyennes pour le pH, la conductivité électrique, l'intensité de couleur, l'HMF, la proline et les composés bioactifs, mais de faibles valeurs pour le brix et l'acidité.

Enfin, le quatrième groupe (M7), en haut à gauche du graphique, se distingue par des teneurs élevées en composés bioactifs (composés phénoliques et flavonoïdes) et les meilleures activités antibactériennes, ainsi que par des valeurs élevées en conductivité électrique, intensité de couleur et HMF.

Les résultats de l'ACP démontrent que les miels M7 de Souk el tenine et M5 de Tighremt sont les meilleures en termes de concentrations en composés phénoliques et activités antibactérienne suivi par le miel M2 de Toudja. Par contre les miels M1, M3, M4 et M6 enregistrent les taux les plus faibles en composés bioactifs et la faible activité antibactérienne.

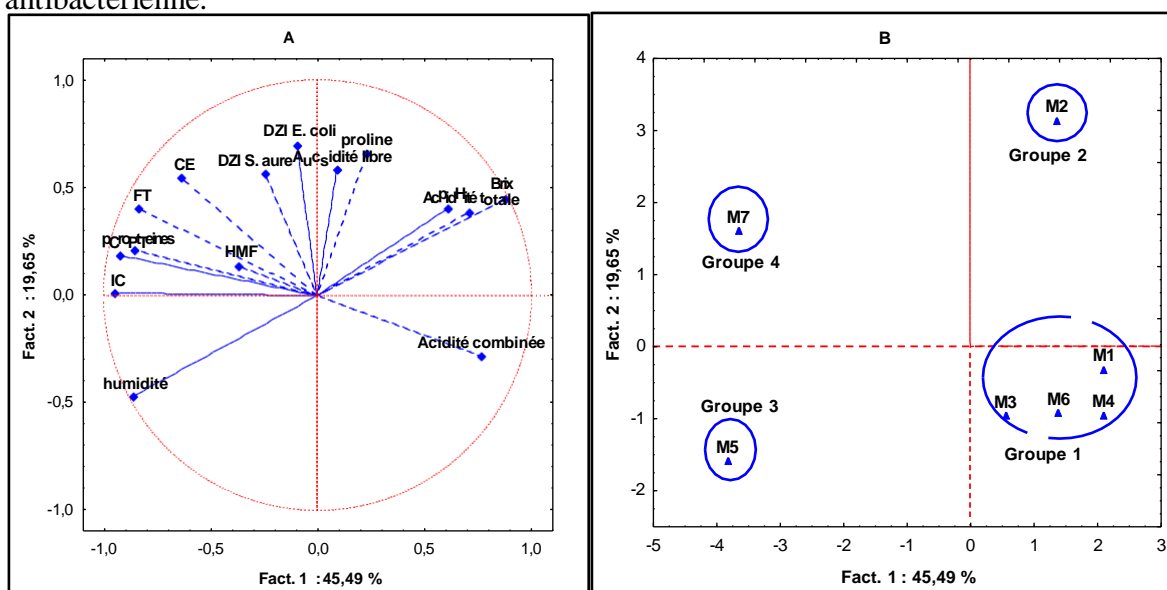


Figure 20 : Graphique de l'analyse en composante principale des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités antibactériennes des miels analysés. (A) : projection des variables, (B) : projection des individus.

Conclusion
Et
perspectives

Cette étude est élaborée afin d'évaluer les critères d'authenticité et de qualité de chaque miel, cela est déterminé à partir divers paramètres physicochimiques ainsi que l'activité antibactérienne des extraits polyphénoliques issu de chaque échantillon de miel, de différentes régions de Bejaia sur deux souches bactériennes pathogènes.

L'analyse de Brix, l'humidité, pH, acidité (libre, combinée et totale), CE, IC, HMF, les teneurs proline et en protéines sont majoritairement en accord avec les normes établies par le codex Alimentarius. Le Brix et l'humidité des miels varient de 78,08 à 84,28 % et 13,8 à 20,3 %, respectivement. Le pH a révélé que les miels sont acides avec des valeurs entre 4,1 et 4,8. L'acidité libre, combinée et totale des échantillons analysés oscillent respectivement de 9,32 à 89 meq/Kg, de 38,8 à 98,8 meq/Kg et de 71 et 148 meq/Kg.

La conductivité électrique est comprise entre 0,4 à 1,67 mS/cm. La couleur varie du blanc à l'ambre foncé. L'HMF obtenue est entre 15,42 et 109,98 mg/kg. Les teneurs en protéines et en proline oscillent de 29,41 à 152,49 mg EBSA/100g et de 482,63 à 956,67 mg/Kg, respectivement. Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des miels sont variables de 116,72 à 456,51 mg EAG/100 g et de 66,04 à 207,94 mg EQ/100mg, respectivement. Les paramètres physicochimiques sont variables d'un miel à un autre et cela selon son origine botanique, les conditions de récolte et de stockage ainsi que des facteurs saisonniers et environnementaux.

Les 7 extraits polyphénoliques montrent un pouvoir antibactérien contre les deux souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 avec des DZI qui varient de 12 à 23 mm et de 10 et 21 mm, respectivement. Les résultats de la CMI révèlent une valeur de 0,14 mg/ml pour *E.coli* 25922 et des valeurs oscillent de 0,14 à 17,5 mg/ml pour *S.aureus* 6538. Ces résultats sont influençables par la texture et la viscosité des milieux semi-solides et liquides ainsi que la manière dont les extraits polyphénoliques se diffusent à travers pour atteindre les bactéries (dans les milieux semi- solides la diffusion est plus efficace que les milieux liquides).

L'analyse ANOVA montre une corrélation très hautement significative entre les composés phénoliques et les flavonoïdes ainsi qu'entre les activités antibactériennes contre *E. coli* et *S. aureus* avec un effet similaire entre les bactéries Gram-positive et Gram-négative.

Les résultats de l'ACP démontrent que les miels de Souk el tenine (M7) et de Tighremt (M5) possèdent les teneurs les plus élevées en composés phénoliques avec une meilleure activité antibactérienne suivi par le miel de Toudja (M2).

Cependant, les miels M1, M3, M4 et M6 montrent des concentrations les plus faibles en composés bioactifs ainsi qu'une faible activité antibactérienne.

Ce travail peut être développé par des études complémentaires visant à ;

- Faire des analyses d'HPLC pour identifier les polyphénols du miel de Bejaia.
- Comprendre l'effet des polyphénols du miel sur les bactéries pathogènes pour l'homme.
- Investiguer sur un large spectre de bactéries pathogènes et/ou résistantes.
- Évaluer d'autres activités antimicrobiennes : antifongique et antivirale.

Références Bibliographiques

- Achouri, M. Y., Selka, M. A., & Yakoub, M. N. S. (2021).** Méthodes physiques utilisées dans la caractérisation et le contrôle de qualité des miels : Revue générale. *Algerian journal of pharmacy*, 04 (01), 8-14.
- Almasaudi, S. (2021).** The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2188-2196. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009).** Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., & Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8- 9), 2490-2499. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.021>
- Al-Waili, N. S., Al-Waili, F. S., Akmal, M., Ali, A., Salom, K. Y., & Ghamdi, A. A. A. (2014).** Effects of natural honey on polymicrobial culture of various human pathogens. *Archives of Medical Science*, 2, 246-250. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.28603>
- Amiot, M. J., Aubert, S., Gonnet, M., & Tacchini, M. (1989).** Les composés phénoliques des miels : Étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20(2), 115-125. <https://doi.org/10.1051/apido:19890202>
- Amri, A., Ladjama, A., & Tahar, A. (2008).** Etude de quelques miels produits à l'est Algérien: aspect physico-chimique et biochimique. *Synthese: Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, 57-63.
- Assie. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat. Université de Limoges, 22- 67.
- Ayubi, A. N. (2018).** Analysis of Total Reducing Sugar Content, Acidity Value, and Hydroxymethylfurfural (HMF) Content of Various Honey Types. *Indonesian Journal of Chemistry and Environment*, 1(1), 21-28. <https://doi.org/10.21831/ijce.v1i1.20786>

- Azeredo, L. da C., Azeredo, M. A. A., de Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80(2), 249–254.
- Belhaj, O., Oumato, J., & Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 3(3), 71-75.
- Bogdanov, S. (1997).** Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey. *LWT - Food Science and Technology*, 30(7), 748-753. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0259>
- 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, Tsigouri, A., KerKvliet, J., Ortiz, A. & Ivanov, T. (1997).** Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie*. (extra issue), 1-59
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano, O.L. (2004).** Physico- chemical methods for characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, 35 (1), 4–17.
- Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013).** Le miel : Origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 18-21. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.10.004>
- Bonté, F., Rossant, A., Archambault, J. C., & Desmoulière, A. (2011).** Miels et plantes : De la thérapeutique à la cosmétique. *La Phytothérapie Européenne*, 63, 22-28.
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., & Oulahal, N. (2019).** Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457-1474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P., & Bordes, C. (2019).** Antibacterial Properties of Polyphenols : Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. *Frontiers in Microbiology*, 10, 829. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00829>

- Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2017).** Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1122-3>
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185–191.
- Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822–828.
- Bruneau, E., Barbier, E., Gallez, L. M., Declerck, C. G. (2000).** La roue des arômes des miels. *Abeilles*, 77(4), 16-23.
- Campone, L., Piccinelli, A. L., Pagano, I., Carabetta, S., Di Sanzo, R., Russo, M., & Rastrelli, L. (2014).** Determination of phenolic compounds in honey using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1334, 9-15.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.081>
- Cienciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparri, M., Reboledo-Rodríguez, P., Manna, P., Zhang, J., Bravo Lamas, L., Martínez Flórez, S., Agudo Toyos, P., Quiles, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2018a).** Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules*, 23(9), 2322.
<https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Codex alimentarius. (2022).** Commission Standards, Codex Standards For Honey, (1981/ revised1987/revised 2022), FAO– ROME, 2022, 1-7
- Conti, M.E., Finoia, M.G., Fontana, L. Mele, G., Botrè, F. & Iavicoli, I. (2014).** Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(44), 2-10.

- Couquet, Y., Desmoulière, A., & Rigal, M.-L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 22-25. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.10.005>
- Critchfield, J. W., Butera, S. T., & Folks, T. M. (1996).** Inhibition of HIV Activation in Latently Infected Cells by Flavonoid Compounds. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 12(1), 39-46. <https://doi.org/10.1089/aid.1996.12.39>
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016).** Honey : Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- David LECHAUX. (2013).** Le miel et la cicatrisation des plaies.
- Delphine, D. N., & Joseph, T. (2015).** Palynological and Physicochemical Characterization of Honey in the Sudano-Guinean Zone of Cameroon. *Food and Nutrition Sciences*, 06(15), 1339-1350. <https://doi.org/10.4236/fns.2015.615140>
- Diez, M.J., Andres, C., & Terrab A. (2004).** Parameters and pollen analysis of Moroccan honeydew honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 167–176.
- Dufay, C. (2022).** Étude bibliographique de l'utilisation thérapeutique du miel pur à destination des équidés en pratique vétérinaire en France. Thèse de doctorat.
- Eshete, Y., & Eshete, T. (2019).** A Review on the Effect of Processing Temperature and Time duration on Commercial Honey Quality. *Madridge Journal of Food Technology*, 4(1), 158-162. <https://doi.org/10.18689/mjft-1000124>
- Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., & Czyzowska, A. (2021).** Plant extracts rich in polyphenols : Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(1), 149-178. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1722060>
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008).** Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.062>

- Fechner, D. C., Moresi, A. L., Ruiz Díaz, J. D., Pellerano, R. G., & Vazquez, F. A. (2016).** Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. *Food Bioscience*, 15, 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.002>
- Ferrerres, F., Tomás-Barberán, F.A., Soler, C., García-Viguera, C., Ortiz, A., & Tomás-Lorente, F. (1994).** A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie*, 25, 21–30.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1220-1234. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.03.002>
- Jaganathan, S. K., & Mandal, M. (2009).** Antiproliferative Effects of Honey and of Its Polyphenols : A Review. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2009/830616>
- Habellah, R.M., Karoune, S., Kechebar, M. S. A., & Bounab, H. (2016).** Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'acacia ehrenbergiana de la région de Tindouf. 13. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)* 13(1), 27-34.
- Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U. D., & Ibrahim, W. H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.048>
- HOMRANI, M. (2020).** Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. *Thèse de doctorat*. Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis
- Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 177. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-177>

- Ismail, N. I., Kadir, M. R. A., Zulkifli, R. M., & Mohamed, M. (2021).** Antioxidant Profiles Between Malaysian Apis And Trigona Honeys. *Journal malaisien des sciences analytiques* , 25 (2), 243-256.
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014a).** Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, 548-557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.105>
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014b).** Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, 548-557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.105>
- Kaškonienė, V., Maruška, A., Kornýšova, O., Charczun, N., Ligor, M., & Buszewski, B. (2009).** Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminé Technologija*, 3(52), 74-80.
- Koudegnan, C., Etse, K., Coulibaly, S., Quashie, M.-L., Radji, P., & Kokou, K. (2021).** Caractérisations physico-chimiques des miels de la zone Guinéenne du Togo. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9(2).
- Koula, D., Souhila, T., Asma, D., & Zahira, H. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37-49.
- Le conte, Y. (2002).** La vie sociale de la colonie. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, p. 54-83.
- Liu, A.-L., Liu, B., Qin, H.-L., Lee, S., Wang, Y.-T., & Du, G.-H. (2008).** Anti-Influenza Virus Activities of Flavonoids from the Medicinal Plant *Elsholtzia rugulosa*. *Planta Medica*, 74(08), 847-851. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1074558>
- Lobreau-Callen, D., Clement, M.C. & Marmion, V. (2000).** Les miels in techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire , *N F, 7000*, 1-20.1-20.

- Lyu, S.-Y., Rhim, J.-Y., & Park, W.-B. (2005).** Antiherpetic activities of flavonoids against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in vitro. *Archives of Pharmacal Research*, 28(11), 1293-1301. <https://doi.org/10.1007/BF02978215>
- Makhloufi, C., Ait Abderrahim, L., & Taibi, K. (2021).** Characterization of Some Algerian Honeys Belonging to Different Botanical Origins Based on their Physicochemical Properties. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 45(1), 189-199. <https://doi.org/10.1007/s40995-020-01047-3>
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Mohammed, H. (2022).** Anti-inflammatory properties of raw honey and its clinical applications in daily practice. *Qatar Medical Journal*, 2022(2). <https://doi.org/10.5339/qmj.2022.fqac.27>
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S., Khalil, M., & Gan, S. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 138.
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016).** Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.033>
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., Bey, M., Louaileche, H., & Tamendjari, A. (2018).** Effect of storage on hydroxymethylfurfural (HMF) and color of some Algerian honey. *International Food Research Journal*, 25, 1044-1050.
- Mureşan, C. I., Cornea-Cipcigan, M., Suharoschi, R., Erler, S., & Mărgăoan, R. (2022).** Honey botanical origin and honey-specific protein pattern : Characterization of some European honeys. *LWT*, 154, 112883. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112883>

Naithani, V., Nair, S., & Kakkar, P. (2006). Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39(2), 176–181.

Navaei-Alipour, N., Mastali, M., Ferns, G. A., Saberi-Karimian, M., & Ghayour-Mobarhan, M. (2021). The effects of honey on pro- and anti-inflammatory cytokines : A narrative review. *Phytotherapy Research*, 35(7), 3690-3701. <https://doi.org/10.1002/ptr.7066>

Otmani, A. (2022). Valeurs nutritionnelles, effets cicatrisants et activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires de quelques miels Algériens. Thèse de doctorat. Université de Béjaia-Abderrahmane Mira.

Otmani, A., Amessis-Ouchemoukh, N., Birinci, C., Yahiaoui, S., Kolayli, S., Rodríguez-Flores, M. S., Escuredo, O., Seijo, M. C., & Ouchemoukh, S. (2021). Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys. *Food Bioscience*, 42, 101070. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101070>

Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Gómez-Romero, M., Aboud, F., Giuseppe, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017). Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 460–469.

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

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52-58. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.08.007>

Panda, S., & Rath, C. C. (s. d.). *Phytochemicals as Natural Antimicrobials : Prospects and Challenges*. 1. **Pauliuc, D., Dranca, F., & Oroian, M. (2020).** Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Individual Phenolics and Physicochemical Parameters Suitability for Romanian Honey Authentication. *Foods*, 9(3), 306. <https://doi.org/10.3390/foods9030306>

- Pasias, I. N., Kiriakou, I. K., & Proestos, C. (2017).** HMF and diastase activity in honeys : A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425-431.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.084>
- Pita-Calvo, C., & Vázquez, M. (2017).** Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 79–87.
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684
- Pourhajibagher, M., Hashemi, F. B., Pourakbari, B., Aziemzadeh, M., & Bahador, A. (2016).** Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter baumannii* to Imipenem in Iran : A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Open Microbiology Journal*, 10(1), 32-42. <https://doi.org/10.2174/1874285801610010032>
- Pyrzyska, K., & Biesaga, M. (2009).** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893-902.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.015>
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014).** Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants : The Interplay. *BioMed Research International*, 2014, 1-19. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
- Rodopoulou, M., Tananaki, C., Kanelis, D., Liolios, V., Dimou, M., & Thrasyvoulou, A. (2022).** A chemometric approach for the differentiation of 15 monofloral honeys based on physicochemical parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(1), 139-146. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11340>
- Scherazad, M., Carine, M., Nasser, D., & Safia, B. (2020).** Caractéristiques Méliissopalynologiques Et Contenu Phénolique Du Miel De Ziziphus Lotus D'algerie. *Agrobiologia*, 10(2), 2220-2228.

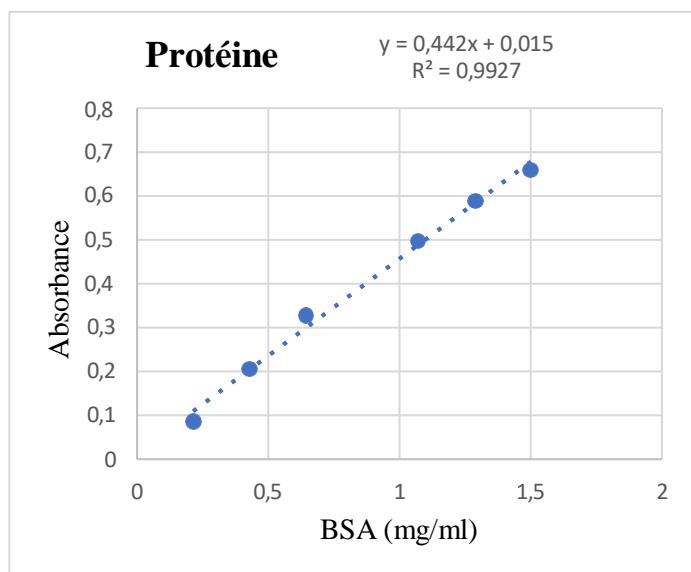
- Schievano, E., Finotello, C., Uddin, J., Mammi, S., & Piana, L. (2016).** Objective Definition of Monofloral and Polyfloral honeys Based on NMR Metabolomic Profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(18), 3645-3652. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00619>
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992).** Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32 (1), 67-103. <https://doi.org/10.1080/10408399209527581>
- Sharif, A., Iftikhar, M., Hussain, A., Rehman, M. U., Zaidi, S. F., Akram, M., Daniyal, M., & Usmanghani, K. (2018).** Evaluation of Physio-chemical properties of honey collected from local markets of Lahore, Pakistan. *J. Med. Biol. Sci.*, 2(1), 1-6
- Silva, B., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Fett, R., Dalmarco, E. M., Caon, T., & Costa, A. C. O. (2021).** In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids : A review. *Food Research International*, 141, 110086. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.11.0086>
- Singh, N., & Bath, P. K. (1997).** Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1-2), 129-133. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00231-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00231-2)
- Smetanska, I., Alharthi, S. S., & Selim, K. A. (2021).** Physicochemical, antioxidant capacity and color analysis of six honeys from different origin. *Journal of King Saud University-Science*, 33(5), 101447.

Annexes

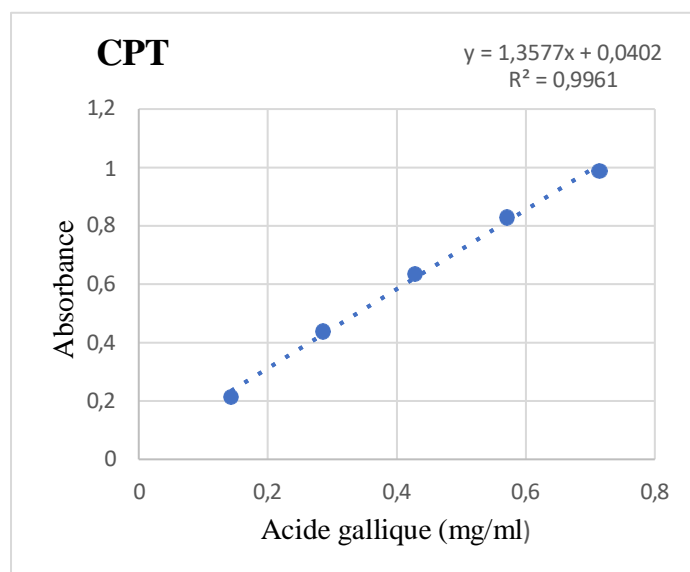
Annexe 1 : Table de CHATAWAY.

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4885	19.2
1.5038	13.2	1.4880	19.4
1.5033	13.4	1.4875	19.6
1.5028	13.6	1.4870	19.8
1.5023	13.8	1.4865	20.0
1.5018	14.0	1.4860	20.2
1.5012	14.2	1.4855	20.4
1.5007	14.4	1.4850	20.6
1.5002	14.6	1.4845	20.8
1.4997	14.8	1.4840	21.0
1.4992	15.0	1.4835	21.2
1.4987	15.2	1.4830	21.4
1.4982	15.4	1.4825	21.6
1.4976	15.6	1.4820	21.8
1.4971	15.8	1.4815	22.0
1.4966	16.0	1.4810	22.2
1.4961	16.2	1.4805	22.4
1.4956	16.4	1.4800	22.6
1.4951	16.6	1.4795	22.8
1.4946	16.8	1.4790	23.0
1.4940	17.0	1.4785	23.2
1.4935	17.2	1.4780	23.4
1.4930	17.4	1.4775	23.6
1.4925	17.6	1.4770	23.8
1.4920	17.8	1.4765	23.0
1.4915	18.0	1.4760	24.2
1.4910	18.2	1.4755	24.4
1.4905	18.4	1.4750	24.6
1.4990	18.6	1.4745	24.8
1.4895	18.8	1.4740	25.0
1.4890	19.0		

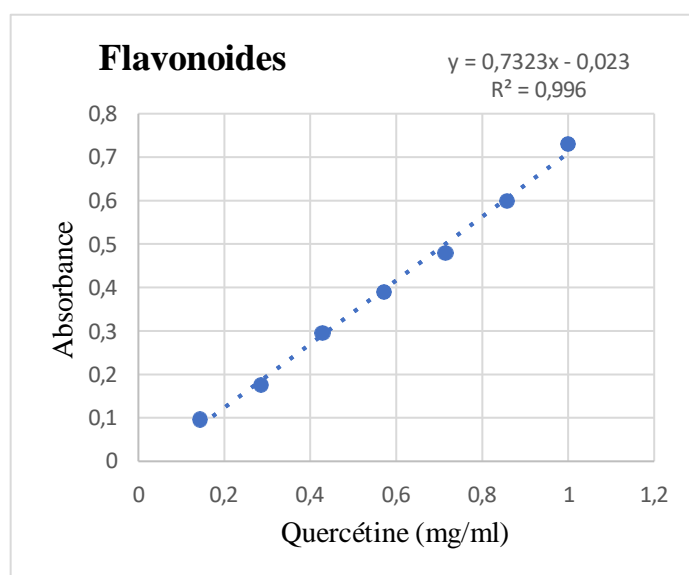
Annexe 2 : Courbes d'étalonnages.



Courbe d'étalonnage des protéines



Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Résumé

Le domaine de l'industrie pharmaceutique se développe de jour en jour, ce qui nous amène à nous interroger sur les effets de ces médicaments sur notre santé. Dans le but de limiter leur utilisation, cette étude a consisté à examiner les propriétés physico-chimiques, la teneur en composés bioactifs, le profil phénolique et les activités biologiques de sept variétés de miel Algérien. Les résultats des analyses ont montré que la plupart des miels répondaient aux normes internationales, bien que quelques exceptions aient été notées. Les teneurs en polyphénols totaux (116,72 à 456,51 mg EAG/100 g de miel) et en flavonoïdes (66,04 à 207,94 mg EQ/100 g de miel) varient considérablement d'un échantillon à l'autre. Les résultats des tests antibactériens ont indiqué que les miels étaient plus efficaces contre les bactéries gram-positives (*S. aureus*) que contre les bactéries gram-négatives (*E. coli*). L'analyse statistique a révélé qu'une couleur plus foncée était en corrélation avec des concentrations plus élevées en flavonoïdes. Enfin, le miel M7 de Souk el tenine et le miel M5 de Tighremt ont été classés premier par l'analyse en composantes principales (ACP) en raison de leur teneur élevée en composés phénoliques et de leur activité antibactérienne, suivis par le miel M2 de Toudja. En revanche, les miels M1, M3, M4 et M6 présentent des teneurs plus faibles en composés bioactifs et une moindre activité antibactérienne.

Mots-clés : Miels, polyphénols, paramètres physico-chimiques, activité antibactérienne

Abstract

The pharmaceutical industry is developing day by day, which leads us to wonder about the effects of these drugs on our health. This study examined the physico-chemical properties, bioactive compound content, phenolic profile and biological activities of seven varieties of Algerian honey. The analytical results showed that most of the honeys met international standards, although a few exceptions were noted. The levels of total polyphenols (116.72 to 456.51 mg GAE/100 g honey) and flavonoids (66.04 to 207.94 mg QE/100 g honey) differed considerably between samples. Antibacterial test results indicated that the honeys were more effective against gram-positive bacteria (*S. aureus*) than gram-negative bacteria (*E. coli*). Further statistical analysis revealed that darker color correlated with higher flavonoid concentrations. M7 honey from Souk el tenine and M5 honey from Tighremt were ranked first by principal component analysis (PCA) for their high phenolic content and antibacterial activity, followed by M2 honey from Toudja. In contrast, honeys M1, M3, M4 and M6 had lower levels of bioactive compounds and less antibacterial activity.

Keywords: Honeys, polyphenols, physicochemical parameters, antibacterial activity

ملخص

إن صناعة الأدوية تتطور يوماً بعد يوم، مما يدفعنا إلى التساؤل عن آثار هذه الأدوية على صحتنا. بهدف الحد من استخدامها، قامت هذه الدراسة بفحص الخصائص الفيزيائية والكيميائية ومحتوى المركبات النشطة بيولوجياً والمظهر الفينولي والأنشطة البيولوجية لسبعة أنواع من العسل الجزائري. وقد أظهرت نتائج التحاليل أن معظم أنواع العسل تفي بالمعايير الدولية، على الرغم من تسجيل بعض الاستثناءات التي سجلت. وتباينت مستويات البوليفينول الكلي (116.72 إلى 456.51 ملغم من مكافئ غازي/ 100 غرام من العسل) والفلافونويدات (66.04 إلى 207.94 ملغم من مكافئ غازي/ 100 غرام من العسل) اختلافاً كبيراً من عينة إلى أخرى. أشارت نتائج الاختبارات المضادة للجراثيم إلى أن العسل كان أكثر فعالية ضد البكتيريا موجبة الجرام (*S. aureus*) من البكتيريا سالبة الجرام (*E. coli*) وكشف التحليل الإحصائي أن اللون الأغمق يرتبط بتركيزات أعلى من الفلافونويد. أخيراً، احتل العسل M7 من سوق التنين والعسل M5 من تيفرمت المرتبة الأولى من خلال تحليل المكونات الرئيسية (PCA) بسبب محتواه العالي من المركبات الفينولية ونشاطه المضاد للبكتيريا، يليه العسل M2 من توجة. من ناحية أخرى، احتوى العسل M1 و M3 و M4 و M6 على مستويات أقل من المركبات النشطة بيولوجياً ونشاط أقل مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: العسل، والبوليفينول، والمعلومات الفيزيائية والكيميائية