

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :

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

MASTER

Thème

Analyse physico-chimiques et pollinique et
effet antibactérien de quelques miels de
Bejaïa

Présenté par :

✕ **KORICHI NAOUEL** ✕ **LATAMENE ADIDI**

Soutenu le : **20 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme ATMANI. D	MCA	Présidente
Mr OUCHEMOUKH. S	MCA	Encadreur
Mme MEHDID. A	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la foi et la sagesse et nous inclinons humblement devant sa bonté, lui qui nous a donné courage et santé pour achever ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement :

Notre promoteur Mr. OUCHEMOUKH S. pour son encadrement de qualité, pour l'assistance qu'il nous a témoigné, pour sa disponibilité, pour ses orientations, pour sa compréhension, pour les efforts qu'il avait consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, pour sa gentillesse et ces précieux conseils tout le long de notre mémoire et de notre étude sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour, qu'il trouve ici d'expression de notre vive gratitude.

Que nos vifs remerciements aillent à Mme. ATMANI D. qui nous nous a fait l'honneur de présider le jury. Nous adressons également nous hommages les plus respectueux à Mme. MAHDID A. qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être examinatrice de ce mémoire

Un grand merci au doctorant Mr. OTMANI. pour son aide précieuse.

Nous exprimons nos reconnaissances à tous les enseignants du département de biologie physicochimique pour avoir fortement contribué à enrichir nos connaissances, à Monsieur RAHAL Directeur adjoint de recherche et de développement de l'entreprise Cévital de Béjaia, qui a accepté de nous accueillir afin de réaliser le pouvoir rotatoire de nous échantillons de miel.

Nous voudrions remercier toute la promotion Biochimie Appliquée 2016/2017.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

- ✓ *A mon cher père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*
- ✓ *A ma chère et douce mère pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*
- ✓ *Pour mes frères, sœurs et leurs petits enfants :Akrem, Amani, Abed Al-basset, Abed Al-malek et Abed Al-momen...*
- ✓ *A toutes mes amies et mes collègues de notre promotion 2016-2017*

Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et soutenu.

et

Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer...

NAOUEL

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes Parents, qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui

mon éclairé le chemin par leurs conseils judicieux, j'espérais qu'un jour je

pourrais leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi

À mon cher mari Lamine, à qui je dois une grande part de la réussite de ce travail

grâce à son soutien

et sa compréhension à qui je souhaite tout le bonheur du monde.

À mes chers beaux-parents.

À ma sœur Dihia et mes frères Saïd et Ouali

À mes belles sœurs et mon beau frère Mohamed

À mes amis.

À toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce

mémoire.

Adidi

Liste des abréviations
 Liste des figures
 Liste des tableaux

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....2

- **I.1- GENERALITES SUR LE MIEL.....2**
- **I.1.1-Définition.....2**
- **I.1.2-Origine.....2**
- **I.1.3- Technologie du miel.....3**
- I.1.3.1- Production.....3
- I.1.3.2- Récolte.....4
- **I.1.4- Principales variétés.....5**
- **I.1.5- Composition.....5**
- **I.2- PROPRIETES DU MIEL.....7**
- **I.2.1- Propriétés physico-chimiques.....7**
- I.2.1.1- Indice de réfraction et l'humidité.....7
- I.2.1.2- pH.....7
- I.2.1.3- Conductivité électrique7
- I.2.1.4- Pouvoir rotatoire.....8
- I.2.1.5- Couleur.....8
- I.2.1.6- Cristallisation.....8
- **I.2.2- Propriétés nutritionnelles.....9**
- **I.2.3- Propriétés biologiques.....9**
- I.2.3.1- Propriétés antioxydantes.....9
- I.2.3.2- Propriétés antimicrobiennes.....10
- I.2.3.3- Propriétés anti-inflammatoires.....11
- I.2.3.4- Propriétés anti-cancéreuses.....12

CHAPITRE II: MATERIAL ET METHODES.....13

- **II.1- ECHANTILLONS DE MIEL.....13**
- **II.2- ANALYSES POLLINIQUES.....13**

• II.3- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	14
• II.3.1- Humidité et Brix.....	14
• II.3.2- pH.....	14
• II.3.3- Conductivité électrique.....	14
• II.3.4- Couleur.....	15
• II.3.5- Teneur en HMF.....	15
• II.3.6- Pouvoir rotatoire.....	15
• II.3.7- Protéines.....	16
• II.3.8- Proline.....	16
• II.4- DOSAGES DES ANTIOXYDANTS ET ACTIVITE	
ANTIOXYDANTE.....	16
• II.4.1- Dosage des antioxydants.....	16
• II.4.1.1- Dosage des composés phénoliques totaux.....	16
• II.4.1.2- Dosage des flavonoïdes.....	17
• II.4.2- Étude de l'activité antioxydante.....	17
• II.4.2.1- Pouvoir réducteur.....	17
• II.4.2.2- Test de FRAP.....	18
• II.4.3- Étude de l'activité anti –radicalaire.....	18
• II.4.3.1- Test de DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl).....	18
• II.4.3.2 - Test d'ABTS.....	18
• II.5- Activité antibactérienne.....	19
• II.6- Analyse statistique.....	21
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION.....	22
• III.1- ANALYSES POLLINIQUES.....	23
• III.2- PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES.....	24
• III.2.1- Humidité et Brix.....	24
• III.2.2- pH.....	25
• III.2.3- Conductivité électrique.....	26
• III.2.4- Couleur.....	27
• III.2.5 - Teneur en Hydroxyméthylfulfural.....	27
• III.2.6- Pouvoir rotatoire.....	28

• III. 2.7- Protéines.....	28
• III.2.8 – Proline.....	29
• III.3- ANTIOXYDANT ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	30
• III.3.1- Antioxydants.....	30
• III.3.1.1- Teneur en composés phénolique totaux	30
• III.3.1.2- Teneur en flavonoïdes.....	30
• III.3.2- Activité antioxydante.....	31
• III.3.2.1- Pouvoir réducteur.....	31
• III.3.2.2- Test de FRAP.....	31
• III.3.3 - Activité antiradicalaire.....	32
• III.3.3.1- DPPH.....	32
• III.3.3.2- ABTS.....	33
• III.4- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....	34
• III.5- CORRELATIONS.....	36
• III.5.1- Corrélations paramètres physico-chimiques et les antioxydants.....	36
• III.5.2- Corrélations antioxydants et activités antioxydantes.....	37
• III.5.3- Corrélations activités antibactériennes, paramètres physico-chimiques, les antioxydants et l'activité antioxydante.....	38
• III.5.4- Analyse en composante principale	38
CONCLUSION.....	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	41
ANNEXES	

Liste d'abréviations

Abs : Absorbance
ABTS⁺: Acide 2-2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
ADN : Acide désoxyribonucléique
ANOVA : Analysis of one variance (analyse d'une seule variance)
ATCC : American type culture collection
BSA : Serum albumin bovin
°C : Celsius
CE : Conductivité électrique
CETAM : Centre d'études techniques apicoles de Moselle
CFU : Unité formant colonie
CMI : Concentration minimal inhibitrice
COX-2 : Cyclo- oxygénase 2
DPPH : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl
EAG: Equivalent d'acide gallique
EC : Equivalent catéchine
E. Coli : *Escherichia Coli*
ERO : Espèce réactive à l'oxygène
Fe³⁺ : Fer Ferrique
Fe²⁺ : Fer ferreux
FRAP: Ferric reducing antioxidant power
H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
HMF: Hydroxyméthylfulfural
K. Pneumoniae: *Klebsiella Pneumoniae*
LDL: Low Density Lipoprotein
M: Miel
m/v: Masse/volume
MH : Milieu muller Hinton
mM : Milli molaire
MOMP : Mitochondrial outer membrane permeabilization
MS : Milli- siemens
NF-κB: Nuclear factor- kappa B
nm : Nanomètre
PARP: Poly (ADP-ribose) polymérase
pH: Potentiel d'hydrogène
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
r : Coefficient de corrélation
T° : Température
v/v: Volume/volume

Liste des figures

N°	Figure	Page
01	Origine du miel.	4
02	Etapas de la récolte du miel par l'apiculteur.	5
03	Quelque exemple des zones d'inhibition.	35
04	Photographie des résultats obtenus du test de CMI d' <i>E. coli</i> .	36
05	Tracé des poids factoriels (cercle de corrélation) des relations simultanées entre les paramètres analysés.	39

Liste des tableaux

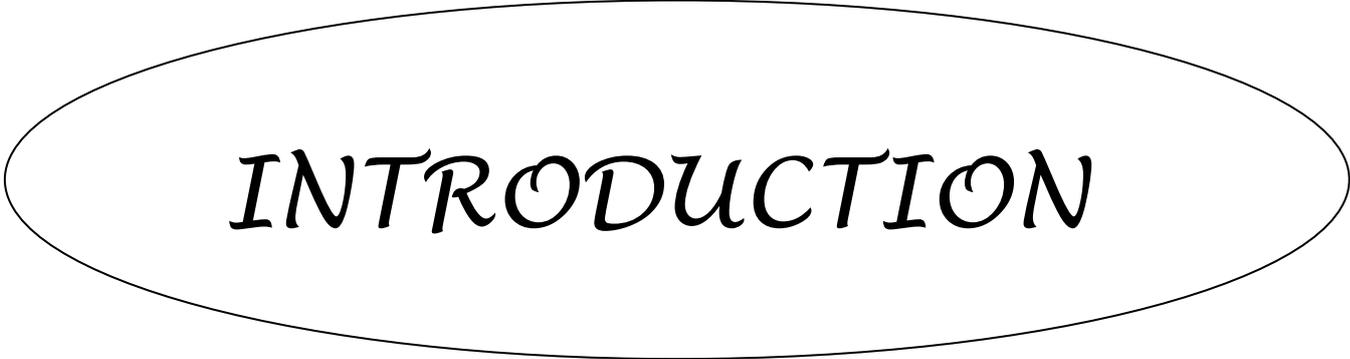
N°	Titre	Page
I	Principaux composants du miel.	6
II	Présentation des échantillons de miel étudiés.	13
III	Différents souches bactériennes utilisées.	19
IV	Différentes dilutions de gradient 2 pour chaque échantillon du miel.	20
V	Spectres polliniques et pourcentage de pollens des miels analysés.	23
VI	Résultats des analyses physico-chimiques des miels étudiés.	24
VII	Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.	24
VIII	Effet inhibiteur des différents types du miel sur la croissance des 3 souches bactériennes.	34
IX	Concentrations minimales inhibitrices du miel (mg/ml) pour chaque souche bactérienne.	35

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّعْلِ أَنْ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا
يَعْرِشُونَ ﴿٦٨﴾ ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ
مِن بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾



Ce que ton seigneur révéla aux abeilles: « Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres et les treillages que font(68). Puis mangez de toute espèce de fruits et suivez les sentiers de votre seigneur, rendus facile pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment la une preuve pour des gens qui réfléchissent (69). » (Sourate El Nahl verset 68- 69).



INTRODUCTION



Introduction

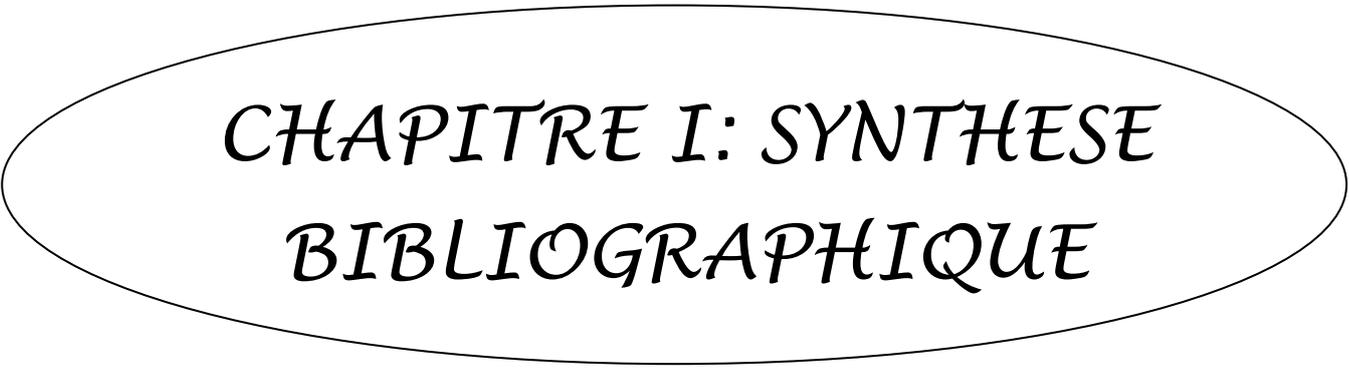
Depuis la nuit des temps, la première préoccupation de l'homme fut de satisfaire ses besoins alimentaires, puis il dut lutter contre les maladies qui touchaient son corps. Donc, il a cherché dans son environnement des produits naturels qui pourraient le combler dont on trouve le miel. Ce produit noble de la ruche est considéré comme étant l'une des denrées alimentaires les plus appréciées par l'homme. En effet, la première peinture représentant des hommes cueilleurs de miel a été retrouvée en Espagne, et daterait d'environ 10 000 ans avant J.-C (La Catoire Fantasque, 2013).

Le miel est un produit sucré fabriqué par les abeilles mellifiques à partir du nectar aussi bien le miellat. Composé essentiellement de sucre dont les principaux le fructose et le glucose mais aussi il renferme une large gamme de composés qui varient en fonction de la source florale utilisée par les abeilles, la période de la récolte et les conditions géo-climatiques des régions concernées (Mbogning *et al.*, 2011).

La production mondiale du miel est supérieure à un million de tonnes par an. Cependant, en Algérie et malgré qu'elle dispose d'un climat chaud, ensoleillé et qui présente des ressources naturelles, la production reste très faible environ 30.000 tonnes par an (Habib, 2009).

Le miel n'est pas seulement un aliment sucré mais également un produit médicinal car il possède plusieurs propriétés biologiques qui sont dues essentiellement à sa composition chimique notamment les polyphénols et les flavonoïdes (Da Silva *et al.*, 2016).

Pour une meilleure connaissance des activités biologiques, ce travail est mené en vue d'étudier la qualité physico-chimique et les activités antioxydantes et antibactériennes de 9 échantillons de miel de Bejaia. C'est pourquoi, après avoir rappelé les connaissances bibliographiques sur le miel et en particulier ses propriétés physico-chimiques et biologiques, la partie expérimentale comprend des analyses physico-chimiques et polliniques ainsi que des tests sur l'activité antioxydante et antibactérienne. En outre, il y a aussi la présentation des résultats obtenus et leur discussion en comparant aux travaux effectués auparavant.



*CHAPITRE I: SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE*



I.1- GÉNÉRALITÉS SUR LE MIEL

I.1.1- Définition

Le terme « miel », qui vient du latin mel, est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Il est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, 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, 2001)

I.1.2- Origine

L'appétence naturelle des abeilles pour tout ce qui est sucré les amènent à butiner différentes sources. En effet, le miel est fabriqué à partir des récoltes végétales de l'abeille provenant principalement à partir du nectar mais aussi à partir du miellat, qu'elle butine sur les fleurs et les plantes (Sanz *et al.*, 2005).

A partir du nectar

Le nectar est une exsudation sécrétée par des glandes, dites nectaires, organes propres aux végétaux supérieurs. Ces glandes sont des structures de petite dimension dont la localisation est variable, il existe (Hoyet, 2005) :

- Des nectaires floraux : qui sont à la base des fleurs.
- Des nectaires extra floraux : qui sont portés sur les feuilles, les tiges ou les autres parties de la plante.

Ce fameux liquide se forme à partir de la sève de la plante. Il est composé d'une majorité de sucres et d'eau mais il renferme également d'autres substances dont il y a : les acides organiques, les protéines dont des enzymes, les acides aromatiques et des composés inorganiques. Chaque plante à nectar présente ses caractéristiques conférant au miel sa couleur et sa saveur (Lacub, 2013).

A partir du miellat

Le miellat est un liquide sucré, élaboré par divers insectes piqueurs-suceurs (pucerons principalement) à partir de la sève des végétaux dont ils se nourrissent (Sanz *et al.*, 2005).

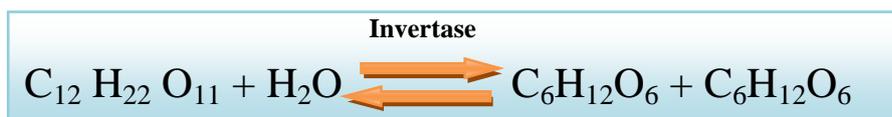


Ce liquide représente une ressource alimentaire importante pour les abeilles lorsqu'elles ne disposent pas de fleurs à butiner. Il est plus dense en sucre que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et en glucides complexes (comme le mélézitose) (Clément, 2014). Ce produit se distingue néanmoins du miel par sa consistance plus poisseuse et par sa forte teneur en protéine (Ravassi, 1996).

I.1.3- Technologie du miel

I.1.3.1- Production

D'après Ouchemoukh (2012), le miel est produit selon le processus suivant: l'abeille butineuse aspire le nectar des fleurs ou le miellat qu'elle emmagasine dans son jabot avec sa salive, ce qui le permet de s'enrichir en enzymes. L'élaboration du miel commence dans le jabot de la butineuse. En effet, une enzyme, l'invertase, est sécrétée dans le jabot de l'abeille s'ajoute au nectar, ce qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et en fructose selon la réaction chimique suivante :



Une fois arrivée à la ruche, la butineuse transmet le nectar ingéré aux ouvrières, qui le régurgitent encore puis le passent à d'autres abeilles et ainsi de suite (phénomène de trophallaxie). La teneur en eau du liquide sucré s'abaisse progressivement jusqu'à atteindre environ 18 % et s'enrichit en même temps en sucres gastriques et en substances salivaires. Il est ensuite déposé dans des alvéoles qui seront operculées par une couche de cire afin d'assurer sa conservation (Figure 01) (Alvarez, 2010 ; Hoyet, 2005).

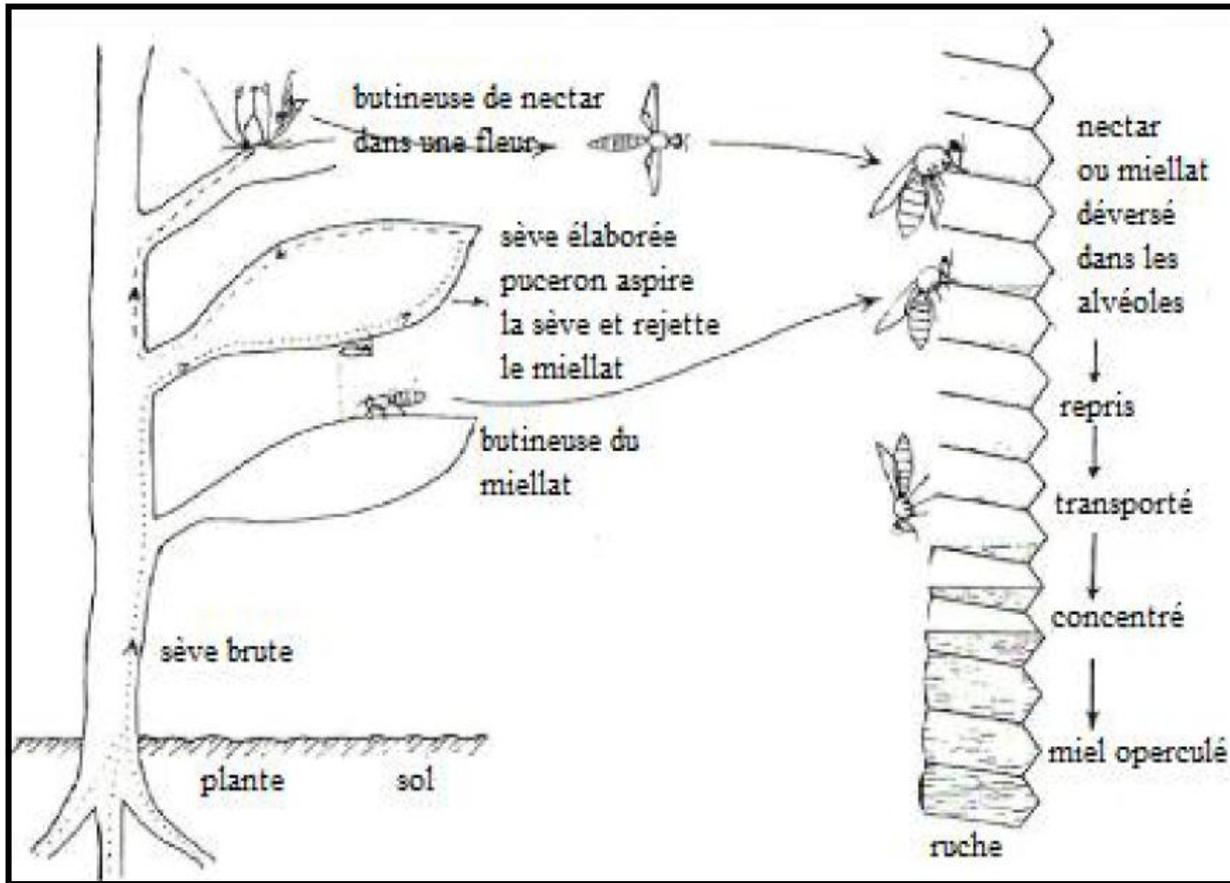


Figure 01: Origine du miel (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

I.1.3.2- Récolte

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée quand la ruche est devenue très lourde. L'apiculteur retire les cadres du miel, il laisse que les provisions nécessaires pour que les abeilles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver suivant. Après avoir enfumé la colonie, la récolte du miel peut s'effectuer essentiellement en 4 étapes (Figure 2) (Irlande, 2010) :

- ✚ **La désoperculation** : l'apiculteur enlève les opercules de cire à l'aide d'un couteau à désoperculer (Figure 02-a).
- ✚ **L'extraction** : Les cadres sont ensuite mis dans un extracteur, une sorte de centrifugeuse manuelle ou automatisée, qui permet la sortie du miel des alvéoles (Figure 02-b).
- ✚ **La maturation** : Le miel est recueilli dans un maturateur, un simple récipient de décantation surmonté d'un filtre. Il est destiné à retenir les impuretés qui pourraient y être contenues (bulles d'air, fragments de cire...). Ces dernières remontent à la surface du miel et constituent une écume qui sera retirée (Figure 02-c).



✚ **La conservation du miel :** Le miel est un produit vivant qui subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de sa qualité. Dans la mesure du possible, les locaux de conservation du miel seront secs et aérés. Tout les miels dont le pH est inférieur à 4 convient de les garder dans des locaux frais ou à des températures qui ne dépasse pas 20 °C. Si le miel à stocker présente un risque de fermentation, il faudra impérativement le pasteuriser ou le conserver dans des températures de 4 à 5 °C (Hoyet, 2005) (Figure 02-d).

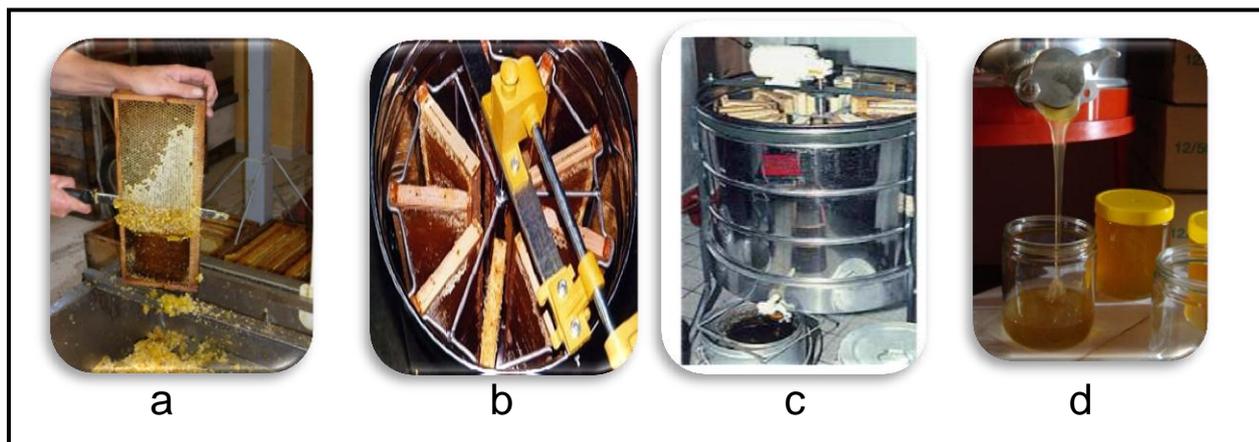


Figure 02 : Etapes de la récolte du miel par l'apiculteur.

I.1.4- Principales variétés

Il existe une innombrable variétés de miels, correspondant aux fleurs et aux plantes visitées par les abeilles, ainsi qu'à la source récoltée (nectar ou miellat). Les miels sont séparés en deux catégories (Bogdanov *et al.*, 2004) :

- ✚ Les miels monofloraux ou « miels de cru », proviennent de façon prédominante d'une seule espèce florale et cela nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée: miel de tournesol ou le miel de colza.
- ✚ Les miels polyfloraux ou « miels toutes fleurs » résultent de la récolte des abeilles sur plusieurs espèces florales. Ils sont très variables d'une région à l'autre (Huchet *et al.*, 1996).

I.1.5- Composition

La composition chimique du miel est très complexe et variable. En effet, elle est influencée par les nombreuses étapes de transformation de celui-ci et par l'origine botanique des plantes butinées ou des miellats ingérés par les abeilles.



Il n'existe donc pas un miel mais des miels. La composition moyenne d'un miel est décrite dans le tableau ci-dessous (Tableau I) (Irlande, 2010). Certains miels peuvent contenir, en plus des éléments décrits dans le tableau: des pollens, des spores, des levures osmotolérantes (responsables de la fermentation) et des champignons microscopiques. Les miels anciens contiennent de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) provenant de la dégradation des monosaccharides et tout particulièrement le fructose (Rossant, 2011).

Tableau I : Principaux composants du miel (Lobreau-Callen *et al.*, 2000).

Composition	Pourcentage totale	Type de composés	Principaux composant
Eau	15 à 20 % (moyenne 17 %)		
glucides	75 à 80 %	Monosaccharides	Glucose (33 %), Fructose (39 %).
		disaccharides	Maltose (0,9 %), Isomaltose, Saccharose (2,3 %).
		polysaccharides	Erlose, Raffinose, mélézitose...
Substances diverses	1 à 5 %	Acides organique (0,1 à 0,5 %)	Acide gluconique, succinique, citrique, formique ...
		Protéines et acides aminés (0,2 à 2 %)	Matières albuminoïdes, matières Azotées. proline, tyrosine, leucine, aspartate, glutamate...
		vitamines	B, C, A, D, K.
		Enzymes provenant des glandes hypopharyngiennes	Amylases α et β , Invertase, glucose oxydase.
		Enzymes provenant du nectar	Catalase, phosphatases
		Minéraux	K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Cu, Co, p...
pigments		Caroténoïdes	.
		Flavonoïdes	catéchine, quercétine
Lipides	traces	Acides gras	Acides palmitique, butyrique, caprique, caproïque, Valérique.



I.2- PROPRIETES DU MIEL

I.2.1- Propriétés physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques des miels sont très importantes, leur interprétation permet de déduire non seulement l'état de fraîcheur du miel mais également ses conditions optimales de conservation ainsi que sa qualité. Certaines d'entre eux participent aussi à l'identification de l'origine florale d'un miel.

I.2.1.1- Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau. Il est d'autant plus élevé que la teneur du miel en eau est faible. Il oscille entre 1,47 et 1,50 à une température de 20 °C. La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais elle peut être aussi influencée par de nombreux d'autres facteurs parmi lesquels: les conditions climatiques lors de la récolte et les conditions de stockage (Lazarević *et al.*, 2012 ; Belay *et al.*, 2013).

La table de Chataway permet de nous donner directement la correspondance entre l'indice de réfraction et la teneur en eau (tableau de Chataway) (Louveaux, 1959). La norme de Codex Alimentarius (2001) indique que la teneur en eau maximale est de 21 %. Au de la de cette valeur, le miel est considéré comme étant facile à se fermenter.

I.2.1.2- pH

Tous les miels sont acides. En effet, leur pH varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux du miellat. Cette acidité est due principalement à la teneur du miel en acide gluconique (Cavia *et al.*, 2007)..

Le pH influence la stabilité du miel et ses conditions de conservation. Les miels à pH bas accélèrent le processus de la formation de l'HMF, ce qui il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation (Khalil *et al.*, 2012).

I.2.1.3- Conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre efficace pour la distinction entre les miels floraux et les miels de miellats. Elle dépend de la teneur du miel en minéraux et en acidité (la présence des acides organiques et des protéines) (Yucel et Sultanoglu, 2013). En général, la conductivité électrique du miel est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée (Acquarone *et al.*, 2007).



Ce paramètre est en rapport avec la couleur du miel. Selon Belay *et al.* (2013), les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs.

I.2.1.4- Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est un des paramètres qui permet la distinction entre les miels de miellat et les miels de nectar, en se basant sur la caractéristique optique des sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. En effet, la majorité des miels font tourner à gauche la lumière polarisée (miel de nectar), mais il existe des miels dextrogyres (miel de miellat), qui par conséquent font tourner le plan de polarisation à droite (Bogdanov *et al.*, 2004).

I.2.1.5- Couleur

La couleur est un élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du consommateur mais elle constitue aussi un critère de classification. En effet, les miels sont divisés en sept catégories de couleurs. Elle va du jaune très pâle, presque blanc, (miels de *Rosmarinus officinalis*, *citrus sp*) au brun très foncé, presque noir, (miel de *Quercus sp*) en passant par toute la gamme de couleurs. Cette diversité en couleur est à l'origine de différents composants du miel, notamment les minéraux. Plus le miel est clair moins il est riche en minéraux et inversement. Elle est due aussi à la présence des caroténoïdes et des composés phénoliques (Gonzales *et al.*, 1999).

I.2.1.6- Cristallisation

La cristallisation du miel est un processus naturel et inévitable qui modifie l'état du miel, sans altérer sa qualité. Elle est considérée comme une première étape du vieillissement du miel. Sa vitesse dépend de différents facteurs mais surtout de la teneur du miel en glucose (Huchet *et al.*, 1996). En effet, les miels dont la teneur en glucose est faible restent plus longtemps liquides.

La température idéale pour une bonne cristallisation du miel est de 14 °C. Cependant, les basses températures retardent la croissance des cristaux de glucides et les hautes températures entraînent la dissolution de ces cristaux et leurs disparitions (Hélène Dailly, 2008).



I.2.2- Propriété nutritionnelle

Le miel est un aliment très énergétique (310 calories/100g) car il est très riche en glucides simples, ce qui le rend directement assimilable par l'organisme (il ne passe pas par un processus complexe de digestion). D'une manière générale, le miel est un bon complément pour lutter contre la fatigue quelqu'en soit son origine : physique, intellectuelle, post-opératoire... (Rossant, 2011). Comme il contient des sels minéraux, du phosphore, du calcium et du fer, le miel favorise la croissance des os en améliorant la fixation du calcium sur celle-ci notamment chez les jeunes enfants mais aussi il intervient dans la prévention ou encore le traitement de l'anémie (Irlande, 2010).

I.2.3- Propriétés biologiques

Le miel est considéré comme un aliment et comme un médicament en raison de ses vertus curatives. Par sa composition très variée (sucres, vitamines, polyphénols...), il possède plusieurs propriétés justifiant ainsi ses applications innombrables.

I.2.3.1- Propriété antioxydante

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres (molécules hautement réactives) dans l'organisme, qui sont produits suite à un stress oxydant (Ouchemoukh, 2012). Ce dernier est défini comme étant le déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense antioxydant. Le stress oxydant joue un rôle significatif dans l'apparition de nombreuses maladies telles que le cancer, la cataracte, l'athérosclérose ... (Aljadi et Kamaruddin, 2004).

En général, l'activité antioxydante d'un miel se résulte de la combinaison d'une large gamme d'activité de ces composés. Elle est variable d'un miel à l'autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants. En effet, le miel est connu pour être riche en antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, notamment la glucose-oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les acides phénoliques et les flavonoïdes (Beretta *et al.*, 2005 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2010). Cette dernière est considérée non seulement comme des piègeurs efficaces des radicaux pyroxyles mais aussi des piègeurs d'ions métalliques car elles ont des propriétés chélatrices (Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Ediriweera et Premarathna, 2012).



I.2.3.2- Propriétés antimicrobiennes

Le miel peut inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, champignons, protozoaires et virus sans que ces derniers ne puissent développer de résistance. Cette activité est attribuée à l'action combinée de facteurs physiques (pression osmotique élevée et acidité), chimiques (peroxyde d'hydrogène), mécaniques et phytochimiques du miel (Estevinho *et al.*, 2008 ; kwakman *et al.*, 2010).

→ L'osmolarité

Bien que le miel soit riche en sucres (85 %), cette forte teneur le permet d'agir d'une manière osmotique aboutissant ainsi à la déshydratation des germes et à l'arrêt de leurs croissances. Cette forte interaction qui existe entre les glucides et l'eau ne laissent pas assez de molécules d'eau libre, ce qui est indispensable au développement et à la survie des microorganismes (Olaitan *et al.*, 2007).

→ L'acidité

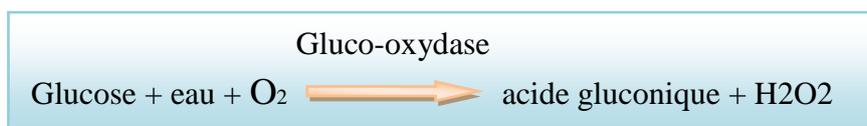
L'acidité est considérée comme étant un facteur antibactérien significatif. En effet, elle agit en ralentissant ou en évitant la croissance de nombreuses espèces bactériennes pathogènes qui ont besoin d'un pH entre 4,2 – 7,4. Toutefois, le pH perd son effet inhibiteur dans le cas où le miel est dilué (Descottes, 2009).

→ Viscosité

La viscosité du miel est une propriété purement mécanique. Grâce à cette propriété, le miel va former une barrière protectrice qui va préserver la zone à traiter de toute surinfection.

→ Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est le principal composant du miel, produit par une réaction enzymatique lors de la transformation du nectar en miel par la gluco-oxydase dans des conditions aérobies (Olaitan *et al.*, 2007) :





L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement de colonies bactériennes (Descottes, 2009).

Encore appelé eau oxygénée, le peroxyde d'hydrogène en contact avec des tissus et du sang se décompose en eau et en oxygène ce qui crée une microeffervescence, un nettoyage mécanique de la plaie. Donc, il joue le rôle d'un détergent (Rossant, 2011). En outre, la gluco-oxydase est influencée par le taux de la catalase, la chaleur et la lumière qui ralentissent ainsi l'activité de l'enzyme. Le miel mûr contient un taux faible en eau oxygénée en raison de sa faible teneur en eau en comparant avec le miel non mûr (Kwakman et Zaat, 2012 ; Fahim *et al.*, 2014).

→ **Defensine-1**

Découverte en 2010 par le professeur néerlandais Sebastian AJ Zaat, c'est une molécule sécrétée par les abeilles à partir des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires. Chez l'homme, la defensine-1 est un petit peptide de 3,5 à 6 kDa, qui possède une puissante activité antibactérienne mais uniquement contre les bactéries Gram-. Elle est également impliquée dans l'immunité spécifique ou innée car elle se présente au sein de nombreuses granules sécrétoires, dans les leucocytes ou des cellules immunitaires spécialisées et dans l'ensemble des épithéliums (Kwakman et Zaat, 2012 ; Petit, 2012).

→ **Phytochimique**

Le chauffage du miel inactive le glucose oxydase sans pour autant inhiber totalement ces propriétés antibactériennes. En effet, il existe d'autres facteurs phytochimiques (les composés phénoliques, les carotènes...) qui contribuent à cette activité inhibitrice (Olaitan *et al.*, 2007). Ces facteurs antibactériens sont beaucoup moins sensibles à la lumière, à la chaleur et à la durée du stockage, contrairement aux composants à activité peroxyde.

I.2.3.3- Propriété anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaires à des stimuli nuisibles, tels que les radicaux libres. Elle peut devenir délétère et empêche la guérison lorsqu'elle est excessive et prolongée, ce qui peut provoquer le cancer. En outre, des études ont montré que le miel peut jouer un rôle dans l'atténuation de l'inflammation par divers mécanismes : il agit en inactivant le facteur de transcription NF-kB qui régule l'expression de plusieurs gènes qui codifient des molécules pro-inflammatoires comme l'enzyme cyclo-oxygénase-2 (COX-2), des facteurs de croissance et des cytokines (Hussein *et*



al., 2013). Le miel peut aussi, par le biais de sa propriété antioxydante, réduire l'inflammation en éliminant les radicaux libres des tissus enflammés et en évitant leurs effets néfastes (Benhanifia *et al.*, 2010).

I.2.3.4- Propriété anticancéreuse

Le miel contient des teneurs élevées en composés phénoliques, principales acteurs de son activité antioxydante. Cette dernière peut avoir un potentiel préventif dans le développement du cancer. Parmi les mécanismes proposés par lesquels le miel peut exercer ses effets anticancéreux, il ya celui de l'induction de l'apoptose (Erejuwa *et al.*, 2014).

L'apoptose, mort cellulaire programmée, est un processus par lequel des cellules endommagées déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. Toutefois, plusieurs voies apoptotiques sont déréglementées dans les cellules cancéreuses, ce qui favorise leur survie et leur immortalité (O'Connor, 2011). Une de ces voies altérée est celle qui implique la perméabilisation de la membrane mitochondriale (MOMP), qui est réactivée par le miel dans diverses lignées cellulaires cancéreuses, par la réduction du potentiel membranaire mitochondriale, ce qui conduit à une fuite de protéines pro-apoptotiques telles que le cytochrome C et entraînant ainsi la mort cellulaire (Chipuk *et al.*, 2006 ; Fauzi *et al.*, 2011).

Des preuves récentes révèlent que le miel présente également des effets sur plusieurs enzymes, gènes et facteurs de transcription liés à l'apoptose. Le PARP (Poly (ADP-ribose) polymérase) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans l'apoptose et la réparation de l'ADN. L'inhibition de l'activité de PARP par le miel empêchera la réparation de l'ADN et contribuera ainsi à une cytotoxicité accrue du miel dans les cellules cancéreuses (Wang *et al.*, 2012).

*CHAPITRE II: MATÉRIEL
ET MÉTHODES*

II- MATERIEL ET MÉTHODES

II.1- ÉCHANTILLONS DE MIEL

Dans ce travail de recherche, 9 échantillons de miel dont 8 proviennent de la wilaya de Bejaia récoltés en 2016 sont analysés.

Le tableau suivant donne le codage utilisé pour ces différents échantillons, leur provenance géographique, leur couleur ainsi que leur texture.

Tableau II: Présentation des échantillons de miel étudiés.

Échantillons	Provenance géographique	Couleur	Texture
M1	Akbou	Marron clair	Semi cristallisé
M2	Akbou	Marron	Liquide
M3	Akbou	Marron clair	Cristallisé
M4	Akbou	Marron foncé	Liquide
M5	Kherrata (Adjioune)	Jaune foncé	Cristallisé
M6	Bouandass (Setif)	Jaune	Liquide
M7	Akfadou	Marron foncé	Semi cristallisé
M8	Seddouk	Jaune	Cristallisé
M9	Kherrata (Djermouna)	Jaune foncé	Liquide

II.2- ANALYSES POLLINIQUES

L'analyse pollinique est considérée comme étant une méthode efficace pour la recherche et l'identification de l'origine botanique d'un échantillon de miel. Cette analyse est effectuée sur 5 échantillons au lieu de 9 en raison de la quantité qui est insuffisante. Son protocole consiste, d'après la commission internationale de botanique apicole, à centrifuger une solution de miel (3 g/12 ml d'eau distillée) à une vitesse de 4500 tours/min pendant 10 min. Après avoir éliminé le surnagent, le culot récupéré est additionné avec 10 ml d'eau distillée puis centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions. Le surnagent est écarté encore une fois et une petite goutte de culot (100 µl) est prélevée, étalée sur une lame puis séchée sur une plaque chauffante. Sur la même lame, une goutte de fushine-gélatinée est étalée puis recouverte par une lamelle. La lecture des lames est réalisée sous le microscope optique au grossissement *40 (louveaux *et al.*, 1978).

Deux types d'analyses polliniques ont été effectuées en référant à une banque de données (laboratoire de CETAM de la France): une analyse qualitative qui consiste à déterminer globalement la nature des pollens présents dans chaque échantillon de miel et une analyse quantitative qui a pour but la détermination de la quantité de ces pollens. La classification s'effectue selon le pourcentage suivant : les pollens dominants (≥ 45 %), les pollens d'accompagnements (15 - 45 %), les pollens minoritaires (3 - 15 %) et les pollens très minoritaires (≤ 3 %) (Ouchemoukh, 2012).

II.3- ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Huit paramètres physico-chimiques sont analysés dont certains d'entre eux sont réalisés selon les recommandations de la Commission Internationale du miel (Bogdanov *et al.*, (1997) : humidité et brix, pH, conductivité électrique, HMF, proline et pouvoir rotatoire).

II.3.1- Humidité et Brix

La teneur en eau des miels analysés est déterminée par un réfractomètre, en se basant sur la mesure optique de son indice de réfraction. Une goutte de miel liquide est étalée sur la platine du prisme du réfractomètre, qui est préalablement étalonné avec l'eau distillée. La lecture du brix ainsi que l'indice de réfraction sont faites à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure.

II.3.2- pH

La détermination de la valeur du pH des échantillons de miel s'effectue par un pH-mètre pour une solution de miel à 10 % (m/v). Après avoir dissout 2,5 g de miel dans 25 ml d'eau distillée, la valeur du pH de la solution est déterminée après l'immersion de la cellule du pH-mètre dans celle-ci. Elle se varie entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectars et entre 4,5 et 5,5 pour les miels de miellats.

II.3.3- Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la capacité d'un échantillon de miel à transmettre un flux électrique. Elle est déterminée par une analyse conductimétrique à 20 °C d'une solution aqueuse de miel à 20 % de la matière sèche.

Une quantité de miel M ($M = (5 \cdot 100) / M_s$, M_s est la teneur en matière sèche de miel) est dissoute dans 25 ml d'eau distillée puis la mesure est faite par immersion de la cellule du conductimètre dans la solution du miel.

II.3.4- Couleur

D'après Bath et Singh (1999), la couleur des miels est déterminée selon le protocole suivant : après homogénéisation d'une solution contenant 1g de miel dissout dans 4ml d'eau distillée, la densité optique est lue à 450 nm.

II.3.5- Teneur en HMF

L'hydroxyméthylfurfural est un bon indicateur de la fraîcheur et du surchauffage d'un miel. Ce composé se produit suite à la transformation des hexoses et plus particulièrement le fructose en HMF.

Une quantité de 5 g de miel est dissout dans 25 ml de l'eau distillée. Un volume de 1 ml d'hexacyanoferrate II de potassium (Carrez I à 15 %) et 1 ml d'acétate de zinc (Carrez II à 30 %) y sont ajoutés. Puis, le volume est ajusté jusqu'à 50 ml avec l'eau distillée et les premiers 10 ml de filtrat sont éliminés. La solution de référence contient 5 ml du filtrat obtenu et 5 ml de sodium bisulfate; en revanche, la solution échantillon à tester renferme 5 ml du filtrat avec 5 ml d'eau distillée. La lecture se fait à l'aide d'un spectrophotomètre UV à 284 nm puis à 336 nm. La teneur en HMF est déterminée par l'équation suivante :

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

A_{284} : absorbance à 284nm.

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

A_{336} : absorbance à 336 nm.

149,7 : constante.

II.3.6- Pouvoir rotatoire

La mesure du pouvoir rotatoire des miels est faite à l'aide d'un polarimètre, en utilisant une solution aqueuse de miel. Cette dernière est préparée par dissolution de 12 g de chaque échantillon de miel dans l'eau distillée, à laquelle il y a l'ajout de 1 ml de Carrez I (Hexacyanoferrate II de potassium 15 %) et 1 ml de Carrez II (Acétate de zinc 30 %). Par la suite, le volume est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. Après 24 h, la solution obtenue est filtrée puis versée dans le polarimètre.

II.3.7- Protéines

Selon Azeredo *et al.* 2003, après avoir modifiée le protocole de la méthode de Bradford (1976) les protéines sont dosées comme suit:

Un volume de 0,1 ml de la solution du miel (50 %) est additionné à 5 ml du réactif Bradford. Après agitation et une durée de temps d'incubation de 2 min, l'absorbance est lue par spectrophotomètre à 595 nm. La courbe d'étalonnage est réalisée avec la sérum albumine bovine et les résultats sont déterminés en se référant à celle-ci.

II.3.8- Proline

Le dosage de cet acide aminé est réalisé en se basant sur l'action de la ninhydrine sur la proline en milieu acide. Une couleur rose est apparue dont le maximum d'absorbance se situe à une longueur d'onde de 510 nm. Le test consiste à introduire dans un tube à essai 0,5 ml de la solution de miel (5 %), 1 ml d'acide formique et 1 ml de la ninhydrine (3 %). Par contre, le blanc contient tous ces réactifs sauf la solution de miel qui est remplacée par l'eau distillée. Les tubes sont fermés et placés dans un bain-marie agitateur pendant 20 min à 95 °C. Par la suite, ils sont placés pour une autre fois dans un bain-marie à 75 °C pendant 10 min. Enfin, 5 ml de 2-propanol (50 %) sont ajoutés à chaque tube. La lecture se fait après 45 min de repos. Le dosage de la proline se fait par rapport à une solution standard qui a subi le même protocole expérimental et les concentrations sont calculées selon la formule suivante :

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

Es : absorbance de l'échantillon de miel.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

E2 : Quantité de miel.

Ea : absorbance de la solution standard de la proline.

80 : facteur de dilution.

II.4-DOSAGES DES ANTIOXYDANTS ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II.4.1- Dosage des antioxydants

II.4.1.1- Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en phénols est déterminée selon la méthode de Naithani *et al.* (2006). Cette dernière est basée sur la réaction colorée des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu (acide phosphotungstique et acides phosphomolybdique) qui est utilisée pour déterminer les phénols totaux dans l'échantillon. Lors de la réaction avec des phénols, le

réactif de Folin-Ciocalteu est réduit à un oxyde de couleur bleue. La coloration bleue produite possède un maximum d'absorbance à 750 nm (Šarić *et al.*, 2012).

Un volume de 100 µl de la solution de miel, de concentration 0,1 g/l, est mélangé avec 100 µl du folin-ciocalteu (50 %) et 2 ml de la solution de carbonate de sodium (2 %).

Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm. La gamme d'étalonnage d'acide gallique permet de déterminer le taux en composés phénoliques, les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 g de miel.

II.4.1.2- Dosage des flavonoïdes

D'après le protocole décrit par Al *et al.* (2009), un volume de 1 ml de la solution de miel est mélangé avec 4 ml d'eau distillée suivi de 300 µl du nitrite de sodium (NaNO_2 5 %). Après 5 min d'incubation, 300 µl de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10 %) sont également additionnés au mélange. Six minutes plus tard, un volume de 2 ml de soude (NaOH) (1 M) est ajouté. Cette méthode est basée sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium avec un maximum d'absorption à 510 nm. La catéchine est utilisée pour la courbe d'étalonnage et les concentrations en flavonoïdes sont exprimées en mg équivalent de catéchine par 100 g de miel ($y = 1,2167x$).

II.4.2- Étude de l'activité antioxydante

II.4.2.1- Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un paramètre efficace pour l'identification de l'activité antioxydante des miels. Il se détecte par la formation d'une couleur verte suite à la réduction de Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} par les antioxydants en présence d'hexanoferrate de potassium (Ouchemoukh, 2012).

D'après Li et Lin. (2010), l'étude du pouvoir réducteur des miels s'effectue selon le protocole suivant : un mélange composé d'une solution de miel (5 %), d'hexanoferrate de potassium (1 %) et d'un tampon phosphate (1 %) dont le volume est égal à 500 µl pour chacun est incubé dans un bain-marie pendant 20 min à 50 °C. Pour stopper la réaction, un volume de 500 µl de TCA (Trichloro-acétate, 10 %) est ajouté. Ensuite, dans un tube à essai on dispose 500 µl de mélange obtenu avec 800 µl d'eau distillé et 100 µl de chlorure ferrique (FeCl_3 , 0,1 %). Après l'homogénéisation et une durée de temps de 10 min, la lecture est faite à 700 nm. Les résultats sont obtenus en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 35,439x$).

II.4.2.2- Test de FRAP

Afin de déterminer l'activité antioxydante des miels, le test de FRAP est utilisé selon le protocole décrit par Alvarez-Suarez *et al.* (2010). La solution de FRAP est un mélange de 3 composés : l'acétate de sodium (300 mM), TPTZ (10 mM) dissout dans 40 mM d'HCl et FeCl₃ (20 mM). Un volume de 500 µl de la solution de miel est mélangé avec 750 µl de réactif du FRAP. Après homogénéisation et incubation pendant 5 min à 37 °C, la lecture des absorbances est faite à 593 nm. Les résultats sont exprimés en mg d'acide gallique par 100 g de miel.

D'après Beretta *et al.* (2005), ce test consiste à réduire le complexe ferrique (Fe³⁺ - TPTZ) en sa forme ferreuse (Fe²⁺ - TPTZ) et par conséquent, une couleur bleu-violet se forme avec un maximum d'absorbance à 593 nm.

II.4.3- Étude de l'activité anti-radicalaire

II.4.3.1- Test de DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl)

Le test de DPPH permet d'évaluer, *in vitro*, la capacité antioxydante des miels à piéger le radical DPPH. En effet, en présence des composés anti-radicalaires, ce radical libre ayant une couleur violette est réduit en diphényle picrylhydrazine qui est de couleur jaune (Molyneux, 2004).

Suivant la méthode décrite par Meda *et al.* (2005), un volume de 0,5 ml de la solution de miel (0,025 g / 1 ml) est mélangé avec 1ml de la solution de DPPH (6*10⁻² mM). Après 15 min, la lecture est faite à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = ((\text{Abs}_c - \text{Abs}_e) / \text{Abs}_c) * 100$$

Abs_c : absorbance du contrôle (0,5 ml de méthanol+ 1 ml de DPPH).

Abs_e : absorbance de l'échantillon.

II.4.3.2 - Test d'ABTS

En vue d'évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydante des miels Re *et al.* (1999) a mis une technique colorimétrique qui se base sur le piégeage des radicaux libres notamment l'ABTS. Pour ce faire, l'ABTS est additionné avec le persulfate de sodium (Na₂S₂O₈) afin de le convertir à un radical cationique de couleur bleu-vert. En contact avec les antioxydants, ces

radicaux seront piégés et la solution s'incolore. Ce protocole consiste à mélanger 0,1 ml (2,5 %) de la solution de miel avec 1 ml de la solution d'ABTS (7 mM).

Sept minutes plus tard, la lecture est réalisée à 734 nm et le pourcentage d'inhibition des radicaux est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] * 100$$

Abs_c : Absorbance du contrôle (1ml d'ABTS+ 0,5ml d'éthanol).

Abs_e : Absorbance du l'échantillon.

II.5- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Afin d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des différents échantillons vis-à-vis de certains bactéries pathogènes, trois souches bactériennes de référence sont utilisées à cette fin (Tableau III):

Tableau III : Différents souches bactériennes utilisées.

Groupe bactériens		Souches bactériennes	
Gram-		<i>Escherichia coli</i> ,	ATCC25922
	Entérobactéries	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ,	ATCC700603
Gram+		<i>Staphylococcus aureus</i> ,	ATCC25923

La vérification de la pureté de ces souches est réalisée par coloration de Gram par contre la sensibilité aux antibiotiques est étudiée par l'antibiogramme.

L'activité antibactérienne est étudiée selon deux méthodes : la méthode de diffusion par disque sur gélose et la méthode de micro-dilution en milieu liquide qui détermine la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) comme décrit par Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).

La méthode de diffusion par disque sur gélose

Selon les recommandations de CLSI (document M02-A12), cette technique consiste en premier temps àensemencer les bactéries choisies sur un milieu Muller Hinton (MH)

gélifié dans des boîtes de Pétri, puis les incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C, afin d'avoir de nouvelles colonies plus performantes.

A partir de ces cultures bactériennes, un inoculum est réalisé en ajoutant quelques colonies de bactéries à une solution saline stérile (NaCl, 0,9 ‰). Le nombre de cellules de la suspension est ajusté à une turbidité de 10^6 CFU/ml. Dans des conditions aseptiques, on réalise l'écouvillonnage de l'inoculum préparé sur la surface de la gélose des boîtes de pétri, 3 disques en papier filtre de Whatman stérilisés (6 mm de diamètre) sont déposés sur chaque boîte de pétri, deux disques sont imbibés de 20 µl de chaque solution du miel et le troisième est imbibé d'eau distillée stérilisée. Les boîtes de pétries sont placées dans l'étuve pendant 24 h à 37 °C. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle.

Technique de micro-dilution en milieu liquide

La méthode de micro-dilution en milieu liquide est basée sur l'utilisation des microplaques de 96 puits recommandée par le CLSI (document M07-A10). Cinq dilutions de gradient de 2 sont préparées pour chaque échantillon de miel à partir d'une solution mère de concentration 1g/1ml, énumérée dans le tableau suivant :

Tableau IV : Différentes dilutions de gradient 2 pour chaque échantillon du miel.

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

Par la suite, chaque puit a reçu 80 µl d'inoculum (l'inoculum est réalisé par l'ajout de quelques colonies de bactéries dans un bouillon nutritif, puis celui-là est ajusté à 0,5 Mc Farland qui correspond à une turbidité environ de $2 \cdot 10^6$ bactéries/ml) et 20 µl de chaque dilution des différents échantillons de miel. Par contre, le contrôle négatif reçoit 20 µl de l'eau distillée stérile à la place de la solution du miel. Après 24 h d'incubation à 37 °C, les CMI ont été déterminées.



II.6- ANALYSE STATISTIQUE

Les paramètres de la statistique descriptive (moyennes et écartypes) sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. La majorité des données collectées sont la moyenne de 3 essais à l'exception de l'indice de réfraction (2 essais). Le logiciel {STATISTICA 5.5} est utilisé afin de comparer entre les différentes données obtenues à travers les paramètres physico-chimiques entre les variétés de miel, en utilisant l'analyse de la variance à un seul critère de classification (AVUC). Les corrélations entre les différents paramètres analysés sont calculées avec la statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation. Les résultats obtenus sont classés par ordre décroissant a>b>c>d>e>f>g>h>i et les valeurs obtenues pourtant la même lettre ne présentent aucune différence du point de vue statistique. En outre, l'analyse en composantes principales (ACP) est réalisée afin de mieux interpréter les données sur un espace réduit et pour mieux visualiser les corrélations existant entre les différents paramètres.

*CHAPITRE III: RÉSULTATS
ET DISCUSSION*



III.1- ANALYSES POLLINIQUES

Les analyses polliniques sont un moyen d'identification de l'origine botanique des miels. En effet, elles reposent sur l'identification et la quantification des pollens observés sous microscope optique en les comparant à une banque de pollens (Chefrour *et al.*, 2007 ; Makhloufi *et al.*, 2015).

D'après l'analyse qualitative et quantitative des pollens, les résultats obtenus révèlent que toutes les variétés des miels étudiés sont d'origine miel de fleurs (Tableau V). Trois échantillons sont des miels polyfloraux (M1, M5 et M9) et deux autres sont des miels monofloraux (M6 et M8). Ceci reflète la diversité florale des régions où les miels ont été récoltés.

Les miels monofloraux possèdent des pollens dominants appartenant à 2 familles botaniques : Fabaceae pour M6 et Myrtaceae pour le miel M7. Ces résultats se concordent avec ceux d'Ouchemoukh (2012) qui a montré que Fabaceae et Myrtaceae sont parmi les familles végétales mellifères qui prédominent les miels Algériens.

Pour les miels polyfloraux, les résultats montrent qu'ils renferment 3 familles de pollens d'accompagnement, excepté pour le miel M9. Fabaceae est la famille commune pour tous les miels M1, M5 et M9 dont le pourcentage est le suivant : 32, 30 et 28 % respectivement.

Tous les échantillons analysés présentent des pollens d'accompagnements, à l'exception faite pour M8, des pollens minoritaires et très minoritaires dont les familles végétales les plus fortement représentées sont : Liliaceae, Rosaceae, Oleaceae, Hyperaceae, Asteraceae, Brassicaceae et autres.

En outre, La présence d'un nombre élevé de miels polyfloraux peut s'expliquer par l'absence de monocultures à grande échelle dans les régions où la récolte du miel est effectuée. Le contenu pollinique du miel diffère selon la richesse botanique de la région, les conditions climatiques et la distance de la ruche au champ de la fleur (Makhloufi *et al.*, 2010 ; Ouchemoukh, 2012).

Tableau V: Spectres polliniques et pourcentages de pollens des miels analysés.

Miels	Origine botanique	Pollens dominants ($\geq 45\%$)	Pollens d'accompagnements (15-45%)	Pollens minoritaires (3-15%)	Pollens très minoritaires ($\leq 3\%$)
M1	Multifloral	Absence	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Liliaceae 32% ▪ Fabaceae 29% ▪ Rosaceae 17% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asteraceae 13% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiliaceae 2% ▪ Ericaceae 2% ▪ Rhamnaceae 2% ▪ Apiaceae 2% ▪ Myrtaceae 1%
M5	Multifloral	Absence	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fabaceae 30% ▪ Asteraceae 21% ▪ Brassicaceae 17% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Oleaceae 11% ▪ Rosaceae 9% ▪ Liliaceae 3% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rhamnaceae 2% ▪ Cystaceae 2% ▪ Lamiaceae 1% ▪ Hyperaceae 1% ▪ Myrtaceae 1% ▪ Autre 2%
M6	Unifloral	Fabaceae 58%	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosaceae 18% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Brassicaceae 6% ▪ Hyperaceae 6% ▪ Liliaceae 5% ▪ Aceraceae 3% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fagaceae 2% ▪ Tiliaceae 2%
M8	Unifloral	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Myrtaceae : Eucalyptus 64% 		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiliaceae 14% ▪ Fabaceae 11% ▪ Brassicaceae 5% ▪ Liliaceae 3% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asteraceae 2% ▪ Rosaceae 1%
M9	Multifloral	Absence	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fabaceae 38% ▪ Rhamnaceae 18% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Brassicaceae 13% ▪ Liliaceae 9% ▪ Autres 10% ▪ Asteraceae 4% ▪ Myrtaceae 4% 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiliaceae 2% ▪ Poaceae 2%

III.2- PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

Les résultats obtenus pour les paramètres physico-chimiques, les teneurs en antioxydants ainsi que les activités antioxydantes sont résumés dans les tableaux VI et VII.

RESULTATS ET DISCUSSION



Tableau VI: Résultats des analyses physico-chimique des miels étudiés.

ECH	Humidité (%)	PH	Brix (%)	C.E. (mS/cm)	Couleur	Protéine (mgEBSA/100g)	Proline (mg/kg)	HMF (mg/kg)	P. Rotatoire
M1	13,8± 0,57 ^e	3,55±0,13 ^{ab}	84,65 ± 0,57 ^a	0,53±0,01 ^{de}	0,162±0,002 ^e	37,56±1,88 ^e	557,23±8,52 ^c	31,99±0,74 ^c	-
M2	16,8±1,13 ^c	3,05 ^d ± 0,04 ^d	81,6 ± 1,13 ^{cd}	0,61±0,06 ^c	0,154±0,003 ^e	42,41±1,17 ^d	387,84±7,68 ^f	112,57± 2,16 ^b	-
M3	13,3±0,42 ^e	3,4± 0,24 ^b	8 ± 0,42 ^a	0,55±0,01 ^d	0,173±0,002 ^d	52,80±2,67 ^c	424,11±13,45 ^e	131,14±2,74 ^a	-
M4	19± 0,00 ^a	3,22±0,04 ^c	78,45 ± 0,00 ^f	0,50±0,02 ^{ef}	0,203±0,002 ^c	75,60±1,58 ^a	628,05±5,33 ^a	-	-
M5	16,5± 0,42 ^c	3,20±0,03 ^{cd}	81,8 ± 0,42 ^c	0,49±0,01 ^f	0,127±0,001 ^f	27,41±0,98 ^g	597,76±12,99 ^b	2,30±1,27 ^f	-5,24± 0,03 ^a
M6	19± 0,00 ^a	3,17±0,02 ^{cd}	79,4 ± 0,00 ^e	0,28±0,01 ^g	0,156±0,001 ^e	33,18±1,56 ^f	274,35±32,64 ^g	6,34±0,77 ^c	-6,93± 0 ^c
M7	15,4± 0,28 ^d	3,39±0,05 ^b	83 ± 0,28 ^b	0,77±0,01 ^a	0,203±0,002 ^c	67,04±2,15 ^b	563,20±1,28 ^c	-	-
M8	17,9± 1,91 ^b	3,60±0,02 ^a	80,7± 1,91 ^d	0,68±0,00 ^b	0,597±0,013 ^a	16,30±0,51 ^h	494,51±16 ^d	13,27±1,39 ^d	-6,32 ± 0,29 ^b
M9	17,2±0,00 ^{bc}	3,67±0,03 ^a	81,3 ± 0,00 ^{cd}	0,60±0,01 ^c	0,405±0,006 ^b	9,23±0,30 ⁱ	435,20±29,44 ^e	13,92±0,54 ^d	-7,14 ± 0,01 ^d

Tableau VII: Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.

ECH	Phénols (mg EAG/100g)	Flavonoïdes (mg EC/100g)	ABTS(%)	DPPH (%)	FRAP (mg EAG/100g)	P. Réducteur (mg EAG/100g)
M1	105,68±2,57 ^b	15,07±0,50 ^e	79,83±0,73 ^{ef}	81,42±1,00 ^c	109,44±1,62 ^e	31,72±1,11 ^d
M2	93,49±5,32 ^c	15,18±0,25 ^e	82,25±0,61 ^d	34,64±0,83 ^e	71,53±5,96 ^f	34,90±0,09 ^c
M3	100,56±8,24 ^b	19,56±0,72 ^c	83,99±0,39 ^c	41,65±1,17 ^d	150,66±0,2 ^c	41,44±0,20 ^b
M4	117,57±0,57 ^a	33,70±1,15 ^a	86,35±0,96 ^b	83,46±0,48 ^b	184,32±1,02 ^b	50,96±0,90 ^a
M5	48,93 ^e ±2,67 ^e	9,21±0,75 ^g	79,31±0,69 ^f	29,73±0,47 ^f	54,88±1,87 ^h	21,69±0,16 ^h
M6	48,41±1,13 ^e	17,92±0,59 ^d	76,57±0,21 ^g	30,25±0,90 ^f	117,59±3,95 ^d	25,04±0,31 ^g
M7	106,66±3,73 ^b	29,37±1,21 ^b	86,60±0,30 ^b	83,64±0,17 ^{ab}	253,76±7,97 ^a	28,26±0,99 ^e
M8	56,99±0,78 ^d	13,21±1,42 ^f	88,77±1,57 ^a	84,84±0,18 ^a	62,32±1,28 ^g	26,90±0,43 ^f
M9	49,91±1,59 ^e	10,68±0,82 ^g	80,81±0,07 ^e	81,28±0,17 ^c	16,62±3,49 ⁱ	24,68±0,03 ^g

Chaque valeur représente la moyenne ± écartype (n=3). Les valeurs portant la même lettre ne sont pas différentes significativement. (-) = une quantité insuffisante de miel



III.2.1- Humidité et Brix

La teneur en eau du miel est l'un des critères primordiaux de la détermination de qualité du miel. Un miel trop sec montre une viscosité élevée et peut poser des problèmes lors de la cristallisation (Moniruzzaman *et al.*, 2014); un miel trop humide risque de se fermenter. Par conséquent, l'humidité conditionne la conservation du miel (Hummel et Feltin, 2014).

Le taux de l'humidité nous renseigne sur les variations de teneur en eau de chaque variété de miel collecté. En effet, il oscille entre $13,30 \pm 0,42$ (M3) à $19,00 \pm 0,00$ % (M4 et M6) avec une moyenne de $16,55 \pm 0,53$ %, qui correspond à des indices de réfraction de 1,504, 1,487 et 1,496, respectivement. Cet intervalle est dans les normes internationales préconisées par Codex Alimentaire (2001), indiquant ainsi un bon degré de maturité et la bonne conservation. Ces résultats sont similaires à ceux cités par Habib *et al.* (2014) (13,63 à 20,60 %) et Makhloufi *et al.* (2010) (13,9 à 20,2 %).

L'analyse des résultats obtenus montre que le miel M4 provenant de la région d'Akbou et celui de Bouandass (M6) enregistrent une teneur la plus élevée en humidité qui diffèrent significativement de celle des autres miels analysés. L'analyse de la variance montre aussi que les meilleurs teneurs en eau sont observés avec l'échantillon M1 et M3 qui ne présentent aucune différence significative : 13,8 et 13,3 %, respectivement. Par ailleurs, les miels M2, M5 et M7 enregistrent des teneurs intermédiaire en humidité avec un pourcentage de : 16,8 %, 16,5 %, 15,4%, respectivement.

La variation en humidité est due aux différents facteurs suivants : la teneur en eau du nectar, l'origine florale des différents miels, la saison de la récolte et le degré de la maturité atteint dans la ruche (Fallico *et al.*, 2004 ; Finola *et al.*, 2007).

Le degré Brix ou pourcentage de matière sèche indique la quantité de sucres contenue dans miel. Il varie entre $78,45 \pm 0,35$ (M4) à $85 \pm 0,57$ % (M3) avec une moyenne de $81,78 \pm 0,60$ %. Ces valeurs sont en relation inverse avec la teneur en eau.

III.2.2- pH

Le pH représente un bon critère de qualité et qui figure dans les normes internationales. Il peut être utile dans la détermination de l'origine botanique du miel.



Les valeurs de pH des miels analysés varient entre $3,05 \pm 0,04$ (M2) à $3,67 \pm 0,03$ (M9) avec une moyenne de $3,36 \pm 0,07$. Elles sont en accord avec les recommandations du Codex alimentaire (2001), ce qui confirme le caractère acide de ces échantillons.

Bogdanov *et al.* (1997) affirment que les miels issus du nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5 ceci témoigne que ces miels pourraient être d'origine du nectar. En outre, les valeurs obtenues entre dans l'intervalle des pH rapportés par Makhloufi *et al.* (2010) et ils sont semblables aux miels Algériens analysés par Ouchemoukh *et al.* (2007).

Le miel M9 récolté à Kherrata présente une valeur de pH la plus élevée et qui est identique à celle de M8 ($3,60 \pm 0,02$) provenant de seddouk. Par ailleurs, il existe aucune différence significative entre les échantillons de miel M3 et M7 recueillis dans des régions différents. De même pour les miels M5 et M6 : 3,20 et 3,17, respectivement. Ceci explique que l'acidité du miel est indépendante de son origine géographique, mais elle peut être attribuée à la flore butinée par l'abeille, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques pendant la transformation de la matière première (Khalil *et al.*, 2012).

Les valeurs de pH du miel sont d'une grande importance lors de l'extraction et de stockage. Toutefois, les pH faible de l'ordre de 3,5 prédéterminent un produit « fragile » pour la conservation duquel faudra prendre beaucoup de précautions (Terrab *et al.*, 2004).

III.2.3- Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) apporte une indication précieuse sur l'origine botanique des miels et elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine. Elle est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et des protéines.

La teneur de la conductivité électrique des miels analysés est comprise entre $0,28 \pm 0,01$ (M6) à $0,77 \pm 0,01$ mS/cm (M7) avec une moyenne de $0,55 \pm 0,01$ mS/cm. Selon les recommandations du codex alimentaire (2001), les miels ayant une CE inférieure à 0,8 mS/cm sont des miels issus de nectar, tandis que ceux qui sont issus de miellats ont des valeurs supérieures à 0,8 mS/cm, ce qui suggère que les miels recueillis pour cette étude sont d'origine florale.

La CE des miels analysés est dans la fourchette des valeurs trouvées par Ouchemoukh (2012) (0,21 à 0,89 mS/cm) et Bettar *et al.* (2015) (0,22 à 0,87 mS/cm) mais elle est différente



de celle obtenue par Achour et Khali (2014) (0,24 à 0,56 mS/cm) et Makhloufi *et al.* (2010) (0,11 à 0,94 mS/cm) sur les miels algériens. La meilleure conductivité électrique est enregistrée pour le miel M7 (0,77 mS/cm) qui diffère significativement de celle des autres miels analysés qui sont classés par ordre décroissant comme suit : M8 (0,68 mS/cm) > M2 (0,61 mS/cm) > M9 (0,60 mS/cm) > M3 (0,55 mS/cm) > M1 (0,53 mS/cm) > M4 (0,50 mS/cm) > M5 (0,49 mS/cm) > M6 (0,28 mS/cm).

La composition chimique (teneurs en minéraux, acides organiques, protéines et autres substances ionisables), la variabilité de l'origine botanique de ces miels ainsi que les conditions climatiques de la région de récolte sont à l'origine de la variabilité de la conductivité électrique des miels analysés.

III.2.4- Couleur

La coloration du miel est l'une des caractéristiques physiques importantes car elle est en rapport avec leur origine florale et leur composition (minéral, pollen, pigments...) (Amiot *et al.*, 1989). Elle joue un rôle essentiel dans la détermination de la capacité antioxydante du miel. Un miel foncé indique une forte activité antioxydante et la présence des pigments (caroténoïdes, flavonoïdes) (Beretta *et al.*, 2005).

Les valeurs de la couleur obtenue des échantillons de miel sont dans la gamme $0,13 \pm 0,001$ (M5) à $0,60 \pm 0,013$ (M8) qui correspond à la couleur brun clair et marron foncé respectivement avec une moyenne de $0,24 \pm 0,003$. Ces résultats sont dans l'intervalle rapporté par Mouniruzzman *et al.* (2013) et Das *et al.* (2015).

Les échantillons testés enregistrent une différence significative, les miels M1 (0,16), M2 (0,15), M3 (0,17), M5 (0,13) et M6 (0,16) présentent des absorbances minimales, tandis que M4 (0,20), M7 (0,20), M8 (0,60) et M9 (0,41) ont des grandes valeurs d'absorbance. Ceci peut être expliqué par la variabilité de la composition chimique des miels analysés.

III.2.5 - Teneur en Hydroxyméthylfulfural

L'HMF est un produit de dégradation des glucides, il se présente sous forme de trace dans les miels frais mais il augmente avec la température de stockage, le surchauffage et le vieillissement naturel de miels (Bogdanov *et al.*, 2004). Les recommandations de l'Union Européenne (2002) fixent un maximum de 40 mg d'HMF/kg de miel, des valeurs supérieures sont révélatrices de la perte de qualité du miel.



Les valeurs obtenues pour l'hydroxyméthylefurfural se situent entre $2,30 \pm 1,27$ (M5) à $131,14 \pm 2,74$ mg/kg (M3), cet intervalle se diffère de celui rapporté par Doukani *et al.* (2014) (5,3- 55,29 mg/kg) et Bettar *et al.* (2015) (2,54- 85,48 mg/kg) sur les miels algériens.

D'après ces analyses, il existe 2 miels qui ne répondent pas à la limite maximale du taux d'HMF, il s'agit du miel M2 ($112,57 \pm 2,16$ mg/kg) et M3 ($131,53 \pm 2,74$ mg/kg) récoltés de la région d'Akbou, ils diffèrent significativement des autres échantillons dont le taux ne dépasse pas 31,99 mg/kg. Permettant ainsi de suggérer que la teneur en HMF est influencée soit par la température de stockage qui peut être élevée, soit par la nature et la concentration des sucres qui se présentent en sein de ces miels ou par leur surchauffage. Néanmoins, les autres miels analysés sont de bonne qualité et conformes à la législation.

III.2.6- Pouvoir rotatoire

Il existe dans la nature deux types de substances actives faisant varier le plan de polarisation: les substances dextrogyres, qui font tourner ce plan vers la droite et les substances lévogyres, qui font le tourner vers la gauche. Cette propriété est attribuée aux sucres qui sont optiquement active grâce à leur structure (Lazarević *et al.*, 2012). Chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de glucides. Cependant, près de 70 % de la composition totale en glucides est dominée par le glucose et le fructose.

Les valeurs du pouvoir rotatoire obtenus des quatre échantillons analysés variés de $-5,21 \pm 0,03$ (M5) à $-7,14 \pm 0,01$ (M9). Ces résultats entre dans l'intervalle rapporté par Ouchemoukh, (2012) qui est entre $-0,80 \pm 0,03$ à $-8,04 \pm 0,13$.

Tous les miels analysés sont lévogyres. Le miel M9 est très lévogyre qui se distinct de celui de M5 qui dévie peu la lumière polarisée. D'après les analyses statistiques, il existe une différence significative entre les valeurs du pouvoir rotatoire obtenus pour les miels M6 et M8 : $-6,93$ et $-6,32$, respectivement.

D'après Bogdanov *et al.*, (2004), les miels de miellat sont, en général, dextrogyres en raison de sa forte teneur en oligosaccharides, alors que les miels de nectar, qui sont riches en fructose, sont lévogyres. Donc, ce qui confirme que ces échantillons sont des miels de nectar.



III. 2.7- Protéines

Les teneurs en protéines des miels analysés varient de $9,23 \pm 0,30$ à $75,60 \pm 1,58$ mg EBSA/100g pour les miels M9 et M4, respectivement avec une moyenne de $40,17 \pm 1,42$ mg EBSA/100g.

La comparaison des ces teneurs à celle qui sont rapportées par Chefrou *et al.* (2007) (220-960 mg/100 g) et Ouchemoukh (2012) (45,26 à 251,27 mg/100g), pour les miels algériens, montrent que les échantillons étudiés ont un taux faible en protéines.

D'après les analyses statistiques des teneurs en protéines des variétés de miel étudiés révèlent qu'il existe une différence hautement significative entre ces échantillons analysés ($p < 0,01$): M4 (75,60 mg EBSA/100g) > M7 (67,04 mg EBSA/100g) > M3 (52,80 mg EBSA/100g) > M2 (42,41 mg EBSA/100g) > M1 (37,56 mg EBSA/100g) > M6 (33,18 mg EBSA/100g) > M5 (27,41 mg EBSA) > M8 (16,30 mg EBSA/100g) > M9 (9,23 mg EBSA/100g). Cette différence peut s'expliquer par la source des protéines, qui proviennent de grains de pollens, du nectar et de sécrétions de l'abeille ouvrière. Ces facteurs dépendent aussi de l'origine florale du miel et de la force de colonies d'abeilles.

III.2.8 - Proline

La proline est un acide aminé libre le plus majoritaire dans le miel et il provient du pollen que l'abeille consomme. La détermination de sa teneur donne des informations sur la 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 180 mg/kg (Codex Alimentaire, 2001). Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification.

La teneur en proline de nos échantillons varie de $274,35 \pm 32,64$ (M6) à $628,05 \pm 5,33$ (M4) avec une moyenne de $484,69 \pm 14,15$ mg/kg, indiquant que ces miels sont mûrs et authentiques. Le miel M4 est le plus riche en cet iminoacide et la teneur obtenue diffère significativement de celle des autres miels. L'analyse de la variance montre aussi qu'il n'existe aucune différence significative dans la concentration en proline entre le miel M1 d'Akbou et celui d'Akfadou (M7), ainsi entre les miels M9 ($435,20 \pm 29,44$ mg/kg) et M3 ($424,11 \pm 13,45$ mg/kg). Ces valeurs obtenues entre dans l'intervalle rapporté par Ouchemoukh 2012 ($302,33 \pm 2,52$ à $1420,07 \pm 16,5$ mg/kg). Ces résultats distincts peuvent

s'expliquer par la force de la colonie d'abeilles et à la source florale visitée par celle-ci (Ouchemoukh, 2012).

III.3- ANTIOXYDANT ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE

III.3.1- Antioxydants

III.3.1.1- Teneur en composés phénolique totaux

Le miel contient un nombre important en composés phénoliques, ces derniers bénéficient à l'heure actuelle d'une réputation grandissante en ce qui concerne leurs propriétés fonctionnelles notamment leurs capacités antioxydantes.

Les taux des composés phénoliques totaux des différents miels analysés oscillent entre $48,41 \pm 1,13$ (M6) à $117,57 \pm 0,57$ mg EAG/100g (M4), ils sont similaires à ceux de Wilczynska (2014) (40,5 à 177 mg EAG/100g), supérieurs à ceux trouvés par Perna *et al.* (2013) (10,65 à 15,05 mg EAG/100g) sur les miels de sud de l'Italie mais également inférieurs aux résultats de Doukani *et al.* (2014) (166,11 à 427,14 mg EAG/100g) pour les miels Algériens.

D'après ces analyses, le miel M4 récolté à Akbou enregistre une teneur la plus élevée en composés phénoliques qui diffère significativement des autres miels analysés. Les miels M1 et M3 issus de la même région enregistrent la même teneur en polyphénols et qui est identique à celle du miel M7: $105,68 \pm 2,57$, $100,56 \pm 8,24$ et $106,66 \pm 8,24$ mg EAG/100g, respectivement. On outre, les miels de Kherrata (M5 et M9) et Bouandass (M6) ont une teneur qui est significativement identique mais qui est assez faible, en comparant aux autres miels analysés. Cette variation prouve que le taux des polyphénols varie en fonction de la source florale du miel ainsi que dans une moindre mesure, des conditions climatiques et géographiques.

III.3.1.2- Teneur en flavonoïdes

Le miel est une source alimentaire d'antioxydant notamment les flavonoïdes. Ces composés complexes sont à l'origine de la couleur du miel et de son activité antioxydante (Amiot *et al.*, 1989).



Les teneurs des miels en flavonoïdes varient de 9,21 (M5) à 33,70 mg EC/100 g (M4), avec une moyenne de $18,21 \pm 0,82$ mg EC/100 g. Ces résultats entrent dans l'intervalle obtenu par Ouchemoukh (2012) (0,30 à 35,61 mg EQ/100 g) et supérieur à celui de Khalil *et al.* 2012 (2,70 à 7,17 mg/100 g).

Le miel M4 est le plus riche en flavonoïdes dont la teneur est de: 33,70 mg EC/100g suivi par le miel M7 avec une teneur de 29,37 mg EC/100 g. Ces teneurs se diffèrent significativement de celles des autres échantillons de miel analysés. Les miels M1 et M2 récoltés à Akbou ne présentent aucune différence significative dans la concentration des flavonoïdes. De même pour les échantillons M5 et M9 dont la teneur en ce composé est de : 9,21 mg EC/100g et 10,68 mg EC/100g, respectivement.

III.3.2- Activité antioxydante

III.3.2.1- Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur présente la capacité du miel à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Elle est en relation avec la teneur du miel en différents composés phénoliques (Ouchemoukh, 2012).

Les échantillons de miel analysés enregistrent un pouvoir réducteur dans l'intervalle allant de 21,69 (M5) à 50,96 mg EAG/100g (M4) avec une moyenne de $31,73 \pm 0,47$ mg EAG/100g.

Le miel M4 a la plus forte activité antioxydante avec une valeur de 50,96 mg EAG/100g, ceci pourrait s'expliquer par sa forte teneur en polyphénols. Les échantillons M6 (25,04 mg EAG/100g) et M9 (24,68 mg EAG/100g) ne présentent aucune différence significative dans leur capacité réductrice, présentant ainsi une valeur qui est assez faible en comparant à celui de l'échantillon M4. Ceci étant probablement dû à leur teneur en phénols totaux qui est différente. Par ailleurs, les valeurs du pouvoir réducteur des miels restant sont classés comme suit: M3 (41,44 mg EAG/100g) > M2 (34,90 mg EAG/100g) > M1 (31,72 mg EAG/100g) > M7 (28,26 mg EAG/100g) > M8 (26,90 mg EAG/100g) > M5 (21,69 mg EAG/100g).

III.3.2.2- Test de FRAP

D'après les analyses, les valeurs d'activité antioxydante des échantillons de miel étudiés varient de $16,62 \pm 3,49$ (M9) à $253,76 \pm 7,97$ mg EAG/100 g (M7). Cet intervalle est



similaire à celui de Doukani *et al.* (2014) (8,30 à 240 mg EAG/100 g) mais supérieur à celui qui est rapporté par Ouchemoukh (2012), réalisé sur les miels Algériens. En effet, l'échantillon M7 de la région d'Akfadou présente le meilleur pouvoir antioxydant (253,75 mg EAG/100 g), qui diffère d'une manière hautement significative de celui de reste des miels analysés. Ces échantillons peuvent être classés comme suit : M7 (253,76 mg EAG/100g) > M4 (184,32 mg EAG/100g) > M3 (150,66 mg EAG/100g) > M6 (117,59 mg EAG/100g) > M1 (109,44 mg EAG/100g) > M2 (71,53 mg EAG/100g) > M8 (72,38 mg EAG/100g) > M5 (54,88 mg EAG/100g) > M9 (16,68 mg EAG/100g).

La différence entre les valeurs du pouvoir antioxydant des miels analysés peut s'expliquer par la nature des composés antioxydants contenant dans ces différents miels. En effet, l'activité antioxydante du miel est attribuée à la nature quantitative et qualitative de leur contenu en phénols (Beretta *et al.*, 2005).

III.3.3 - Activité antiradicalaire

III.3.3.1- DPPH

Le DPPH est un radical stable utilisé pour évaluer le potentiel antioxydant des molécules biologiques, notamment ceux du miel. C'est un test qui est couramment utilisé, rapide et facile à réaliser.

L'activité antiradicalaire des différents miels étudiés varie de $29,73 \pm 0,47$ (M5) à $84,84 \pm 0,18$ % (M8). Ces résultats sont inclus dans l'intervalle rapporté par Ouchemoukh (2012) et ils diffèrent de celui de Doukani *et al.* (2014) ce qui témoigne que ces miels analysés possèdent le pouvoir de céder des protons et/ou des électrons. D'après les analyses statistiques, la meilleure activité antiradicalaire est enregistrée pour le miel M8 suivi de celui qui est issu de la région d'Akfadou (M7) avec un pourcentage d'inhibition de 83,64 %. La valeur la moins élevée pour le pourcentage d'inhibition est de 29,73 % pour le miel M5 qui ne se distingue pas de point de vue statistique de celui de M6 ($30,25 \pm 0,90$ %), récoltés dans des régions proches. L'activité antiradicalaire des autres échantillons se présente comme suit : $83,46$ % (M4) > $81,42$ % (M1) = $81,28$ % (M9) > $41,65$ % (M3) > $34,64$ % (M2).

Cette différence en ce qui concerne la capacité de la réduction du radical DPPH est probablement due à la composition chimique des miels analysés, elle-même dépend de la diversité de l'origine botanique de ces échantillons. En effet, les miels qui sont riches en



composés phénoliques et en flavonoïdes ont une forte capacité de piger les radicaux libres et donc une activité antioxydante élevée.

III.3.3.2- L'ABTS

Le test d'ABTS est l'une des méthodes qui permet de déduire le potentiel antioxydant du miel. Cette technique est basée sur la neutralisation d'un radical cationique ABTS^{•+} et le réduire en sa forme neutre ABTS (Sochor *et al.*, 2010).

Le pourcentage d'inhibition de nos échantillons varie de 76,57 à 88,77 % avec une moyenne de $82,72 \pm 0,58$ %, Ces résultats sont distincts de ceux rapportés par Isla *et al.* (2011) et Habib *et al.* (2014): 65 à 80 % et 40 à 80 %, respectivement.

L'échantillon M8 récolté à seddouk présente le plus grand pouvoir d'inhibition par rapport à ceux des autres miels analysés ($88,77 \pm 1,57$ %), tandis que M6 à la faible capacité. En dépit que les miels M4 et M7 possèdent des origines différentes mais ils ont le même pouvoir antioxydant de point de vu statistique : $86,35 \pm 0,96$ et $86,60 \pm 0,30$ %, respectivement. L'analyse de la variance montre une différence significative entre les différents pouvoirs d'inhibitions des miels analysés et ils sont classés comme suit : 88,77 % (M8) > 86,60 % (M7) > 86,35 % (M4) > 83,99 % (M3) > 82,25 % (M2) > 80,81 % (M9) > 79,83 % (M1) > 79,31 (M5) > 76,57 % (M6).

L'activité antioxydante des miels naturels dépend en grande partie de leur composition qualitative en composés phénoliques mais aussi de leur constitution en enzymes et en acides aminés (Khalil *et al.*, 2012).

III.4- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

L'activité antibactérienne est réalisée sur 9 échantillons de miel. L'évaluation de l'activité antibactérienne est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition des différents échantillons de miel (en se référant aux halos d'inhibition obtenus par le test d'antibiogramme) et par la détermination de la CMI.

Les résultats obtenus de la méthode de diffusion en gélose

Les résultats montrent que deux souches bactériennes sont affectées (*Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*) par les différents miels examinés. Les diamètres des zones d'inhibitions varient entre $20,00 \pm 1,00$ (M9) à $30,33 \pm 0,58$ mm (M4) pour *Staphylococcus aureus* et $8,33 \pm 0,58$ (M7 et M1) à $10,33 \pm 0,58$ mm (M2) pour *Klebsiella pneumoniae*, tandis qu'*Echerichia coli* se trouve qu'elle est résistante. Ces résultats sont résumés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Effet inhibiteur des différents types du miel sur la croissance des 3 souches bactériennes.

Echantillon	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
M1	$24,67 \pm 0,58^b$	0	$8,33 \pm 0,58^d$
M2	$25,67 \pm 1,15^b$	0	$10,33 \pm 0,58^a$
M3	$26,33 \pm 2,08^b$	0	9 ± 0^{bcd}
M4	$30,33 \pm 0,58^a$	0	$8,67 \pm 0,58^{cd}$
M5	$24,00 \pm 2,00^b$	0	9 ± 0^{bcd}
M6	$23,67 \pm 2,52^b$	0	$9,33 \pm 0,58^{bc}$
M7	$23,67 \pm 2,08^b$	0	$8,33 \pm 0,58^d$
M8	$23,67 \pm 2,52^b$	0	$9,67 \pm 0,58^{ab}$
M9	$20 \pm 1,00^c$	0	$9,33 \pm 0,58^{bc}$

La meilleure activité inhibitrice de *S. aureus* est marquée pour l'échantillon M4, tandis que les autres échantillons de miels, aucune différence significative dans les diamètres des zones d'inhibition n'a été constatée, à l'exception faite pour le miel M9 qui présente l'inhibition minimale avec 20 mm. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Voidarou *et al.* (2011) (0,9 à 12,88 mm).

Le diamètre d'inhibition maximal pour la souche *klebsiella pneumoniae* est observé avec le miel M2, alors que celui des autres miels ils sont classés comme suit : M2 > M8 > M9 = M6 > M5 = M3 > M4 > M7 = M1, avec une moyenne $9,11 \pm 0,45$ mm.

Les résultats obtenus de la méthode de microplaques

Les CMI des différents échantillons de miel sont estimées à l'œil nu par le principe de la présence ou non d'un précipite. Les données relatives à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'activité antimicrobienne du miel vis-à-vis des trois souches bactériennes sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau IX: Concentration minimale inhibitrice du miel (mg/ml) pour chaque souche bactérienne

Miel/Souche	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
M1	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	1000≤CMI>500
M2	500≤CMI>250	125≤CMI>63	CMI>1000
M3	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	1000≤CMI>500
M4	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	1000≤CMI>500
M5	1000≤CMI>500	CMI>1000	1000≤CMI>500
M6	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	CMI>1000
M7	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	1000≤CMI>500
M8	1000≤CMI>500	125≤CMI>63	1000≤CMI>500

Il en résulte que toutes les souches ont été affectées par les miels et que le degré d'inhibition de leur croissance varie en fonction de la souche bactérienne considérée. En ce qui concerne les bactéries Gram + (*S. aureus*), l'intervalle des CMI varie de 63 à 1000 mg/ml.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Miorin *et al.* 2003 (126,23-185,70 mg/ml) et ceux obtenus par Bueno-Costa *et al.* 2016 (10-250 mg/kg) pour le miel Brésilien.

Par contre, pour les bactéries de Gram-, elle oscille entre 250 à 500 mg/ml pour *E. coli* (Figure 04) et de 500 à 1000 mg/ml pour *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats d'*E. coli* sont supérieurs à ceux rapportés par Manisha Deb et Shyamapada. (2011) pour le miel Egyptien (100 mg/ml).

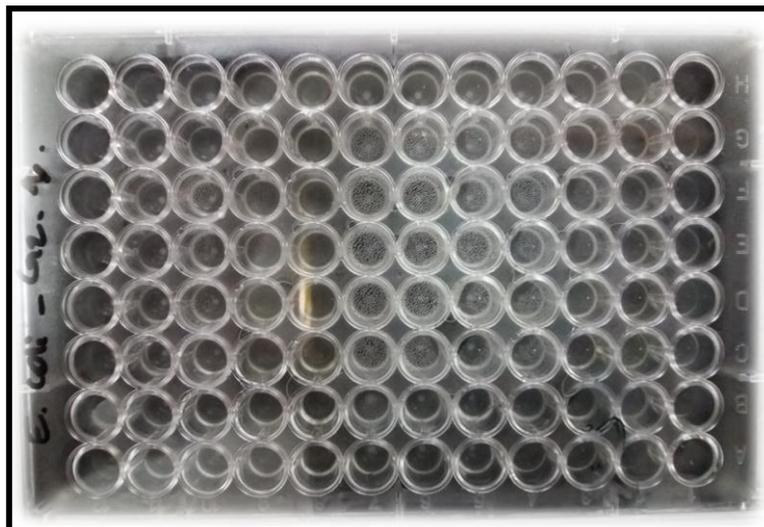


Figure 04 : Photographie des résultats obtenus du test de CMI d'*E. coli*.

En général, l'action du miel naturel sur les bactéries est due d'une part à la structure de la paroi de la souche bactérienne ciblée (des grams négatives ou positives), et d'autre part à sa composition chimique: l'acidité, le taux du peroxyde d'hydrogène et celui de la catalase et de glucose oxydase ainsi que la qualité et la quantité des composés phénoliques (Weston, 2000).

III.5- CORRELATIONS

III.5.1- Corrélations paramètres physico-chimiques et les antioxydants

D'après les analyses statistiques effectuées sur les résultats obtenus, il existe une corrélation très hautement significative et hautement significative entre la conductivité électrique et l'activité antioxydante, observée sur ces deux tests : DPPH ($r = 0,55$) et l'ABTS ($r = 0,73$) (Figure 01 et 02 respectivement, annexe IV).

L'analyse statistique révèle également l'existence d'une corrélation très hautement significative entre la teneur en protéines et l'activité antioxydante ($r = 0,89$ avec FRAP et $r = 0,73$ avec pouvoir réducteur (Figure 03 annexe IV, 04 annexe V, respectivement). Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Alvarez-Suarez *et al.* (2010) ($r = 0,34$ entre les protéines et le test de FRAP). Ces données témoignent que l'activité antioxydante des miels dépend de sa teneur en protéines, plus cette teneur est élevée plus le potentiel oxydant des miels est important.

La teneur en protéines manifeste une corrélation très hautement significative avec les flavonoïdes ($r = 0,91$) (Figure 05, Annexe V).

III.5.2- Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

Les taux en antioxydants et les activités antioxydantes des miels analysés enregistrent des corrélations positives. Les concentrations en phénols totaux présentent une corrélation linéaire très hautement significative avec FRAP et le pouvoir réducteur dont les coefficients de corrélations sont: $r = 0,71$ et $r = 0,78$ respectivement (Figure 06,07, annexe VI). Ces résultats sont supérieurs à ceux de Perna *et al.* (2013) qui ont rapporté un coefficient de corrélation $r = 0,42$ entre les composées phénoliques et le test de FRAP, mais confirmant aussi les résultats de Ouchemoukh. (2012) entre les composées phénoliques et le pouvoir réducteur ($r = 0,73$).

De même, cette analyse de la variance montre aussi des expressions très hautement significative entre les flavonoïdes et le test de FRAP ($r = 0,89$), ainsi avec le pouvoir réducteur ($r = 0,69$) (Figure 08 annexe VI, 09 annexe VII). Ces coefficients de corrélations sont en accord à ceux obtenus par Ouchemoukh (2012) en ce qui concerne le pouvoir réducteur ($r = 0,70$), et avec Perna *et al.* (2013) pour FRAP ($r = 0,76$).

En outre, il existe une très forte corrélation ($p < 0,001$) entre les phénols totaux et les flavonoïdes des miels analysés ($r = 0,72$) (Figure 10, annexe VII). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Alvarez-Suarez *et al.* (2010) ($r = 0,83$) et avec ceux de Al *et al.* (2009) ($r = 0,84$).

Une autre corrélation qui est très hautement significative ($r = 0,64$) est enregistrée entre le pouvoir rotatoire et le test de FRAP (Figure 11, annexe VII).

Cette forte corrélation obtenue entre les antioxydants et l'activité antioxydante confirme les résultats de plusieurs auteurs, réalisés sur une grande variété de miels récoltés dans différentes régions du monde. La capacité antioxydante d'un miel résulte de l'activité d'une large gamme de composées naturels dont les acides phénoliques et les flavonoïdes.

III.5.3- Corrélations activités antibactériennes, paramètres physico-chimiques, les antioxydants et l'activité antioxydante

L'activité inhibitrice de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* présente une corrélation très hautement significative avec la teneur en protéines des miels ($r = 0,67$) (Figure 12, annexe VIII), de même avec le pouvoir rotatoire ($p < 0,01$) qui enregistre un coefficient de corrélation $r = 0,66$ (Figure 13, annexe VIII). De plus elle présente aussi une



corrélation avec les antioxydants, une est hautement significative avec les flavonoïdes ($r = 0,56$) et une autre très hautement significative avec les phénols totaux ($r = 0,60$) (Figure 14 annexe VIII, 15 annexe IX, respectivement)

L'effet antibactérien du miel peut partiellement s'expliquer par son contenu important en enzymes notamment le glucose oxydase qui active la transformation de glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène mais aussi à d'autres inhibines dites non peroxydes tels que: les polyphénols et les acides aromatiques (Manyi-Loh *et al.*, 2010 ; Escuredo *et al.*, 2012).

Le pouvoir réducteur manifeste aussi une corrélation qui est très hautement significative avec l'activité antibactérienne ($r = 0,77$ pour *S. aureus*) (Figure 16, annexe IX).

III.5.4-Analyses en composantes principales (ACP)

L'ACP est une technique d'analyse qui permet de mieux visualiser les corrélations entre les paramètres, les échantillons d'une part et les paramètres avec les échantillons d'autre part.

D'après le graphe du poids factoriel, les paramètres suivants : les phénols, les flavonoïdes, le pouvoir réducteur, le FRAP, le pouvoir rotatoire, les teneurs en protéines ainsi que les zones d'inhibition de *S. aureus* forment un seul groupe très lié. En effet, la matrice de corrélation confirme aussi des corrélations hautement significatives existant entre ces variables. Cette corrélation témoigne que l'élévation du taux des antioxydants conditionne l'activité antioxydante ainsi que l'activité antibactérienne des miels analysés.

En outre, le groupe : conductivité électrique, DPPH, ABTS et la teneur en proline montre aussi une corrélation. L'analyse statistique révèle l'existence d'une corrélation très hautement significative entre ces paramètres. Plus la conductivité électrique est élevée, plus l'activité antioxydante est meilleure. En effet, la CE enregistre une corrélation hautement significative avec le DPPH et l'ABTS. Des chercheurs ont montré que la proline exerce une activité antioxydante (Meda *et al.*, 2005), ceci est d'ailleurs démontré sur le graphe de l'ACP.

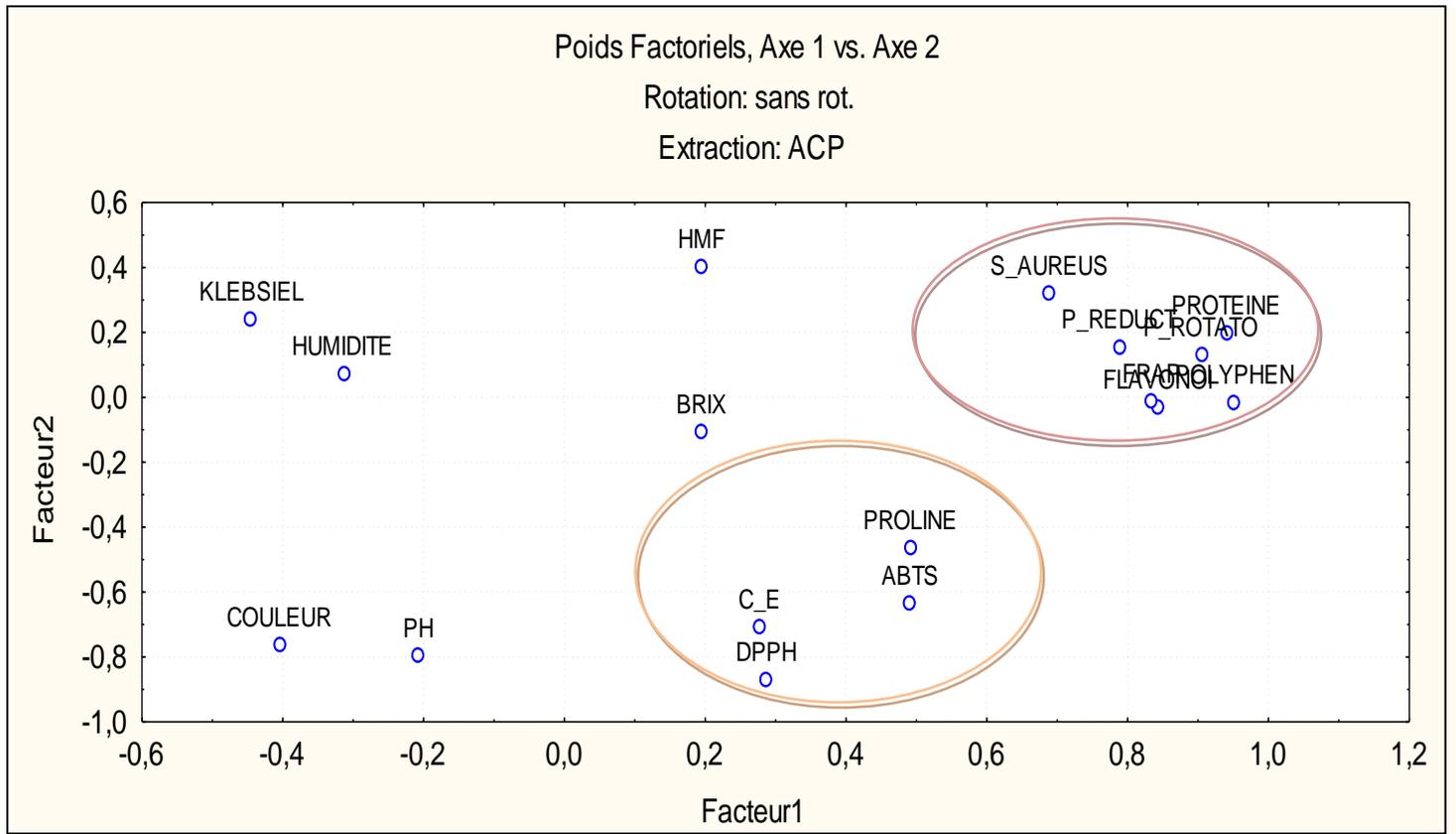


Figure 05: Tracé des poids factoriels (cercle de corrélation) des relations simultanées entre les paramètres analysés.



*CONCLUSION
ET PERSPECTIVES*



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude est menée dans le cadre de l'évaluation de la qualité de 9 échantillons de miel, récoltés dans différentes régions de la wilaya du Bejaia en se basant sur l'analyse de quelques paramètres physico-chimiques, pollinique ainsi que certaines activités antioxydantes et antibactériennes.

Les différents paramètres étudiés montrent que tous les échantillons de miel sont conformes aux normes proposées par la commission du Codex Alimentarius, que la plupart d'entre eux sont des miels frais, d'après leurs teneurs en HMF. Mais aussi qu'ils ne sont pas falsifiés suite aux résultats des teneurs en proline et l'analyse pollinique. Toutefois, la récolte trop précoce ou la conservation non contrôlée du miel conduisent parfois à l'obtention d'un produit de qualité inférieur, ce qui est indispensable de prendre soin.

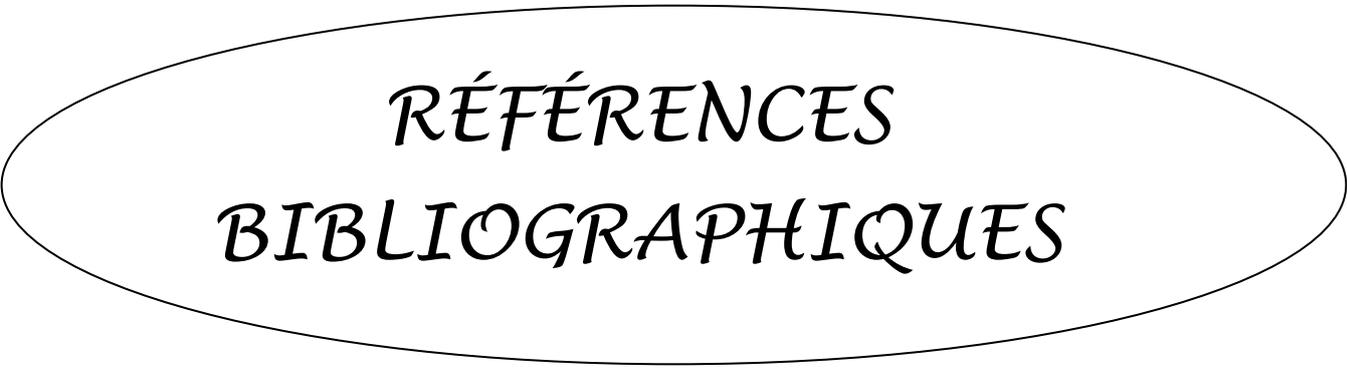
Trois échantillons de miel sont des miels polyfloraux (M1 et M2 récoltés à Akbou et le miel M9 issu de kherrata) et que les deux autres sont des miels monofloraux (M6 de bouandass et M7 d'akfadou). Ceci indique la diversité florale de ces régions. Pour ce qui est de l'activité antibactérienne, la présente étude confirme que chaque miel analysé exerce une certaine inhibition pour les différentes bactéries testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*).

La matrice de corrélation a révélé la présence de plusieurs corrélations existant entre les paramètres physicochimiques, les antioxydants et l'activité antioxydante : conductivité électrique avec l'ABTS ($r= 0,73$) et avec DPPH ($r= 0,55$), flavonoïdes avec le test de FRAP ($r= 0,89$).

En perspective, il convient de poursuivre ces recherches par :

- ✚ La détermination des contaminants de miel tels que les métaux lourds et les antibiotiques afin de mieux comprendre l'influence de l'environnement sur la qualité du miel.
- ✚ L'identification et la quantification des différents glucides contenant dans le miel.
- ✚ L'évaluation de l'activité antibactérienne sur une plus large gamme de bactéries pathogènes et résistantes
- ✚ La réalisation des tests *in vivo* afin d'évaluer les différents effets thérapeutiques du miel.

Il sera intéressant aussi de poursuivre ce travail sur tout le territoire national afin de créer une réglementation (législation) propre aux miels de notre pays.



*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*



A

- ✚ **Achour, H.Y. et Khali, M. (2014).** Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Science*, 10(2): 127 – 136.
- ✚ **Acquarone, C., Buera, P. et Elizalde, B. (2007).** Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*, 101: 695–703.
- ✚ **Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. et Bogdanov, S. (2009).** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112: 863-867.
- ✚ **Aljadi, A.M. et Kamaruddin, M.Y. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85: 513–518.
- ✚ **Al-Mamary, M., Al-Meerri, A. et Al-Habori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.
- ✚ **Alvarez, L.M. (2010).** Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p.
- ✚ **Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. et Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- ✚ **Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M. et Tacchini, M. (1989).** Les composés phénoliques des miels: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20 (2): 115-125.
- ✚ **Azeredo, L.D.C., Azeredo, M.A.A., Souza, S.R. et Dutra, V.M.L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80:249–254.

B

- ✚ **Bath, P.K. et Singh, N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.
- ✚ **Belay, A., Solomon, W.K., Bultona, G., Adgaba, N. et Melaku, S. (2013).** Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.



- ✚ **Benhanifia, M.B., Boukraâ, L., Hammoudi, S.M., Sulaiman, S.A. et Manivannan, L. (2011).** Recent Patents on Topical Application of Honey in Wound and Burn management. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 5:1.
- ✚ **Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. et Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533: 185-191.
- ✚ **Bettar, I., González-Miret, M.L., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia, F.J. et Terrab, A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry*.
- ✚ **Bogdanov, S., Martin, P., Lüllman, C., Borneck, R., Morlot, M., Heritier, J., Vorwohl, G., Russmann, H., Persano-Oddo, L., Sabatini, A.G., et al. (1997).** Harmonised methods of the european honey commission. *Apidologie*, 1-59.
- ✚ **Bogdanov, S., Ruoff, K. et Persano Oddo, L. (2004).** Physico-chemical methods for characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4-17.
- ✚ **Bradford, M.M. (1976).** Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- ✚ **Bueno-Costa, F.M., Zambiazzi, R.C., Bohmer, B.W., Chaves, F.C., Silva, W.P.D., Zanusso, J.T. et Dutra, L. (2016).** Antibacterial and antioxydant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT – Food Science and Technology*, 65: 333-340.

C

- ✚ **Cavia, M.M., Fernandez-Muino, M.A., Alonso-Torre, S.R., Huidobro, J.F. et Sancho, M.T. (2007).** Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100: 1728–1733.
- ✚ **Chefrour, A., Battesti, M.J., Ait, K. and Tahar, A. (2007).** Melissopalynologic and physicochemical analysis of some north-east Algerian honeys. *European Journal of Scientific Research*, 18: 389-401.
- ✚ **Chipuk, J.E. et Green, D.R. (2006).** Dissecting p53-dependent apoptosis. *Cell Death and Differentiation*, 13: 994–1002.
- ✚ **Clément, H. (2014).** Créer son rucher. Editions Rustica, Paris, 111p.
- ✚ **Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). (2015).** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically ; Approved Standard, 10th Edition document M07-A10.



- ✚ **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015).** Performance Standards for antimicrobial Disque Susceptibility Tests ; approved Standard, 12th Edition document M02-A12.
- ✚ **Codex Alimentarius Commission. (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12:1-7.
- ✚ **Commission Européenne (2002).** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10, 47-52.

D

- ✚ **Da Silva, M.P., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C. et Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196: 309-323.
- ✚ **Das, A., Datta, S., Mukherjee, S., Bose, S., Ghosh, S. et Dhar, P. (2015).** Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *Food Science and Technologie*, 61: 244-250.
- ✚ **Descottes, B. (2009).** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. *Phytothérapie*, 7: 112–116.
- ✚ **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A. et Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*, 10: 1112-5888.

E

- ✚ **Ediriweera, E.R.H.S.S. et Premarathna, N.Y.S. (2012).** Medicinal and cosmetic uses of Bee's honey. *National Center for Biotechnology Information*, 33(2): 178-182.
- ✚ **Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A. et Wahab, M.S.A. (2014).** Effects of Honey and Its Mechanisms of Action on the Development and Progression of Cancer. *Molecules*, 19: 2497-2522.
- ✚ **Escuredo, O., Seijo, M.C., Salvador, J. et González-Martin, M.I. (2013).** Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, 141: 3409-3414.
- ✚ **Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G. et Pereira, E. (2008).** Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46:3774–3779.

F

- ✚ **Fahim, H., Dasti, J.I., Ali, I., Ahmed, S. et Nadeem, M. (2014).** Physico-chemical analysis and antimicrobial potential of *Apis dorsata*, *Apis mellifera* and *Ziziphus jujube* honey samples from Pakistan. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(8): 633-64.



- ✚ **Fallico, B., Zappala, M., Arena, E. et Verzera, A. (2004).** Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85: 305–313.
- ✚ **Fauzi, A.N., Norazmi, M.N. et Yaacob, N.S. (2011).** Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 871–878.
- ✚ **Finola, M.S., Lasagno, M.C. et Marioli, J.M. (2007).** Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100:1649–1653.

G

- ✚ **Gonzales, A.P., Burin, L. et Buera, M.D.P. (1999).** Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32: 185-191.

H

- ✚ **Habib, H.M., Al Meqbali, F.T., Kamal, H., Souka, U.D. et Ibrahim, W.H. (2014).** Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153: 35-43.
- ✚ **Hélène, D. (2008).** Cristallisation de miel. *abeilles & cie*, 3: 124.
- ✚ **Hoyet, C. (2005).** Le miel: De la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université Henri Poincaré – Nancy-1, p. 87.
- ✚ **Huchet, E., Julie, C. et Laurent, G. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. *Science et Medecine*, 4: 1-7.
- ✚ **Hummel, R. et Feltin, M. (2014).** Produire un miel de qualité quand on est apiculteur debutant, Syndicat des apiculteurs de Thann et environs.
- ✚ **Hussein, S.Z., Yusoff, K.M., Makpol, S. et Yusof, Y.A.M. (2013).** Gelam Honey Attenuates Carrageenan-Induced Rat Paw Inflammation via NF-Kb Pathway. *Plos one*, 8(8): 72365.

I

- ✚ **Irlande, D. (2010).** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées. 1-25.
- ✚ **Isla, M.I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V. et Maldonado, L. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1922-1930.



J

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

K

- ✚ **Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M.N., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17 (19): 11199-11215.
- ✚ **Kwakman, P.H.S. et Zaat, S.A.J. (2012).** Antibacterial Components of Honey. *IUBMB Life*, 64(1): 48–55.
- ✚ **Kwakman, P.H.S., Velde, A.A.T., B, L.D., Speijer, D., Vandenbrouche-Grauls, C.M.J.E. et Zaat, A.J.S. (2010).** How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*, 24: 2582.

L

- ✚ **Lacub, J. (2013).** L'ABC de l'apiculteur. Edition Rustica, Paris, 219p.
- ✚ **Lazarević, K.B., Andrić, F., Trifković, J., Tesić, Z. et Milojkovic-Opsenica, D. (2012).** Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132: 2060-2064.
- ✚ **Li, C-C. et Lin, E-S. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of *Areca catechu* seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46): 7831-7836.
- ✚ **Lobreau-Callen, D., Clement, M.C. et Marmion, V. (2000).** Les miels. *Les Techniques de l'Ingénieur, traité agroalimentaire*, 7000: 1-20.
- ✚ **Louveau, J. (1959).** La technologie du miel (1). Les Annales de l'Abeille, *INRA Editions*, 2 (4): 343-354.
- ✚ **Louveau, J., Maurizio, A. et Vorwohl, G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59: 139-157.

M

- ✚ **Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli-D'albore, G., Choukri, A. et Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.



- ✚ **Makhloufi, C., Kerkvliet, J. et Schweitzer, P. (2015).** Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, 54(2): 156-166.
- ✚ **Mandal, M.D. et Mandal, S. (2011).** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(2): 154-160.
- ✚ **Manyi-Loh, C.E., Clarke, A.M., Munzhelele, T., Green, E., Mkwetshana, N.F. et Ndip, R.N. (2010).** Selected South African Honeys and Their Extracts Possess *In Vitro* Anti-*Helicobacter pylori* Activity. *Archives of Medical Research*, 40: 324-331.
- ✚ **Mbogning, E., Tchoumboue, J., Damesse, F., Sobze, M.S. et Canini, A. (2011).** Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun. *Tropicultura*, 29 (3): 168-175.
- ✚ **Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. et Nacoulma, O.G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasho honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571-577.
- ✚ **Miorin, P.L., Junior, N.C.L., Custodio, A.R., Bretz, W.A. et Marcucci, M.C. (2003).** Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 95: 913-920.
- ✚ **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26 (2): 211-219.
- ✚ **Moniruzzaman, M., An, C.Y., Rao, P.V., Hawlader, M.N., Amirah, S., Bintimohd, A., Sulaiman, S.A. et Gan, S.H. (2014).** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-13.

N

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

O

- ✚ **O'Connor, O.A. (2011).** Apoptosis: from biology to therapeutic targeting. *Annals of Oncology*, 22 (4): 76-79.
- ✚ **Olaitan, P.B., Adeleke, O.E. et Ola, I.O. (2007).** Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7(3): 159-165.



✚ **Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, p.162.

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

P

✚ **Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I. et Gambacorta, E. (2013).** Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of southern Italy. *Journal of Life Sciences*, 7(4): 428-436.

✚ **Petit, N. (2012).** Le miel au secours de la médecine conventionnelle. *Santé*, 13-17.

R

✚ **Ravazzi, G. (1996).** Abeilles et apiculture. Edition De vecchi .S.A. Paris. 92p.

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

✚ **Rossant, A. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes, Thèse en vue de l'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université de Limoges, p. 132.

S

✚ **Šarić, G., Marcović, K., Major, N., Krpan, M., Uršulin-Trstenjak, N., Hruškar, M. et Vahčić, N. (2012).** Changes of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Acacia and Multifloral Honey During Storage. *Food Technol. Biotechnol.* 50 (4): 434–44.

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

✚ **Sochor, J., Rývolova, M., Krystofova, O., Salas, P., Hubalek, J., Adam, V., Trnkova, L., Havel, L., Beklova, M., Zehnalek, J., Provaznik, I. et Kizek, R. (2010).** Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules*, 15: 8618-8640.



T

- ✚ **Terrab, A., Recamales, A.F., Hernanz, D., Heredia, F.J. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 8: 537–542.

V

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

W

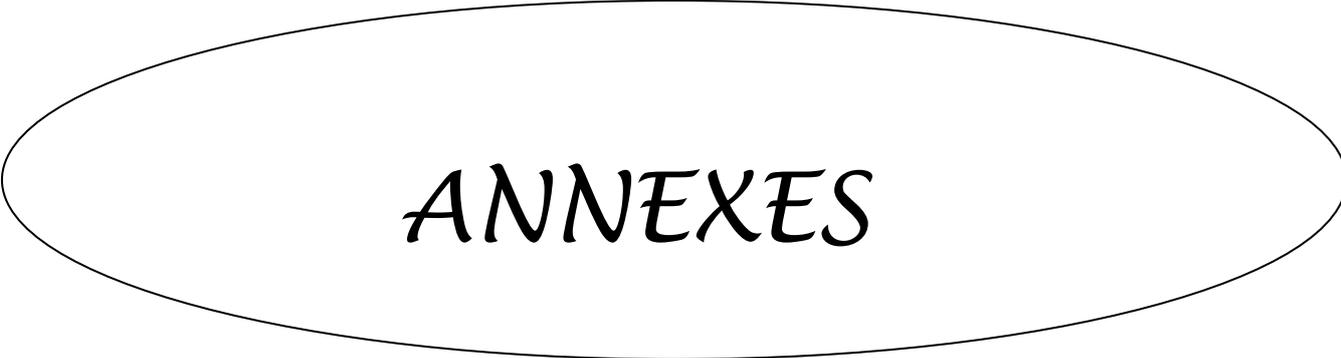
- ✚ **Wang, Y., Kim, N.S., Haince, J.-F., Kang, H., David, K.K., Andrabi, S.A., Poirier, G.G., Dawson, V.L. et Dawson, T.M. (2011).** Poly (ADP-ribose) (PAR) Binding to Apoptosis-Inducing Factor Is Critical For PAR Polymerase-1-Dependent Cell Death (Parthanatos). *Science signaling*, 4(167).
- ✚ **Weston, R.J. (2000).** The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey. *Food Chemistry*, 71, 235-239.
- ✚ **Wilczyńska, A. (2014).** Effet of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT – Food Science and Technology*, 57: 767-774.

Y

- ✚ **Yucel, Y. et Sultanoglu, P. (2013).** Characterisation of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1: 16-25.

Site internet

- ✚ **Habib, S. (2009).** La production de miel en Algérie, www.djazairress.com.
- ✚ **La catoire Fantasque (2013).** <http://www.catoire-fantasque.be/animaux/abeille/histoire-apiculture-prehistoire.html>.



ANNEXES



Table de chataway (1935)

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

Courbes d'étalonnages

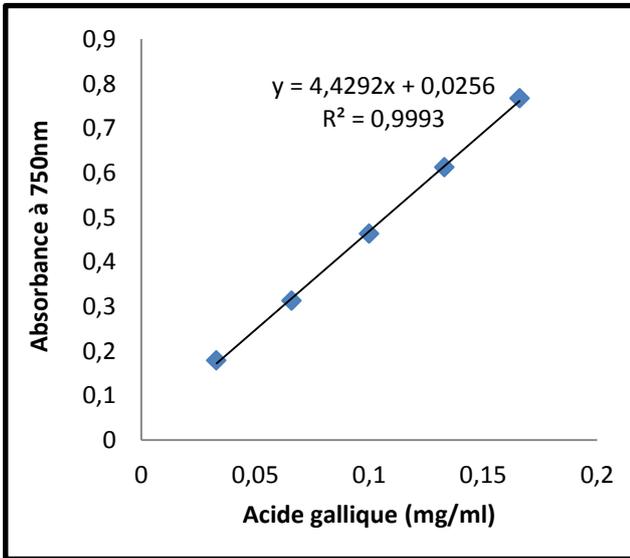


Figure01: Courbe d'étalonnage des phénols totaux.

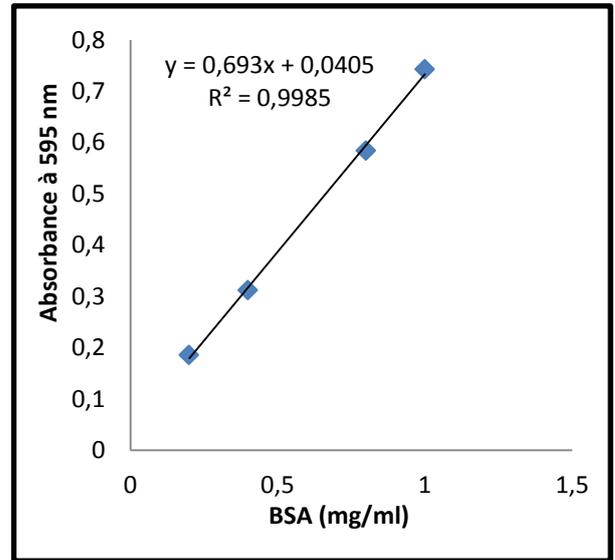


Figure 02: Courbe d'étalonnage des protéines

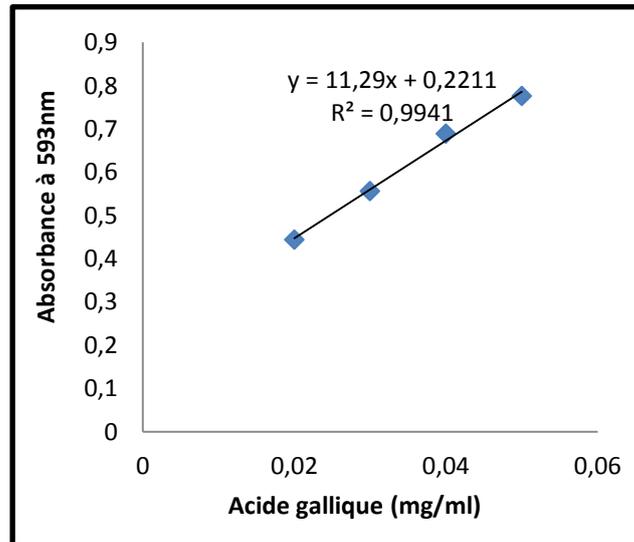


Figure 03: Courbe d'étalonnage du test FRAP.

Matrice de corrélation

Corrélations (NEW)																	
Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$																	
N=27 (Observations à VM ignorées)																	
Variable	HUMIDITE	PH	BRIX	C E	COULEUR	PROTEINE	PROLINE	HMF	POLYPHEN	FLAVONOI	DPPH	ABTS	FRAP	P REDUCT	P ROTATO	S AUREUS	KLEBSIEL
HUMIDITE	1,00	-0,26	-0,99	-0,32	0,29	-0,13	-0,15	-0,51	-0,40	0,12	0,00	-0,02	-0,19	-0,05	-0,52	0,06	0,27
PH	-0,26	1,00	0,30	0,38	0,64	-0,40	0,15	-0,19	-0,10	-0,23	0,67	0,24	-0,19	-0,22	-0,24	-0,45	-0,20
BRIX	-0,99	0,30	1,00	0,35	-0,21	0,01	0,07	0,51	0,30	-0,22	-0,02	-0,01	0,11	-0,08	0,42	-0,17	-0,23
C E	-0,32	0,38	0,35	1,00	0,43	0,10	0,39	0,09	0,30	0,13	0,55	0,73	0,19	-0,01	0,31	-0,14	-0,04
COULEUR	0,29	0,64	-0,21	0,43	1,00	-0,53	-0,01	-0,24	-0,38	-0,25	0,56	0,53	-0,37	-0,23	-0,52	-0,34	0,25
PROTEINE	-0,13	-0,40	0,01	0,10	-0,53	1,00	0,36	0,11	0,84	0,91	0,10	0,36	0,89	0,74	0,81	0,67	-0,37
PROLINE	-0,15	0,15	0,07	0,39	-0,01	0,36	1,00	-0,39	0,41	0,32	0,52	0,44	0,29	0,25	0,37	0,31	-0,49
HMF	-0,51	-0,19	0,51	0,09	-0,24	0,11	-0,39	1,00	0,32	-0,14	-0,43	0,02	-0,07	0,37	0,47	0,19	0,34
POLYPHEN	-0,40	-0,10	0,30	0,30	-0,38	0,84	0,41	0,32	1,00	0,73	0,33	0,43	0,71	0,78	0,96	0,61	-0,37
FLAVONOI	0,12	-0,23	-0,22	0,13	-0,25	0,91	0,32	-0,14	0,73	1,00	0,35	0,48	0,89	0,69	0,59	0,56	-0,39
DPPH	0,00	0,67	-0,02	0,55	0,56	0,10	0,52	-0,43	0,33	0,35	1,00	0,59	0,23	0,18	0,12	-0,03	-0,36
ABTS	-0,02	0,24	-0,01	0,73	0,53	0,36	0,44	0,02	0,43	0,48	0,59	1,00	0,39	0,42	0,32	0,27	-0,03
FRAP	-0,19	-0,19	0,11	0,19	-0,37	0,89	0,29	-0,07	0,71	0,89	0,23	0,39	1,00	0,47	0,64	0,43	-0,51
P REDUCT	-0,05	-0,22	-0,08	-0,01	-0,23	0,74	0,25	0,37	0,78	0,69	0,18	0,42	0,47	1,00	0,70	0,77	-0,13
P ROTATO	-0,52	-0,24	0,42	0,31	-0,52	0,81	0,37	0,47	0,96	0,59	0,12	0,32	0,64	0,70	1,00	0,58	-0,29
S AUREUS	0,06	-0,45	-0,17	-0,14	-0,34	0,67	0,31	0,19	0,61	0,56	-0,03	0,27	0,43	0,77	0,58	1,00	-0,10
KLEBSIEL	0,27	-0,20	-0,23	-0,04	0,25	-0,37	-0,49	0,34	-0,37	-0,39	-0,36	-0,03	-0,51	-0,13	-0,29	-0,10	1,00

Corrélations (NEW)																	
Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$																	
N=27 (Observations à VM ignorées)																	
Variable	HUMIDITE	PH	BRIX	C E	COULEUR	PROTEINE	PROLINE	HMF	POLYPHEN	FLAVONOI	DPPH	ABTS	FRAP	P REDUCT	P ROTATO	S AUREUS	KLEBSIEL
HUMIDITE	1,00	-0,26	-0,99	-0,32	0,29	-0,13	-0,15	-0,51	-0,40	0,12	0,00	-0,02	-0,19	-0,05	-0,52	0,06	0,27
PH	-0,26	1,00	0,30	0,38	0,64	-0,40	0,15	-0,19	-0,10	-0,23	0,67	0,24	-0,19	-0,22	-0,24	-0,45	-0,20
BRIX	-0,99	0,30	1,00	0,35	-0,21	0,01	0,07	0,51	0,30	-0,22	-0,02	-0,01	0,11	-0,08	0,42	-0,17	-0,23
C E	-0,32	0,38	0,35	1,00	0,43	0,10	0,39	0,09	0,30	0,13	0,55	0,73	0,19	-0,01	0,31	-0,14	-0,04
COULEUR	0,29	0,64	-0,21	0,43	1,00	-0,53	-0,01	-0,24	-0,38	-0,25	0,56	0,53	-0,37	-0,23	-0,52	-0,34	0,25
PROTEINE	-0,13	-0,40	0,01	0,10	-0,53	1,00	0,36	0,11	0,84	0,91	0,10	0,36	0,89	0,74	0,81	0,67	-0,37
PROLINE	-0,15	0,15	0,07	0,39	-0,01	0,36	1,00	-0,39	0,41	0,32	0,52	0,44	0,29	0,25	0,37	0,31	-0,49
HMF	-0,51	-0,19	0,51	0,09	-0,24	0,11	-0,39	1,00	0,32	-0,14	-0,43	0,02	-0,07	0,37	0,47	0,19	0,34
POLYPHEN	-0,40	-0,10	0,30	0,30	-0,38	0,84	0,41	0,32	1,00	0,73	0,33	0,43	0,71	0,78	0,96	0,61	-0,37
FLAVONOI	0,12	-0,23	-0,22	0,13	-0,25	0,91	0,32	-0,14	0,73	1,00	0,35	0,48	0,89	0,69	0,59	0,56	-0,39
DPPH	0,00	0,67	-0,02	0,55	0,56	0,10	0,52	-0,43	0,33	0,35	1,00	0,59	0,23	0,18	0,12	-0,03	-0,36
ABTS	-0,02	0,24	-0,01	0,73	0,53	0,36	0,44	0,02	0,43	0,48	0,59	1,00	0,39	0,42	0,32	0,27	-0,03
FRAP	-0,19	-0,19	0,11	0,19	-0,37	0,89	0,29	-0,07	0,71	0,89	0,23	0,39	1,00	0,47	0,64	0,43	-0,51
P REDUCT	-0,05	-0,22	-0,08	-0,01	-0,23	0,74	0,25	0,37	0,78	0,69	0,18	0,42	0,47	1,00	0,70	0,77	-0,13
P ROTATO	-0,52	-0,24	0,42	0,31	-0,52	0,81	0,37	0,47	0,96	0,59	0,12	0,32	0,64	0,70	1,00	0,58	-0,29
S AUREUS	0,06	-0,45	-0,17	-0,14	-0,34	0,67	0,31	0,19	0,61	0,56	-0,03	0,27	0,43	0,77	0,58	1,00	-0,10
KLEBSIEL	0,27	-0,20	-0,23	-0,04	0,25	-0,37	-0,49	0,34	-0,37	-0,39	-0,36	-0,03	-0,51	-0,13	-0,29	-0,10	1,00

Corrélations (NEW)																	
Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$																	
N=27 (Observations à VM ignorées)																	
Variable	HUMIDITE	PH	BRIX	C E	COULEUR	PROTEINE	PROLINE	HMF	POLYPHEN	FLAVONOI	DPPH	ABTS	FRAP	P REDUCT	P ROTATO	S AUREUS	KLEBSIEL
HUMIDITE	1,00	-0,26	-0,99	-0,32	0,29	-0,13	-0,15	-0,51	-0,40	0,12	0,00	-0,02	-0,19	-0,05	-0,52	0,06	0,27
PH	-0,26	1,00	0,30	0,38	0,64	-0,40	0,15	-0,19	-0,10	-0,23	0,67	0,24	-0,19	-0,22	-0,24	-0,45	-0,20
BRIX	-0,99	0,30	1,00	0,35	-0,21	0,01	0,07	0,51	0,30	-0,22	-0,02	-0,01	0,11	-0,08	0,42	-0,17	-0,23
C E	-0,32	0,38	0,35	1,00	0,43	0,10	0,39	0,09	0,30	0,13	0,55	0,73	0,19	-0,01	0,31	-0,14	-0,04
COULEUR	0,29	0,64	-0,21	0,43	1,00	-0,53	-0,01	-0,24	-0,38	-0,25	0,56	0,53	-0,37	-0,23	-0,52	-0,34	0,25
PROTEINE	-0,13	-0,40	0,01	0,10	-0,53	1,00	0,36	0,11	0,84	0,91	0,10	0,36	0,89	0,74	0,81	0,67	-0,37
PROLINE	-0,15	0,15	0,07	0,39	-0,01	0,36	1,00	-0,39	0,41	0,32	0,52	0,44	0,29	0,25	0,37	0,31	-0,49
HMF	-0,51	-0,19	0,51	0,09	-0,24	0,11	-0,39	1,00	0,32	-0,14	-0,43	0,02	-0,07	0,37	0,47	0,19	0,34
POLYPHEN	-0,40	-0,10	0,30	0,30	-0,38	0,84	0,41	0,32	1,00	0,73	0,33	0,43	0,71	0,78	0,96	0,61	-0,37
FLAVONOI	0,12	-0,23	-0,22	0,13	-0,25	0,91	0,32	-0,14	0,73	1,00	0,35	0,48	0,89	0,69	0,59	0,56	-0,39
DPPH	0,00	0,67	-0,02	0,55	0,56	0,10	0,52	-0,43	0,33	0,35	1,00	0,59	0,23	0,18	0,12	-0,03	-0,36
ABTS	-0,02	0,24	-0,01	0,73	0,53	0,36	0,44	0,02	0,43	0,48	0,59	1,00	0,39	0,42	0,32	0,27	-0,03
FRAP	-0,19	-0,19	0,11	0,19	-0,37	0,89	0,29	-0,07	0,71	0,89	0,23	0,39	1,00	0,47	0,64	0,43	-0,51
P REDUCT	-0,05	-0,22	-0,08	-0,01	-0,23	0,74	0,25	0,37	0,78	0,69	0,18	0,42	0,47	1,00	0,70	0,77	-0,13
P ROTATO	-0,52	-0,24	0,42	0,31	-0,52	0,81	0,37	0,47	0,96	0,59	0,12	0,32	0,64	0,70	1,00	0,58	-0,29
S AUREUS	0,06	-0,45	-0,17	-0,14	-0,34	0,67	0,31	0,19	0,61	0,56	-0,03	0,27	0,43	0,77	0,58	1,00	-0,10
KLEBSIEL	0,27	-0,20	-0,23	-0,04	0,25	-0,37	-0,49	0,34	-0,37	-0,39	-0,36	-0,03	-0,51	-0,13	-0,29	-0,10	1,00

Corrélations paramètres physico-chimiques et les antioxydants

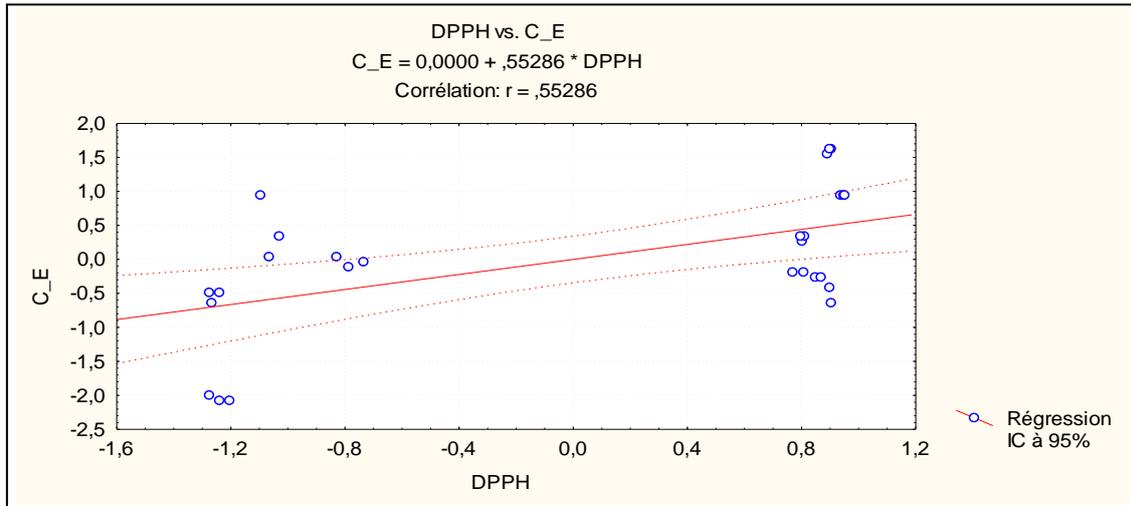


Figure 01: Corrélation entre conductivité électrique et DPPH ($p < 0,01$).

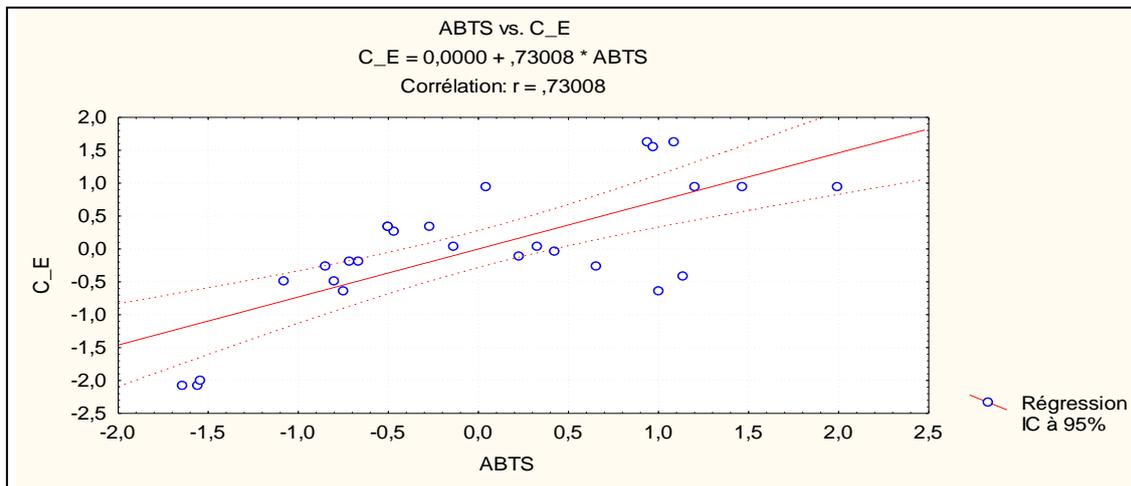


Figure 02: Corrélation entre conductivité électrique et ABTS ($p < 0,001$).

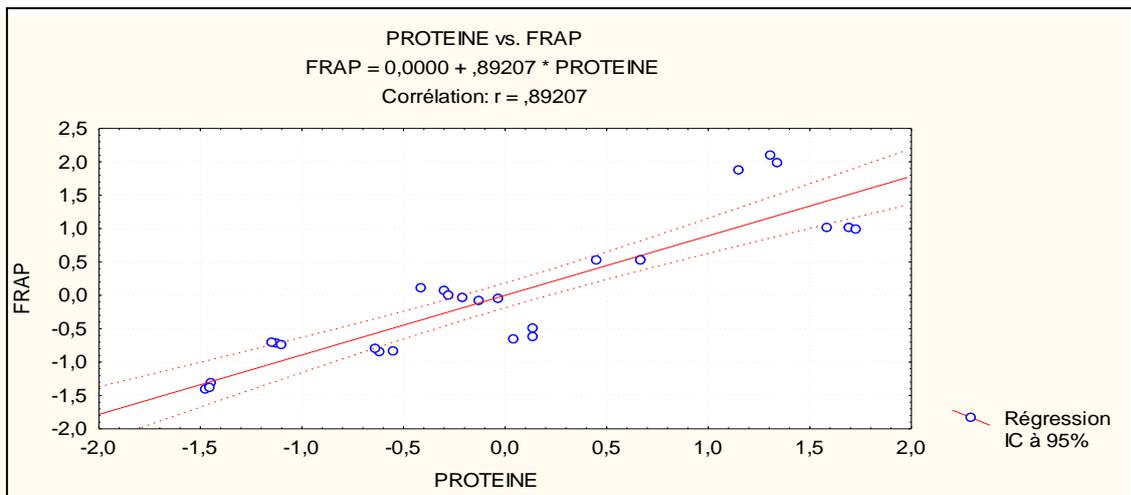


Figure03: Corrélation entre protéines et FRAP ($p < 0,001$).

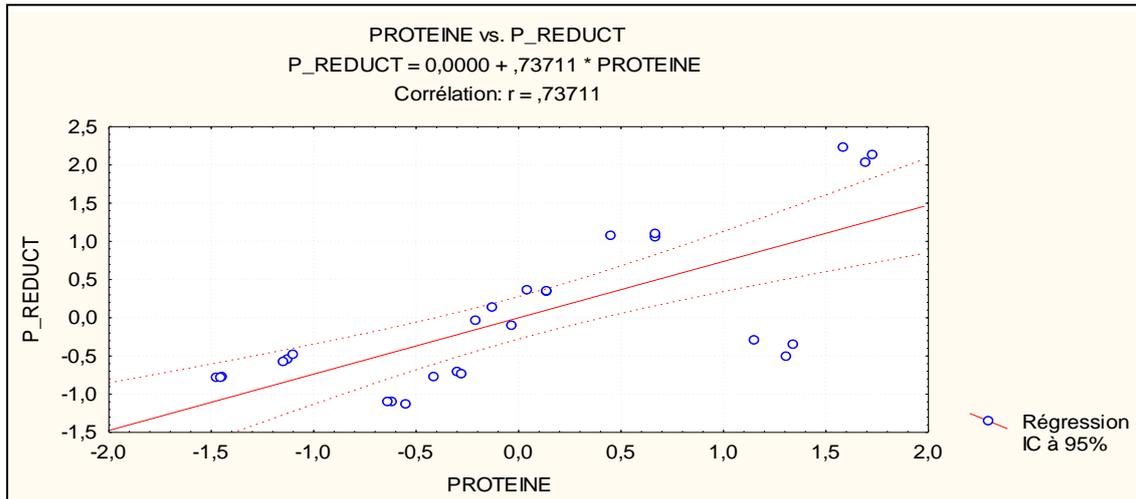


Figure 04: Corrélation entre protéines et pouvoir réducteur ($p < 0,001$).

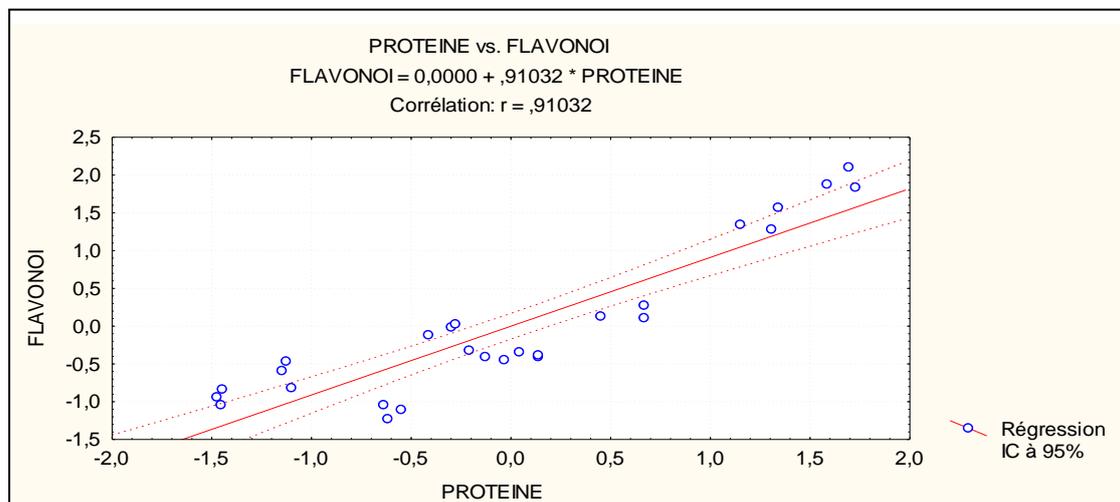


Figure 05: Corrélation entre protéines et flavonoïdes ($p < 0,001$).



Corrélations antioxydants et activités antioxydantes

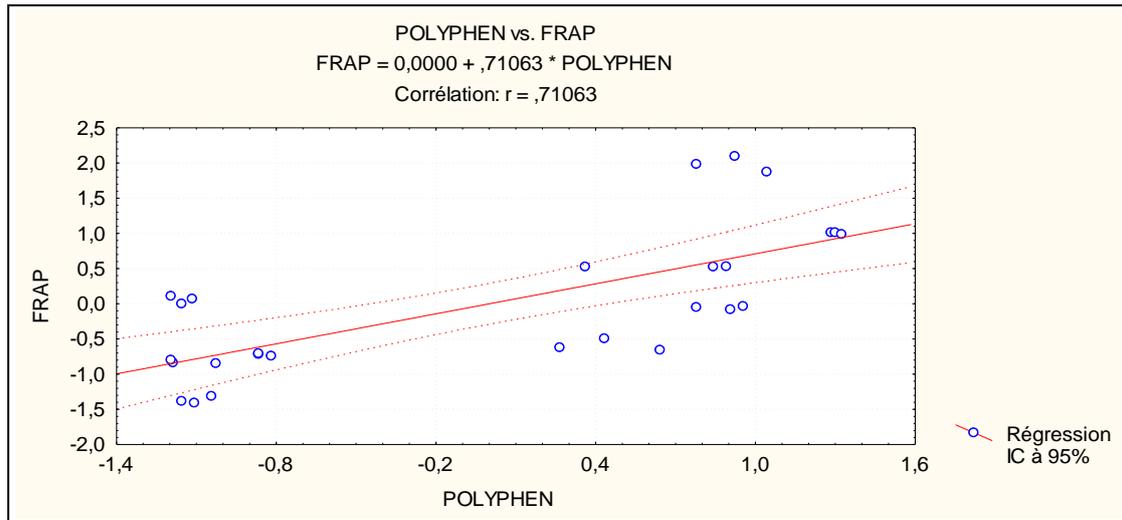


Figure 06: Corrélacion entre polyphénols et FRAP ($p < 0,001$).

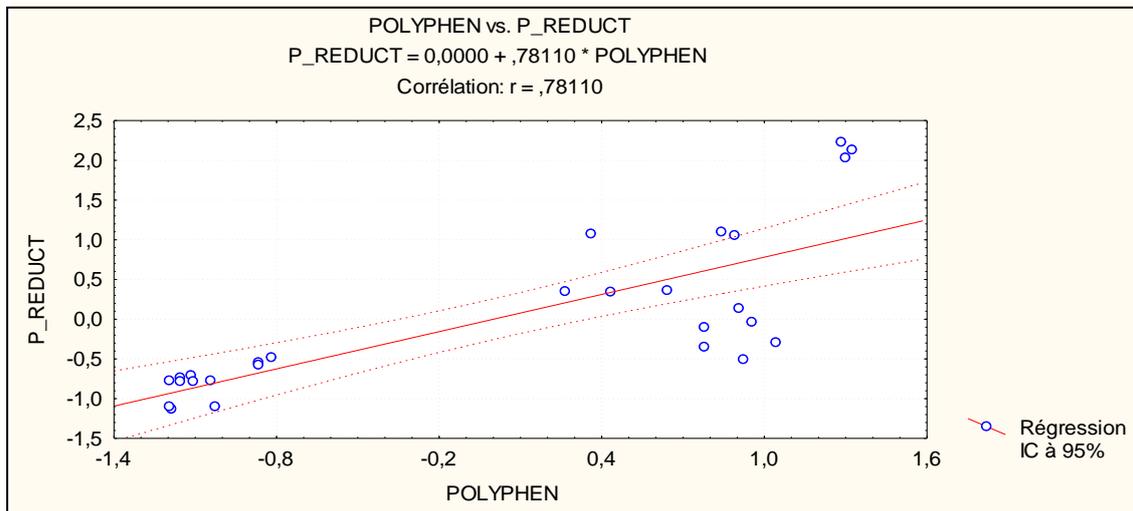


Figure 07: Corrélacion entre polyphénols et pouvoir réducteur ($p < 0,001$).

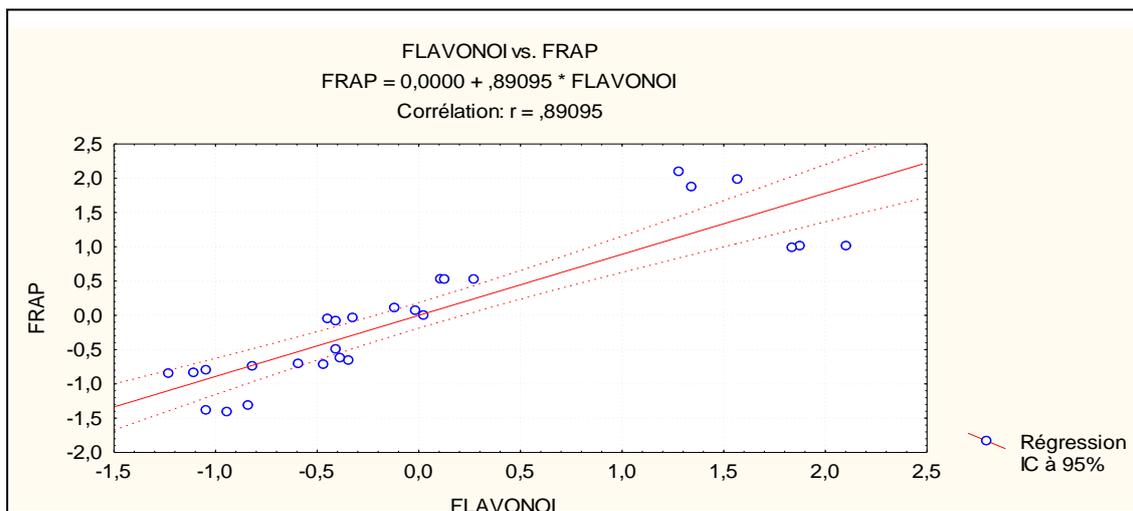


Figure 08: Corrélacion entre flavonoïdes et FRAP ($p < 0,001$).

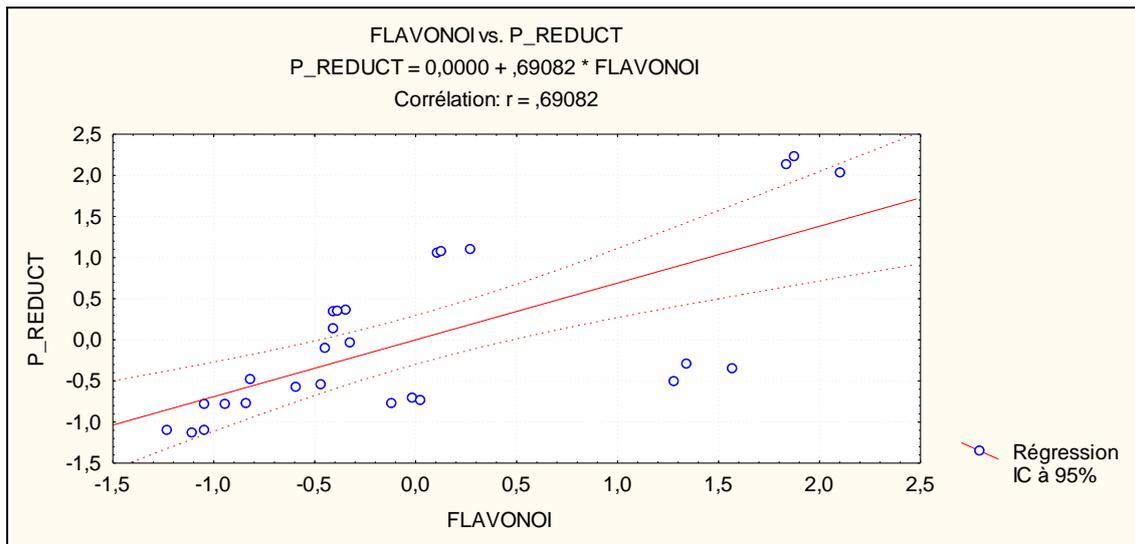


Figure 09: Corrélation entre flavonoïdes et pouvoir réducteur ($p < 0,001$).

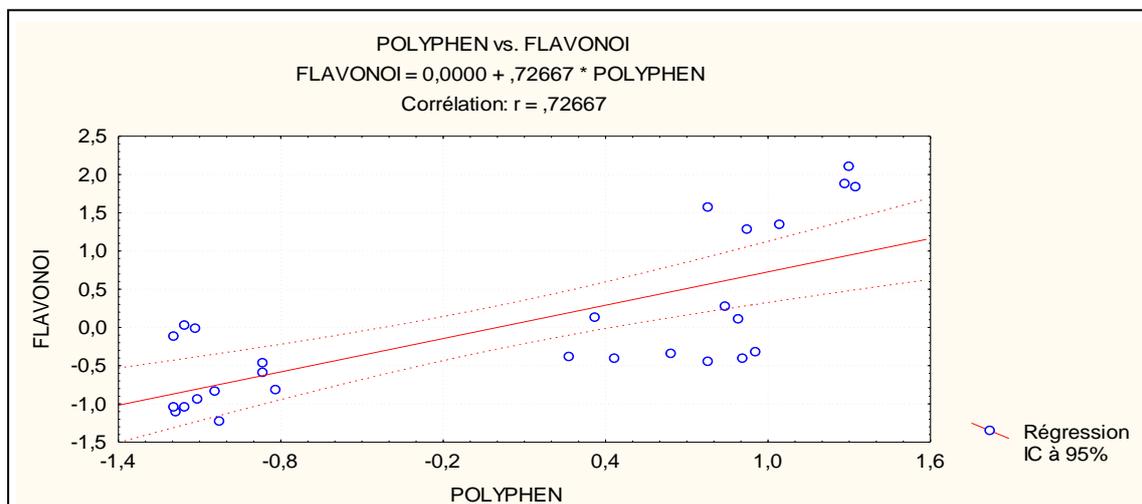


Figure 10: Corrélation entre polyphénols et flavonoïdes ($p < 0,001$).

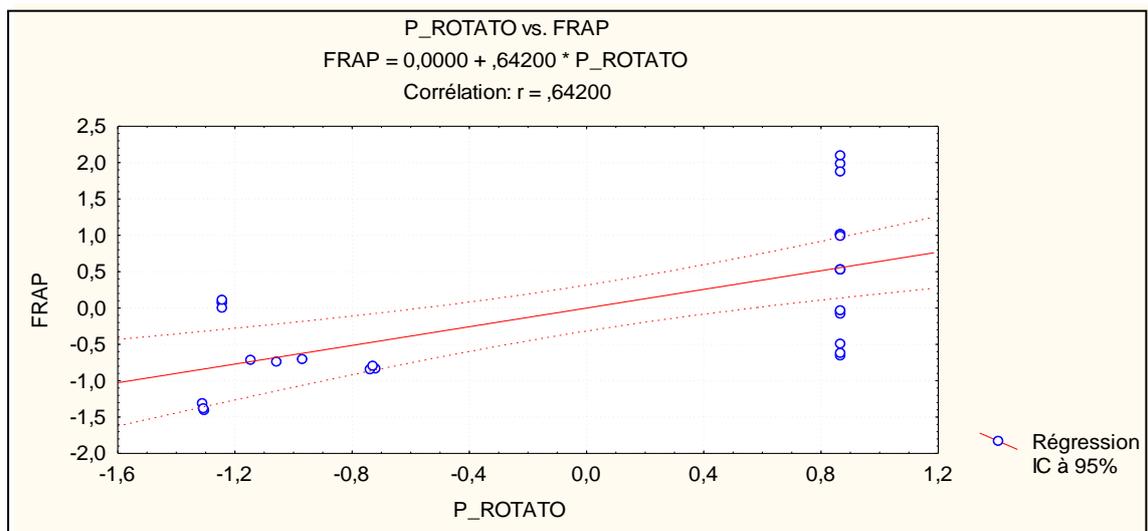


Figure 11: Corrélation entre pouvoir rotatoire et FRAP ($p < 0,001$).



Corrélations antibactériennes, paramètres physico-chimiques, les antioxydants et l'activité antioxydante

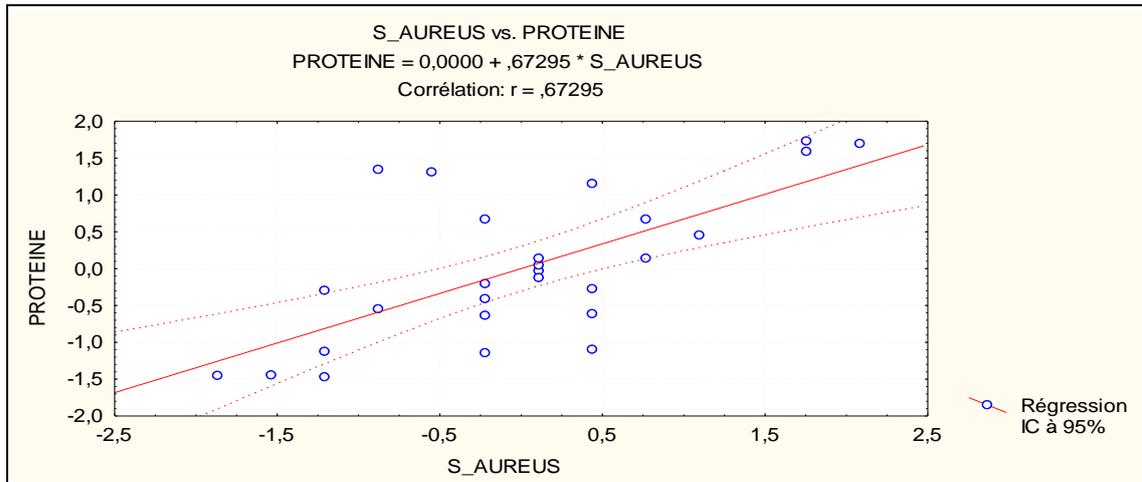


Figure 12: Corrélacion entre protéines et *S.aureus* ($p < 0,001$).

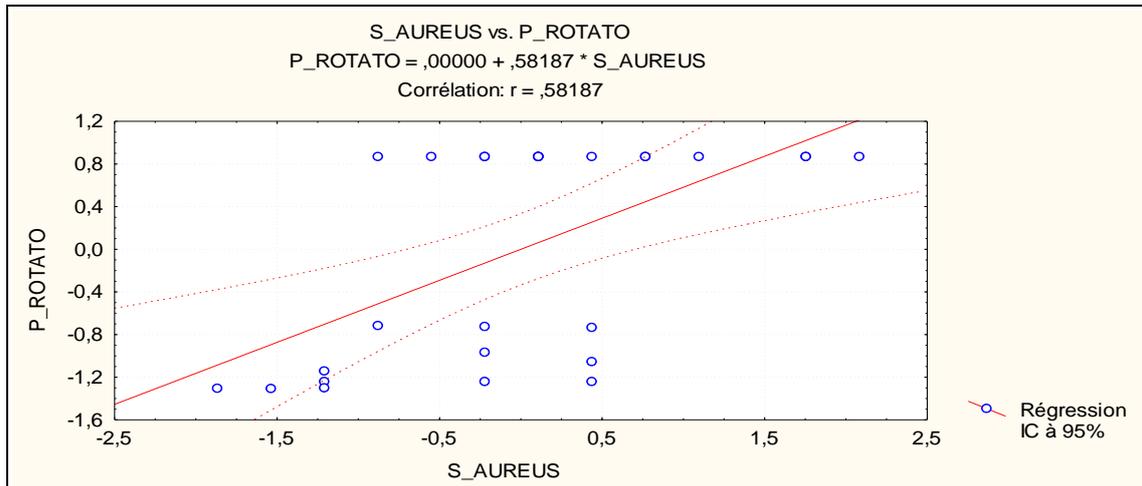


Figure 13: Corrélacion entre pouvoir rotatoire et *S.aureus* ($p < 0,01$).

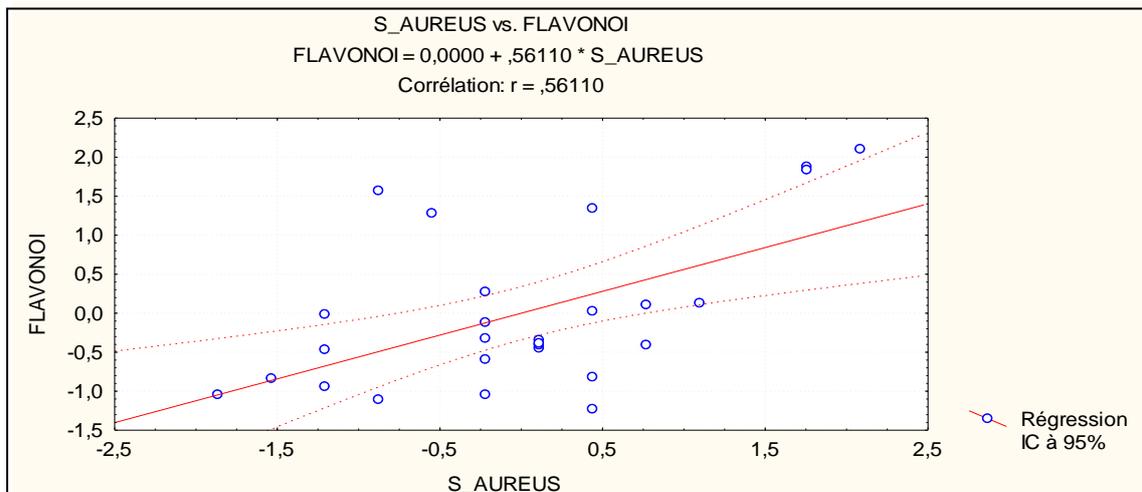


Figure 14: Corrélacion entre flavonoïdes et *S.aureus* ($p < 0,01$).

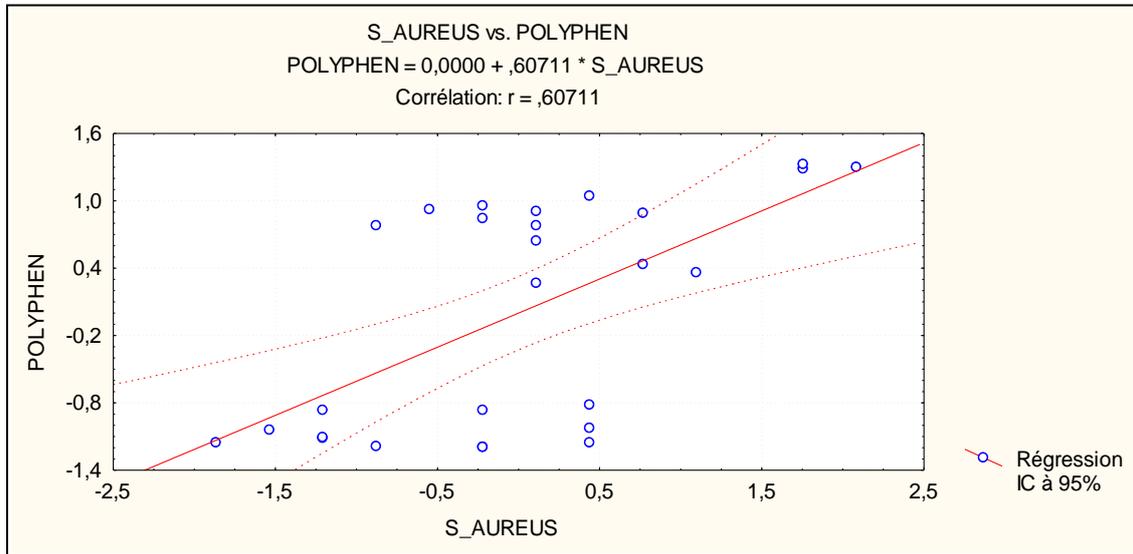


Figure 15: Corrélation entre polyphénols et *S.aureus* ($p < 0,001$).

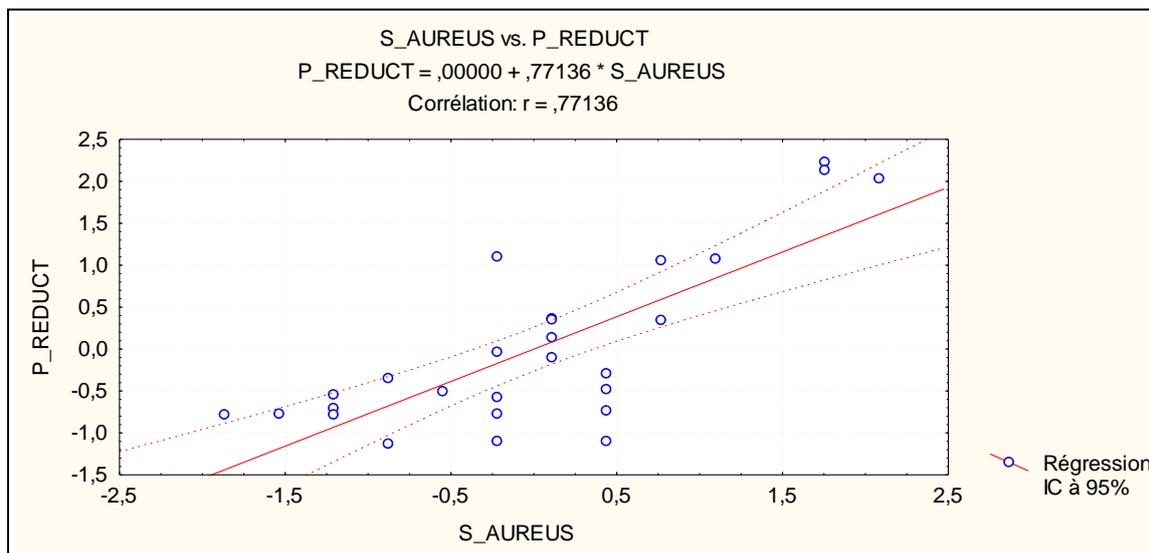


Figure 16: Corrélation entre pouvoir réducteur et *S.aureus* ($p < 0,001$).



Photographies de quelques pollens



Lamiaceae



Asteraceae



Liliaceae



Aceraceae



Rosacée



Myrtaceae



Asteraceae



Brassicacée



Fabaceae



Liliacée

Résumé

Le miel est une substance sucrée que les abeilles fabriquent à partir du nectar des fleurs ou du miellat, ayant une composition chimique variable et des propriétés diverses. Le but de ce travail est l'étude de la qualité de quelques miels (humidité, pH, conductivité électrique, couleur, protéine, proline, HMF, pouvoir rotatoire), de ses propriétés antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP et le pouvoir réducteur) ainsi que antibactériennes vis avis *E. coli*, *S. aureus* et *k. pneumoniae*. Les analyses effectuées sur les 9 échantillons de miel révèlent une teneur moyenne en eau de $17\pm 0,5$ (%), un pH acide de $3,36\pm 0,07$, une conductivité électrique de $0,55\pm 0,01$ mS/cm et un taux moyen en proline de $485 \pm 14,6$ mg/kg. Ces résultats témoignent que ces échantillons sont de bonnes qualités par rapport aux normes internationales. La méliissopalynologie à permis l'identification de 17 familles botaniques dont les plus répandus sont: *Fabacées*, *Rosacées* et *Brassicacées*. La concentration moyenne des phénols totaux et des flavonoïdes des miels testés est de $81 \pm 3,00$ et $18 \pm 0,82$ mg /100 g, respectivement. Des corrélations très hautement et hautement significatives sont observées entres les paramètres physicochimiques, les antioxydants et les activités antioxydantes et antibactériennes.

Mots clés : miel, propriétés physiochimiques, analyse pollinique, propriété antioxydante, propriété antibactérienne.

Abstract

Honey is a sweetened substance that the bees make from the nectar of the flowers or the honeydew, which has a variable chemical composition and several properties. The aim of this work is the study of the quality of some honeies (moisture, pH, electric conductivity, color, protein, proline, HMF, optical activity), its antioxydants properties (DPPH, ABTS, FRAP and reduction) and antibactériens activity against *E. coli*, *S. aureus* and *k. Pneumoniae*. The analyses carried out on the 9 honey samples reveal an average content water of $17\pm 0,5$ (%), an acid pH of $3,36 \pm 0,07$, an electric conductivity of $0,55 \pm 0,01$ mS/cm and an average rate in proline of $485 \pm 14,6$ mg/kg. These results show that these samples are good qualities compared to the international standards. The Melissopalynology allowed identification of 17 botanical families of which most widespread are: *Fabacées*, *Rosacées* and *Brassicacées*. The average concentration of total phenols and the flavonoïdes of honeies tested is $81 \pm 3,00$ and $18 \pm 0,82$ mg/100 g, respectively. Correlations very highly and highly significant are observed enter the physico-chemical parameters, the antioxydants and the antioxydant activities and antibactériennes.

Key words: honey, physicochemical properties, pollinic analysis, antioxidant propertie, antibacterial propertie.

ملخص

عسل النحل مادة غذائية و دوائية غنية بالسكريات، يتم تصنيعه من رحيق الزهور أو من المفرزات العسلية لبعض الحشرات التابعة لرتبة متجانسة الاجنحة مثل المن عند ندرة الازهار، يتميز بخصائص و تراكيب مختلفة. الهدف من بحثنا هذا هو دراسة نوعية بعض العينات من العسل من حيث الخصائص الفيزيوكيميائية (الرطوبة، pH، التوصيل الكهربائي، اللون، البروتينات، البرولين، HMF، قدرة نقل الكهرباء)، النشاط المضاد للأكسدة (DPPH، ABTS، FRAP و القدرة الإرجاعية) و النشاط المضاد للبكتيريا ضد 3 أنواع من البكتيريا (*E. coli*, *S. aureus* و *K. pneumoniae*). افرزت الفحوصات و التحاليل التي أجريت على 9 عينات من العسل من مختلف مناطق بجاية أن معدل الرطوبة هو $17\pm 0,5$ %، التوصيل الكهربائي $0,55\pm 0,01$ Ms/cm، معدل فحوى البرولين $485\pm 14,6$ مغ/كغ، و بينت تحاليل حبوب الطلع وجود 17 عائلة مختلفة، أبرزها : *Fabacées* و *Rosacées* و *Brassicacées*. كما بينت النتائج المتحصل عليها أن العينات تتميز بجودة عالية مقارنة مع المقاييس الدولية و كشفت أنشطة مختلفة مضادة للأكسدة راجعة لتركيز البوليفينول و الفلافونويد فيها $81\pm 3,00$ و $18\pm 0,82$ mgEAG/100 g على التوالي. و تجلت عدة علاقات بين الخصائص الفيزيوكيميائية، المضادات للأكسدة، النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للبكتيريا.

كلمات المفتاح: عسل، الخصائص الفيزيوكيميائية، تحليل حبوب الطلع، الخصائص المضادة للأكسدة، الخصائص المضادة للبكتيريا.