

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

Etude comparative des paramètres physico-chimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques de quelques miels.

Présenté par :

M^{elle} BAZIZEN Lydia et M^{elle} BEDJIH Rachida

Soutenu le 15/09/2022

Composition du jury :

Grade

M^{me} H. KADJI

Professeur

Présidente

Mr. H. ZAIDI

MCB

Promoteur

Mr. A. OTMANI

MAB

Co-Promoteur

M^{me} H. AMIR

MCA

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

En tout premier lieu nous tenons à remercier le bon Dieu, le tout puissant, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promoteur Mr. ZAIDI Hicham, qui nous a fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour sa disponibilité quotidienne, son suivi, ses orientations et les efforts qu'il a fournis pendant la réalisation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également à notre Co-promoteur Mr. OTMANI Amar pour ses conseils précieux que ce soit sur le plan scientifique ou humain, ses encouragements, ses remarques qui ont enrichi ce travail, et pour sa sympathie et sa générosité.

Nos chaleureux remerciements sont adressés aux membres de jury pour leur collaboration à l'examen de ce travail ; Merci Mme KADJI et Mme AMIR.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, notamment Mr. OUCHMOUKH Salim, l'ingénieur de laboratoire techniques d'analyse Mme BENYAHIA Lydia, Meriem, Imane . Nos remerciements vont de même à tous ceux qui nous ont reçu aux laboratoires Laalaoui et Kebbich.

Nous ne saurions terminer sans remercier tous les membres de nos familles pour leur soutien moral et leurs encouragements constants qui ont été d'une grande aide.

Dédicace

A l'aide de Dieu le tout puissant, on a pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents,

Nulle dédicace ne peut valoir pour vous exprimer ma profonde affection, et mon immense gratitude pour votre soutien et encouragements durant toutes les années de mes études, que ce modeste travail soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières .

A ma sœur et à mon frère, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, et de réussite.

A ma binôme

A toutes mes amies

A vous chers lecteurs

Rachida

Dédicace

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents

*Pour leurs efforts et leurs sacrifices durant toute ma vie, leurs encouragements et soutien
pour persévérer jusqu'à l'aboutissement de ce travail .*

A mes deux frères

WALID et MOUNIR

A ma chère copine

SOUAD

A ma binôme

RACHIDA

Lydia

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I :Synthèse bibliographique

I. Généralité sur le miel.....2

I.1. Miel.....2

I.2. Classification des miels2

I.2.1. Miel de nectar.....2

I.2.2. Miel de miellat.....3

I.3. Formation et récolte.....4

I.4. Composition5

I.4.1. Composants majeurs.....5

I.4.2. Composants mineurs.....6

I.4.3. Divers constituants8

I.5. Caractéristiques physico-chimiques.....8

I.5.1. Densité.....8

I.5.2. Viscosité.....9

I.5.3. Hygroscopie.....9

I.5.4. Conductivité électrique.....9

I.5.5. pH et acidité.....9

I.5.6. Couleur.....9

I.6. Propriétés biologiques.....10

I.6.1. Activité antioxydante.....10

I.6.2. Activité anti bactérienne.....11

I.6.3. Activité anti-hémolytique.....12

Partie expérimentale

Chapitre II :Matériel et méthodes

II.1.Echantillons de miel	13
II.2. Analyse pollinique	14
II.3. Analyses physico-chimiques	14
II.3.1. Brix et humidité.....	14
II.3.2. Potentiel d'hydrogène (pH).....	15
II.3.3. Conductivité électrique	15
II.3.4. Couleur (Echelle Pfund).....	16
II.3.5. Hydroxymethylfurfural (HMF).....	16
II.3.6. Dosage des protéines	17
II.3.7. Dosage de la proline.....	17
II.4. Dosages phyto-chimiques	18
II.4.1. Composés phénoliques totaux.....	18
II.4.2. Flavonoïdes	18
II.4.3. Caroténoïdes.....	19
II.5. Activités biologiques	19
II.5.1. Pouvoir anti radicalaire par DPPH.....	19
II.5.2. Pouvoir anti radicalaire par ABTS.....	19
II.5.3. Activité antibactérienne.....	20
II.5.4. Activité anti-hémolytique	21
II.6. Analyse statistique	22

Chapitre III :Résultats et discussion

III.1. Analyses polliniques	23
III.1.1.Vérification des noms commerciaux des miels	24
III.2. Analyses physico-chimiques	27
III.2.1. Brix	27

III.2.2. Humidité	28
III.2.3. Conductivité électrique	30
III.2.4. PH.....	32
III.2.5. Couleur (Echelle Pfund).....	33
III.2.6. Teneurs en HMF.....	34
III.2.7. Teneurs en protéines.....	36
III.2.8. Teneurs en proline.....	37
III.3. Teneurs en antioxydants	38
III.3.1. Composés phénoliques totaux.....	38
III.3.2. Flavonoïdes	39
III.3.3. Caroténoïdes.....	40
III.4. Activités biologiques.....	42
III.4.1. Activité anti oxydante.....	42
III.4.2. Activité antibactérienne	44
III.4.3. Activité anti hémolytique	49
III.5. Corrélation et analyse multi variées	51
III.5.1. Corrélations	51
III.5.2. Analyse en composante principale (ACP).....	54
III.5.3. Classification hiérarchique ascendante (CHA).....	56
Conclusion.....	58
Références bibliographiques.....	60
Annexes	

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

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

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ANOVA : Analysis Of One Variance

BSA : Bovine Serum Albumin

CE : Conductivité Electrique

CETAM: Centre d'Etudes Techniques Apicoles de Moselle

CHA : Classification Hiérarchique Ascendante

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DPPH : 2,2-diphinol-1picrylhrozyl

DZI : Diamètre de Zone d'Inhibitrice

E. coli : *Escherichia coli*

EβCarot : Equivalent β-carotène

HMF : Hydroxy-Méthyl Furfural

mg EAG : Milligramme Equivalent Acide Gallique

mg EQ : Milligramme Equivalent Quercitine

mS/cm : Milli-Siemens par Centimètre

nm : Nanomètre

p/v : Poids / Volume

pH : Potentiel d'Hydrogène

r : Coefficient de corrélation

rpm : Rotation Par Minute

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Composition chimique moyenne du miel	5
2	Processus de la formation de l'HMF	7
3	Réaction de formation de gluconolactone (B) , acide gluconique (C) à partir du glucose (A)	12
4	Photographie des échantillons de miel	13
5	Résultats de degré de Brix des miels analysés	27
6	Taux d'humidité des miels analysés	29
7	Conductivité électrique des miels analysés	31
8	pH des miels analysés	32
9	Intensité de couleur des miels analysés	33
10	Teneurs en HMF des miels analysés	35
11	Teneurs en protéine des échantillons de miel analysés	36
12	Teneurs en proline des échantillons de miel analysés	37
13	Teneurs en composés phénoliques totaux des miels analysés	38
14	Teneurs en flavonoïdes des miels analysés	40
15	Teneurs en caroténoïdes des miels analysés	41
16	L'activité antiradicalaire DPPH des miels analysés.	42
17	L'activité antiradicalaire ABTS des miels analysés.	44
18	Courbes dose-réponse des miels analysés contre <i>E.coli</i>	48
19	Photographie de test d'activité anti-hémolytique	49
20	Graphique d'analyse en composantes principales (ACP) des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel	55
21	Dendrogramme vertical obtenu à l'aide de la méthode de Ward et des distances euclidiennes pour les paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel	57

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Les différentes couleurs des miels en fonction de leurs origine florale	10
II	Echantillons de miel analysés	13
III	Protocole de dosage de proline	17
IV	Protocole de l'activité anti-hémolytique	21
V	Spectre pollinique et pourcentage de pollens de miels analysés	25
VI	Noms des couleurs correspondants à l'échelle Pfund	34
VII	Résultats de l'activité antibactérienne des échantillons de miel	45
VIII	Pourcentages d'inhibition d'hémolyse	50
IX	Corrélation des paramètres physico- chimique , teneurs en composés bioactifs et activités biologiques	53

Introduction

Introduction

Depuis toujours les abeilles et le miel ont fasciné l'Homme, en effet l'histoire de l'Homme et du miel remonte aux temps les plus reculés. D'ailleurs les activités thérapeutiques et les propriétés nutritives du miel ont été reconnues depuis l'Antiquité grâce aux nombreux écrits qui ont mentionné le miel dans la confection des médicaments (**Barth, 2020**).

Le miel, cette substance aussi riche que complexe élaborée par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs et/ou de miellat, est considérée comme un fruit d'interactions entre les fleurs butinées, le sol et les systèmes métaboliques liés à la spécificité génétique des abeilles (**Bonté et al., 2013**).

Le miel est doté de nombreuses vertus thérapeutiques. De récentes études ont démontré des activités antibactérienne, cicatrisante, antioxydante et antifongique de ce produit (**Yang, 2014**). Ses bienfaits sont attribués aux éléments qu'il contient, où il a été rapporté que le miel renferme au moins 200 substances, principalement des hydrates de carbone et de l'eau. Il contient également des minéraux, des protéines, des acides aminés libres, des enzymes, des vitamines, des acides organiques, des flavonoïdes, des acides phénoliques et d'autres composés phytochimiques (**Doukani et al., 2014**). Sa composition varie en fonction de nombreux facteurs tels que l'origine botanique, les facteurs environnementaux et les méthodes de traitement (**Viuda-Martos et al., 2008**).

Les paramètres physicochimiques sont considérés comme des indicateurs d'authenticité et de pureté du miel tels que l'humidité, le pH, la conductivité électrique et l'hydroxyméthylfurfural (HMF). Pour cela le **Codex Alimentarius** et la **Commission Européenne du Miel** ont fixé des normes pour ces paramètres afin de garantir la bonne qualité et le protéger contre les falsifications.

Dans ce contexte s'inscrit la présente étude dont le but est de déterminer le profil pollinique, les caractéristiques physicochimiques ainsi que les propriétés biologiques : l'activité antioxydante, antibactérienne et anti-hémolytique de 7 échantillons de miel.

Cette étude sera développée selon le plan suivant :

- La première partie est une synthèse bibliographique .
- La deuxième partie est réservée au matériel d'étude et méthodes analytiques .
- La troisième partie englobe la présentation et la discussion des résultats obtenus.

CHAPITRE I

Synthèse

bibliographique

I. Généralités sur le miel

I.1. Miel

Afin de protéger le consommateur contre les différents types de fraudes susceptibles d'être pratiquées, une définition légale est également donnée dans la réglementation de nombreux pays. **Le Codex Alimentaire (2001) et la Commission Européenne (2002)** ont défini le miel comme étant « la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou des sécrétions de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur elles par des insectes suceurs que ces abeilles butinent et transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche».

I.2. Classification des miels

Il existe une multitude de variétés de miels dont la classification repose sur deux critères : l'origine sécrétoire (nectar et miellat) et l'origine botanique (monofloral et polyfloral).

1.2.1. Miel de nectar

Le nectar est une substance aqueuse sucrée et aromatique produite par des glandes nectarifères qui sont des structures glandulaires des organes végétaux supérieurs, ces derniers se situent sur des fleurs de plantes dites mellifères (nectaires floraux) ou dans les autres parties de la plante comme les feuilles, les troncs et les pétioles (nectaires extra-floraux) (**Hoyet, 2005 ; Maurizio, 1975**).

La sécrétion du nectar a pour but d'attirer les insectes pollinisateurs pour qu'ils transportent le pollen de fleur en fleur en permettant ainsi la reproduction des espèces végétaux. Sa composition varie selon son origine florale. Il est principalement composé de l'eau à laquelle ils s'ajoutent des glucides dont le glucose, le fructose et le saccharose pour une teneur comprise entre 7 et 70 % et en quantité moindre il renferme les acides aminés, les protéines, les lipides, les flavonoïdes, les vitamines, les pigments, les minéraux, et les enzymes, dont les proportions relatives sont propres à chaque espèce végétale. Tous ces constituants confèrent au miel sa couleur et ses arômes (**Barth, 2020 ; Hoyet, 2005**).

Les miels de nectar de fleurs peuvent être subdivisés en 2 types :

a. Miels monofloraux

On désigne par monofloraux les miels élaborés par une seule variété florale. Ils sont relativement difficiles à obtenir car il est impossible de contrôler le périmètre de vol des abeilles. Par conséquent le caractère monofloral ne peut être défini que par une analyse pollinique montrant une fréquence relative de grains de pollen dominant supérieur à 45 % (**Cavelier, 2013 ; Yang, 2014**).

b. Miels polyfloraux

Les miels polyfloraux, comme leurs nom l'indique sont produits à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Ces miels ne sont pas susceptibles d'avoir une appellation florale. Néanmoins, le miel polyfloral est identifié soit selon sa saison de production, soit selon le territoire où il a été produit (**Bonté et al., 2003**).

I.2.2. Miel de miellat

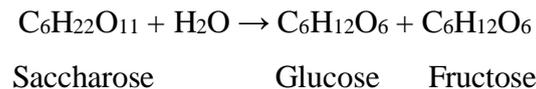
Le miellat est défini comme étant un produit sucré élaboré par divers insectes piqueurs-suceurs (homoptères) qui perforent les tissus végétaux de la plante afin d'atteindre les faisceaux dans lesquels circule la sève. Cette dernière en passant dans leurs tubes digestifs, les homoptères assimileront une partie et transformeront l'autre en y ajoutant leurs propres sécrétions. La partie non assimilée sera rejetée par l'anus et constitue le miellat qui sera recueilli par l'abeille pour la fabrication du miel (**Hoyet, 2005**).

Le miel du miellat est de couleur plus sombre que celui de nectar, il contient également des sucres plus complexes tel que le mélézitose d'où provient le nom miellat. Outre les glucides, il est aussi riche en azote, en acides organiques et en minéraux (**Rossant, 2011**).

L'appétence naturelle des abeilles pour les substances sucrées les attirent à butiner différentes sources tel que le jus sucré de certains fruits très mûrs déjà attaqués par d'autres insectes ou par de petits animaux car les pièces buccales de l'abeille ne lui permettent pas de perforer les fruits (**Hoyet, 2005**).

I.3. Formation et récolte

Au cours du butinage, l'abeille butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour afin de prélever le nectar ou le miellat qu'elle emmagasine par la suite dans son jabot. A ce stade, la transformation du nectar en un miel commence par l'hydrolyse de saccharose en glucose et en fructose sous l'action des enzymes salivaires de l'abeille (invertase) (**Barth, 2020 ; Bruneau, 2002**).



Arrivée dans la ruche, la butineuse régurgite son contenu à une receveuse, qui à son tour le transmet à une ouvrière qui elle-même le communique aux autres abeilles et ainsi de suite. Ce processus de transmission est appelé trophallaxie. Au cours de cette digestion collective, le liquide s'enrichit de sucs gastriques et de substances salivaires notamment l'invertase et la glucose-oxydase, ayant pour effet de compléter le processus de digestion des sucres (**Barth, 2020 ; Cavelier, 2013**).

Les gouttes épaissies du miel non mûr produit sont déposées dans les alvéoles des cadres de cire en vue de subir une déshydratation jusqu'à ne contenir plus que 50 % d'eau. Cette opération se fait sous la double influence de la température régnante dans la ruche (36 °C) et de la ventilation assurée par les ventileuses. Celles-ci entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ails au-dessus de l'alvéole pour favoriser l'évaporation et le taux d'humidité du miel doit ainsi être abaissé jusqu'à atteindre (< 20 %). Les alvéoles sont alors fermés avec une couche fine de cire permettant ainsi une bonne conservation du miel (**Hoyet, 2005 ; Huchet et al., 1996 ; Ouchmoukh, 2012**).

La récolte du miel par l'apiculteur se fait dès la fin de la miellée quand les apports en nectar ont ralenti ou cessé et que au moins ¾ des alvéoles sont operculés. Les cadres sont retirés de la ruche en laissant aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves en hiver. Les hausses des ruches sont transportées dans la miellerie où les alvéoles sont désoperculées à l'aide d'un couteau (**Bruneau, 2002**).

I.4. Composition

Le miel est un produit complexe d'une extrême richesse de plusieurs composés à la fois d'origine végétale et animale. En fait sa composition chimique dépend de multiples paramètres: origine botanique et géographique, nature du sol, race d'abeille, état physiologique de la colonie, climat, conditions de récolte et mode de stockage (**Kaskoniené et al., 2010**).

La figure 1 montre la composition chimique moyenne du miel.

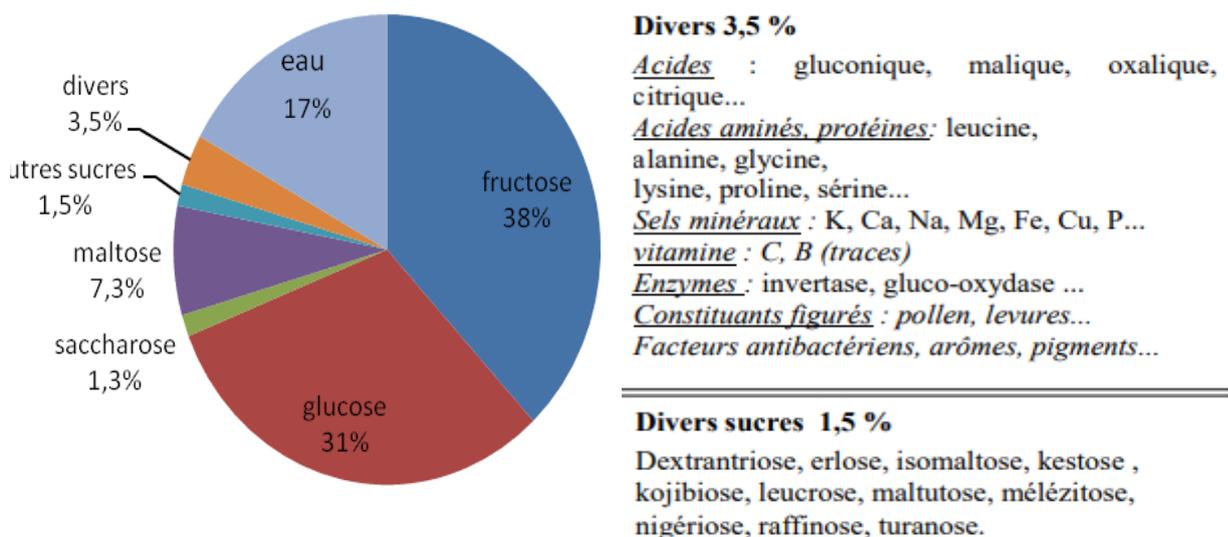


Figure 1 : Composition chimique moyenne du miel (**Bruneau, 2002**).

I.4.1. Composants majeurs

a. Glucides

Les glucides constituent la plus grande partie de matière sèche du miel de 95 à 99 % . Il s'agit majoritairement de fructose environ 38 % en masse de miel puis de glucose 31% , ceux sont les monosaccharides prédominants et le résultats de l'action de l'invertase sur le saccharose. Viennent ensuite les disaccharides comme le maltose (7,5 %) et le saccharose (1,5 %) ainsi que des oligosides comme le raffinose, l'erlose, le mélézitose à l'état de traces (**Lazaridou et al., 2004 ; Pita-Calvo et Vázquez, 2017**). Les glucides commandent la nature physique du miel, sa viscosité, sa teneur en eau, et même sa valeur énergétique (**Philippe, 1988**).

b. Eau

La teneur en eau est un paramètre de qualité important qui garantit la conservation du miel, elle ne doit idéalement pas dépasser 20 %, sous peine de fermenter à l'exception des miels de trèfle (21 %) et de bruyère (23 %). L'humidité du miel varie en fonction d'origine botanique, des conditions climatiques au moment de la récolte et de l'operculation des alvéoles par les abeilles (**Barth, 2020**).

I.4.2. Composants mineurs

a. Acides organiques

Certains acides organiques du miel proviennent directement du nectar des fleurs butinées d'autres sont issus des transformations opérées par les abeilles avec une teneur de 0,57 à 1,5 % dont on y trouve une vingtaine d'acides organiques tels que l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique et l'acide oxalique. Parmi ces acides l'acide gluconique prédominant dérivé de l'oxydation du glucose par la glucose oxydase pendant la maturation du miel. Des traces d'acide formique (un des constituants du venin), d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique sont aussi présentes (**Nafea et al., 2013 ; Pham- Délègue , 1999**).

b. Matières azotés

Le miel contient une faible proportion en matières azotées dont les acides aminés et les protéines (0,26 %). Ces composés proviennent du nectar et/ou du miellat, du pollen et des sécrétions des abeilles. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines. On y trouve également des traces d'acides aminés comme la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, et la proline en quantité abondante 50 à 85 % de la teneur totale en acides aminés. D'ailleurs la quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle doit être supérieure ou égale à 180mg/kg (**Bogdanov et al., 1999 ; Rossant, 2011**). Une petite fraction des protéines présentes dans le miel sont des enzymes, les plus connues sont l'invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides, la glucose-oxydase donne de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène à partir du glucose et les amylases dont la fonction est de transformer l'amidon en glucose. Ces enzymes étant thermolabiles, leur présence ou leur absence peut indiquer la surchauffe du miel (**Hoyet, 2005 ; Missio da silva et al., 2011**).

c. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Le 5-hydroxyméthylfurfural est un composé organique issu de déshydratation du glucose et du fructose en milieu acide (Figure 2). Cette transformation est favorisée par la forte teneur en fructose et par l'acidité du milieu. Cependant les facteurs déclenchant sont le stockage ou le chauffage prolongé du miel. Selon le **Codex Alimentaire**, la teneur en HMF ne doit pas dépasser 40 mg/Kg (**Bogdanov et al., 2011 ; Hoyet, 2005**).

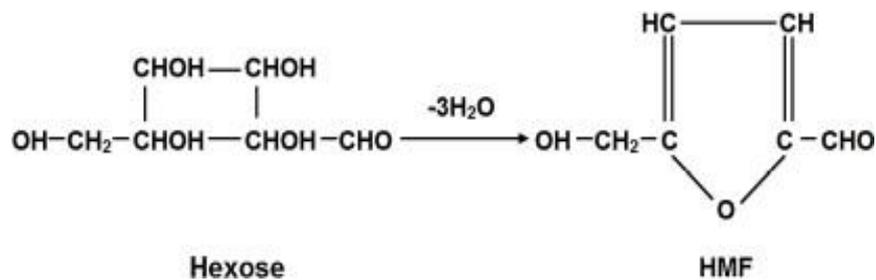


Figure 2 : Processus de la formation de l'HMF (**Shapla et al., 2018**).

d. Lipides

La proportion des lipides est infime dans le miel, on y trouve principalement des glycérides et des acides gras (l'acide palmitique, oléique et linoléique) (**Rossant, 2011**).

e. Composés phénoliques

Les composés phénoliques également appelés polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes qui existent sous la forme d'importante diversité dans le règne végétal (**Beretta et al., 2005**). Ces composés font partie des constituants mineurs du miel, ils regroupent les acides phénoliques et les flavonoïdes qui contribuent aux activités biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes...etc). Ils sont issus essentiellement de la propolis, du nectar ou du pollen (**Ouchmoukh, 2012 ; Tomas-Barberan, 2001**). La concentration en polyphénols est susceptible de varier en fonction de l'origine botanique du miel (**Gheldof et al., 2002**).

f. Vitamines

Le miel est pauvre en vitamines. On y trouve essentiellement des vitamines du groupe B tels que les B1 (la thiamine), B2 (la riboflavine) B3 (appelée aussi PP), B4 (la choline) et B5 (l'acide pantothénique). Dans certains miels on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, K1 et D (Alvarez-Suarez, 2010 ; Hoyet, 2005).

g. Sels minéraux

La teneur en sels minéraux d'un miel varie de 0,02 à 1,03 g/100 g (Bogdanov et al., 2007). Le potassium représente le minéral principal, avec une moyenne d'environ un tiers de la teneur totale en minéraux, mais il en contient une grande variété d'autres en traces. Plusieurs études ont montré que la teneur en oligo-éléments du miel dépend de l'origine botanique et que les miels foncés en contiennent plus que les miels clairs (Feller-Demalsy et al., 1989; Gonzalez-Miret et al., 2005 ; Sevimli et al., 1992).

I.4.3. Divers constituants

a. Pollen

Les grains de pollen portés par les étamines de fleurs représentent les gamètes mâles des plantes supérieures. En moyenne, un grain de pollen contient 20 % de protides dont 50 % sont des acides aminés indispensables, 5 % de lipides, 36 % de glucides, 11 % d'eau, et 3 % de sels minéraux (K, Mg, Ca, Fe, Cb...). Il renferme également de nombreux pigments (caroténoïdes, rutine...) et des vitamines des groupes B, C, D et A (Bonté et al., 2013).

Le miel renferme aussi des spores de champignons, algues microscopiques, levures, etc., dont l'identification sous le microscope permet d'obtenir des renseignements sur son origine florale et géographique (Hoyet, 2005).

I.5. Caractéristiques physico-chimiques

I.5.1. Densité

Pour une teneur moyenne en eau de 17,2 % à 20 °C, le miel a une densité moyenne de 1,42 et varie en fonction des miels analysés de 1,39 à 1,44 (Hoyet, 2005).

I.5.2. Viscosité

La viscosité du miel dépend de sa teneur en eau, sa composition chimique et de sa température. A 35°C, tous les miels sont fluides, certains sont thixotropes (deviennent liquides après agitation, mais après repos reprennent leurs viscosité première) (Homrani, 2020). La viscosité de certains miels algériens varie de 1,12 à 8,98 m Pa.s (Ouchemoukh et al., 2007).

I.5.3. Hygroscopie

Désigne la capacité à absorber l'humidité de l'air très rapidement, en fait le fructose a un grand pouvoir hygroscopique. Un miel avec une teneur d'eau de 18 % peut atteindre une hygrométrie de 55 % juste en trois mois d'exposition à l'humidité (Huchet et al., 1996).

I.5.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique, elle est influencée par le pH de la solution et sa teneur en minéraux . Elle est considérée comme l'un des paramètres important pour la distinction entre les miels de nectar (<0,8 mS / cm) et les miels de miellat (>0,8 mS / cm) , et très souvent utilisée dans les routines de contrôle du miel (Belhaj et al., 2015).

I.5.5. pH et acidité

L'acidité du miel est un critère de qualité important, elle est due à un grand nombre d'acides organiques qu'il contient, principalement l'acide gluconique et les ions inorganiques tels que les phosphates et les chlorures. D'autres composés tels que les lactones, dont la présence est constante, ont également une fonction acide. La plupart d'entre eux proviennent des sécrétions digestives des abeilles, pendant l'élaboration du miel (Mbogning et al., 2011).

I.5.6. Couleur

La couleur est la propriété physique immédiatement aperçue du miel ce qui est important pour sa commercialisation. En fonction de ses origines florales et géographiques, la couleur du miel varie à l'infini hormis le violet et le bleu (Hoyet, 2005 ; Missio da Silva et al ., 2016). L'intensité de la couleur est mesurée par l'échelle de Pfund ou par le comparateur visuel de Lovibond (Lobreau-Callen et al., 1999).

Tableau I : Les différentes couleurs des miels en fonction de leur origine florale (**Hoyet, 2005**).

Origine florale	Couleur
Acacia	Incolore
Lavande, Tilleul	Ivoire
Tournesol, Pissenlit	Jaune
Châtaignier, Bruyère	Brun
Saule, Sapin	Très foncée avec des reflets verts

I.6. Propriétés biologiques

I.6.1. Activité antioxydante

Dans les systèmes biologiques, un déséquilibre de balance oxydants/antioxydants au profit des oxydants conduit à l'installation du phénomène connu sous le nom de stress oxydatif (**Pincemail et al., 2002**). Ce dernier produit des dommages cellulaires, ce qui entraîne la manifestation de différentes pathologies cardiovasculaires dégénératives, ainsi que le cancer et le vieillissement. Pour réduire ces effets négatifs, le système de défense endogène produit des enzymes antioxydantes et des composés non enzymatiques, tels que le glutathion, les vitamines, entre autres; il exige aussi l'aide externe pour moduler ces effets négatifs avec une plus grande efficacité (**Becerril-Sánchez et al., 2021**).

Les antioxydants peuvent être apportés à l'organisme par divers aliments ; le miel en est un très bon exemple. Les composés responsables de son activité antioxydante sont les composés phénoliques (tocophérol, flavonoïdes, et acides phénoliques), l'acide ascorbique, la catalase, la peroxydase et les caroténoïdes. Cette activité est variable d'un miel à un autre selon la source botanique butinée et la présence de différents composés antioxydants (**Al-Mamary et al., 2002 ; Ouchmoukh, 2012**).

I.6.2. Activité antibactérienne

L'utilisation du miel comme remède traditionnel pour les microbes et les infections remontent à l'Antiquité. La recherche a été réalisée sur du miel de Manuka dont l'efficacité a été démontrée contre plusieurs agents pathogènes humains. Cependant les explications tardent à préciser les éléments qui en sont la cause de cette activité, pour cela plusieurs paramètres sont avancés pour expliquer le mécanisme de l'effet antibactérien (**Crousilles, 2014 ; Deb Mandal et Shyamapada Mandal, 2011**).

➤ Effet osmotique

Le miel est une solution saturée ou sursaturée de sucres qui forment de liaisons de type hydrogène avec l'eau ce qui induit une osmolarité importante provoquant ainsi une forte déshydratation des bactéries. Cette faible activité de l'eau du miel inhibe le développement des levures (**Molan, 1992**).

➤ Acidité

Le pH semble être un paramètre influant de l'activité antibactérienne de miel, il est relativement situé entre 3,5 et 6, mais bien que tous les miels aient un pH acide ils ne sont pas tous efficace au même degré car de nombreuses bactéries sont capables de supporter un pH bas, mais ils peuvent être efficaces pour arrêter ou ralentir la croissance de certaines espèces de bactéries pathogènes (**Couquet et al., 2013**).

➤ Peroxyde d'hydrogène

La principale inhibine que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est produit de la catalyse de glucose en gluconolactone et acide gluconique par la glucose oxydase (Figure 3), enzyme de glande hypopharyngienne de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel (**Crousilles, 2014**). La fonction de H_2O_2 est basée sur son pouvoir oxydant qui détruit les protéines et l'ADN des microorganismes, et l'acide gluconique formé contribue à l'augmentation d'acidité du miel ce qui empêche le développement de colonies bactériennes (**Couquet et al., 2013**).

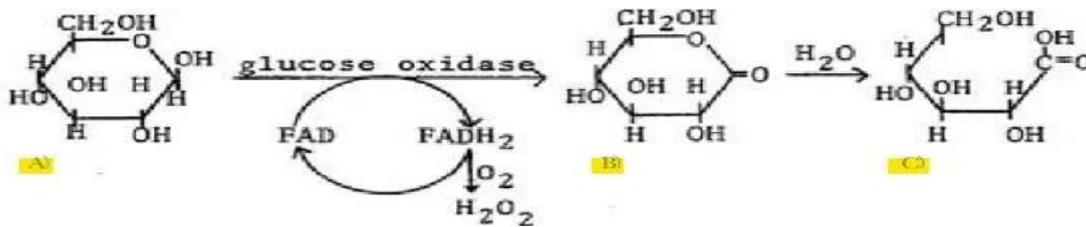


Figure 3 : Réaction de formation de gluconolactone(B), acide gluconique (C) à partir du glucose (A).

➤ Facteurs phytochimiques

Le miel est constitué de composés phénoliques et de substances volatiles et aromatiques issus de nectar de fleurs dont le pouvoir antibactérien est déjà connu. D'autres composés ont été identifiés dans le miel, mais ils sont en très faibles quantité pour contribuer de manière significatives à cette activité (Al Mamary *et al.*, 2002).

I.6.3. Activité anti-hémolytique

L'action anti-hémolytique de miel est l'objet d'études menées par des auteurs tels que Abdulmaksoud Abdulrhman, (2011), Gowda Manukuma et Umesha, (2015), Hilary *et al.* (2017) où il a été montré qu'il possède un effet protecteur de la membrane d'érythrocyte et la capacité à réduire le degré de lyse des globules rouges .

L'effet anti-hémolytique qui se traduit factuellement par la stabilisation de la membrane cellulaire peut être expliqué par la capacité du miel à augmenter le rapport surface / volume des globules rouges qui pourrait être provoqué par une expansion de la membrane ou le rétrécissement de la cellule et une interaction avec les protéines membranaires (Gowda Manukuma et Umesha, 2015).

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

II.1. Echantillons du miel

Les échantillons de miel utilisés dans cette étude sont au nombre de sept, dont quatre sont achetés dans un magasin de produits de terroirs, trois sont collectés auprès des apiculteurs. Les échantillons proviennent de différentes régions géographiques d'Algérie (Tableau II).

Tableau II: Échantillons de miel analysés (région, année, état, couleur, origine florale présumé)

Identifiant	Région de récolte	Année de récolte	Consistance	Couleur	Origine florale Présumé
M1	Imzalen (Tizi ouszou)	2021	Cristallisé	Marron	Non identifié
M2	Bouhathem (Bejaia)	2021	Solide	Marron tirant vers le brun	Arbousier
M3	M'sila	2021	Visqueux	Marron clair	Agrumes
M4	Ain oussara (Djelfa)	2021	Visqueux	Marron jaunâtre	Jujubier
M5	Aflou (Laghouat)	2021	Visqueux	Ambre	Euphorbe
M6	Akfadou (Bejaia)	2021	Solide	Marron tirant vers le brun	Arbousier
M7	Akfadou (Bejaia)	2021	Liquide	Marron clair	Eucalyptus

Les échantillons de miel sont conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des bocaux en verre hermétiquement fermés et codifiés (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7) comme la figure 4 l'indique.



Figure 4 : Photographie des échantillons de miel (Originale).

II.2. Analyse pollinique

L'analyse pollinique est réalisée selon le protocole de **Louveaux et al. (1978)**. Une quantité de 3 g de miel est dissoute dans 12 ml de l'eau distillée (25% ; p/v) après homogénéisation et dissolution complète, la solution de miel est centrifugée à 4000 pendant 10min à 4 °C. Le surnageant est éliminé et un volume de 10 ml de l'eau distillée est additionné au culot, ensuite une deuxième centrifugation est effectuée dans les mêmes conditions. Un volume de 100 µl du culot est récupéré et étalé sur une lame en verre recouverte d'une lamelle après séchage à l'étuve. La lecture est faite avec un microscope optique au grossissement x 40 en se référant à une banque de données numériques et bibliographiques du CETAM (Centre d'Etudes Techniques Apicoles de Moselle, France).

II.3. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques (Brix, humidité, pH, conductivité électrique, HMF et proline) des échantillons du miel sont réalisés suivant les protocoles validés **par la Commission Internationale du Miel (Bogdanov et al., 1997)**.

II.3.1. Brix et humidité

Les teneurs en eau des échantillons du miel sont déterminées par la mesure optique de l'indice de réfraction en se référant à une table standard de CHATAWAY (Annexe1).

Une goutte de miel liquide est directement déposée et étalée sur la platine du prisme d'un réfractomètre (ABBE AR S/N 32624) après l'avoir étalonné au préalable avec de l'eau distillée. Avant l'analyse les miels cristallisés sont d'abord mis au bain marie à 40 °C pour garantir la disparition des cristaux de sucre. La lecture est ensuite faite en ajustant la mise au point de l'oculaire de réfractomètre d'une sorte que la ligne horizontale qui partage la zone claire et la zone obscure soit au milieu de la croix. Une ligne verticale coupe deux échelles graduées directement en pourcentage de brix et en indice de réfraction, respectivement.

II.3.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH des échantillons du miel est déterminé à 20 °C en utilisant un pH-mètre. Une quantité de 2,5 g du miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée (10 % ; p/v). Après homogénéisation, l'électrode de pH-mètre est immergée dans la solution du miel et la valeur de pH est lue sur l'appareil après sa stabilisation.

II.3.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique des échantillons du miel est mesurée sur des solutions de 20 % (p/v). Une quantité du miel (M) est dissoute dans 25 ml de l'eau distillée de très faible conductivité électrique (0,4 $\mu\text{S cm}^{-1}$). Les valeurs de la conductivité des échantillons du miel sont données par un conductimètre et les résultats sont exprimés en (ms.cm^{-1}) après immersion de la sonde.

La quantité (M) du miel est calculée par la formule suivante :

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

Où : MS (matière sèche)= 100-taux d'humidité

La conductivité électrique est déterminée selon la formule suivante :

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

où :

CE: Conductivité Electrique.

0,032: Facteur de correction.

T°: Température ambiante de la mesure en °C (25 °C).

II.3.4. Couleur (Echelle Pfund)

La couleur du miel est déterminée en utilisant la méthode de **Kaškonienė et al. (2009)**. Une solution du miel à 50 % (p/v) est préparée et après homogénéisation, le mélange est chauffé à 40 °C pour éliminer les cristaux de sucres. Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à 635 nm et la classification des miels est faite selon l'échelle Pfund (Annexe2) après conversion des valeurs d'absorbance par la formule suivante :

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

où :

Pfund (mm): Intensité de couleur du miel dans l'échelle de Pfund exprimée en millimètre.

Abs: Absorbance de la solution du miel à 635 nm

-38,70 : Constante

371,39 : Constante

II.3.5. Hydroxy-méthyl furfural (HMF)

Une quantité de 5 g du miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, un volume de 0,5 ml de la solution de Carrez I (solution d'hexacyanoferrate de potassium à 15 % ; p/v) et 0,5 ml de la solution de Carrez II (solution d'acétate de zinc à 30 % ; p/v) sont additionnés. Le mélange est ensuite transféré dans une fiole et ajusté à 50 ml avec l'eau distillée. Après filtration avec le papier filtre Watman N°4, un volume de 5 ml de filtrat est mélangé avec 5 ml d'eau distillée (solution d'échantillons) et le même volume de filtrat est mélangé avec 5 ml de la solution de sodium bisulfite (0,2 % ; p/v) (Solution standard). Les absorbances sont lues à deux longueurs d'ondes à 284 nm et à 336 nm et les teneurs en HMF des échantillons du miel sont obtenues à partir de la formule suivante :

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

Où :

A₂₈₄ : Absorbance à 284 nm.

A₃₃₆ : Absorbance à 336 nm.

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

149,7 : Constante.

5 : Poids nominal théorique de l'échantillon.

II.3.6. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode décrite par **Azeredo et al. (2003)**. Le protocole consiste à mélanger 5 ml du réactif de Bradford avec 100µl de solution de miel à (50 % ; p/v). Après 2 min d'incubation, l'absorbance est lue à 595 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'albumine de sérum bovin (BSA) par 100g du miel en se référant à la courbe d'étalonnage de la BSA miel en se référant à la courbe d'étalonnage de la BSA (Annexe 5A).

II.3.7. Dosage de la proline

Les solutions utilisées pour le dosage de la proline sont : des solutions du miel à 5 % (p/v) de différents échantillons, une solution standard de proline à 0,003 % (p/v), de l'acide formique, une solution éthanolique de ninhydrine à 3 % (p/v), et une solution de 2-propanol 50 % (v/v). La réalisation de protocole est détaillée tel que le montre le tableau ci-dessous.

Tableau III : Protocole de dosage de proline

Les solutions	Solutions d'échantillon	Blanc	Solution standard
Solution de miel	0,5 ml	-	-
Eau distillée	-	0,5 ml	-
Solution de proline	-	-	0,5 ml
Acide formique	1 ml	1 ml	1 ml
Solution de la ninhydrine	1 ml	1 ml	1 ml
Incubation au bain marie agitateur à 100 °C pendant 15 min			
Transfert au bain marie à 70 °C pendant 10 min			
Solution de 2-propanol	5 ml	5 ml	5 ml
Après 45 min d'incubation, lecture des absorbances à 510nm			

La teneur en proline est déterminée par la formule suivante :

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

Où :

ES : Absorbance de l'échantillon du miel.

EA : Absorbance de la solution standard de la proline.

E₁ : mg de proline pour la solution standard.

E₂ : Quantité du miel.

80 : Facteur de dilution.

II.4. Dosage phyto-chimiques

II.4.1. Composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode de **Naithani et al. (2006)** en mélangeant un volume de 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (50% ; v/v), 100 µl de solution du miel (10% ; p/v) et 2ml de carbonate de sodium 2% (p/v). Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture des absorbances est faite à 750 nm. Les teneurs en composés phénoliques des miels sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par 100g de miel (mg EAG / 100 g) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons (Annexe 5B).

II.4.2. Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont estimées selon la méthode décrite par **Al et al. (2009)** qui consiste à mélanger 1ml de solution aqueuse de miel à (5% ; p/v) avec 0,3 ml de solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5 % (p/v). Cinq minutes plus tard, un volume de 0,3 ml de chlorure d'aluminium 10 % (p/v) est additionné et après 6 min, 2ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) 4 % (p/v) sont ajoutés. Les absorbances sont mesurées à 510 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercitrine par 100 g de miel (mg EQ/ 100 g) en utilisant comme référence la courbe d'étalonnage de la quercitrine qui a été réalisée dans les même conditions que les échantillons (Annexe 5C).

II.4.3. Caroténoïdes

La quantification des caroténoïdes dans les échantillons du miel est réalisée selon le protocole décrit par **Sass-Kiss et al. (2005)**. Pour cela 10 ml du mélange hexane, éthanol et acétone (2/ 1 /1, v/ v/ v) sont ajoutés à 4 g du miel. Après 5 heures d'agitation la phase hexanique est récupérée et les absorbances sont lues à 430 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de β -carotène par kg du miel en se référant à la courbe d'étalonnage du β -carotène (Annexe 5D).

II.5. Activités biologiques

II.5.1. Pouvoir anti-radicalaire par DPPH

Le test du radical DPPH est réalisé en mélangeant un volume de 0,5 ml de solution du miel (2,5 % ; p/v) avec 1 ml de solution éthanolique de DPPH (6×10^{-3} M). L'absorbance est lue à 517 nm après 15 min d'incubation à l'obscurité et le pourcentage de réduction est donné selon la formule suivante (**Meda et al., 2005**).

$$\text{Activité anti-radicalaire de DPPH(\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du contrôle

A_E : Absorbance de l'échantillon

II.5.2. Pouvoir anti-radicalaire par ABTS

Le test d'ABTS est effectué en suivant la méthode de **Re et al.(1999)**. Une solution ABTS est préparée en mélangeant 7mM d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium dans l'eau distillée. Après 16h, des dilutions avec l'éthanol ont été faites à partir de cette solution jusqu'à en avoir une solution de 0,7 d'absorbance à 734 nm. Un volume de 0,1 ml de solution aqueuse du miel (2,5% ; p/v) et 1 ml de solution ABTS sont mélangés.

Après incubation 7 min, le suivi de ce test à 734 nm permet d'évaluer le potentiel anti-radicalaire qui se calcule par la formule suivante :

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

Où :

A_C : Absorbance du contrôle.

A_E : Absorbance de l'échantillon.

II.5.3. Activité antibactérienne

Les échantillons du miel sont examinés pour leur activité antibactérienne sur une souche bactérienne (*Escherichia coli*, Gram négatif) par deux tests :

✚ Test de diffusion sur gélose

Le test de diffusion sur gélose est réalisé selon la méthode décrite par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). La souche bactérienne utilisée est repiquée dans un milieu de culture nutritif liquide et incubée à 37 °C pendant 24 h. Par la suite un ensemencement sur une gélose Mueller-Hinton est réalisé puis incubé à 37 °C entre 18 à 24 h. Après l'incubation, un inoculum est préparé en introduisant quelque colonies de bactéries dans une solution saline stérilisée (0,9 % ; p/v) pour avoir une absorbance comprise entre 0,08 et 0,10 à 620 nm, qui correspond à une turbidité de 0,5 McFarland. Ensuite, la suspension bactérienne préparée est ensemencée par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Muller-Hinton. À l'aide d'un embout stérile, 4 puits équidistants sont effectués dans la gélose. Deux concentrations du miel sont étudiées (1g/ml et 2g/ml). Chaque puits reçoit 100 µl du miel. Après 1 h de diffusion à 4 °C, les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 24 h. Le diamètre de chaque zone d'inhibition est identifié par l'absence de turbidité due au non croissance des bactéries, et donné en mm.

✚ Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices sont déterminées selon le protocole décrit par Patton et al., (2006). L'activité antibactérienne des échantillons est étudiée sur 6 concentrations de chaque miel : 1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 et 32 mg/ml. Pour cela des dilutions en série ont été réalisées sur une microplaque de 96 puits. Chaque puits renferme 300 µl comme volume total tel que le contrôle contient 150 µl de solution bactérienne et 150 de l'eau physiologique ; les autres puits contiennent chacun 150 µl de solution bactérienne et 150 µl du miel qui lui est respectif. Les absorbances sont lues à T_0 à 620 nm avec un lecteur de microplaques (Biotek) avant l'incubation. La plaque est ensuite incubée pendant 24 heures à 37 °C. Après incubation, les densités optiques sont de nouveau lues à T_{24} .

Le pourcentage d'inhibition est déterminé à l'aide de la formule suivante :

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

Où :

AT = Absorbance T24 - Absorbance T0 de l'échantillon.

AC = Absorbance T24 - Absorbance T0 de contrôle.

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

II.5.4. Activité anti-hémolytique

Pour réaliser le test anti-hémolytique, quatre échantillons du sang sont utilisés pour préparer des solutions érythrocytaires. Le sang a été prélevé sur des individus sains non-fumeurs, ne prenant aucun traitement médicamenteux ou autre complément alimentaire, au niveau des deux laboratoires d'analyses Laalaoui et Kebbiche. Une fois récupérés dans des tubes héparinés, les échantillons de sang sont acheminés au laboratoire dans une glacière à 4°C où ils sont centrifugés à 4000 rpm pendant 15 min. Le culot du sang récupéré est soumis à 3 lavages successifs avec un tampon phosphate (PBS) iso-salin (10 mM, 154 mM NaCl, pH= 7,4). Après lavage, la suspension érythrocytaire à 10 % est préparée dans du PBS iso-salin (**Rani et al., 2014**). L'hémolyse des érythrocytes est induite par un choc hypotonique avec une solution hypotonique de 50 mM suivant la méthode de **Shinde et al. (1999)**. Dans ce test les solutions du miel à 2,5 % (p/v), une solution standard d'Aspirine (2 mg/ml) et une solution glucose (0,05 g/ml) sont préparées, et le protocole est réalisé comme le résume le tableau IV où le contrôle négatif est l'eau distillée et le contrôle positif c'est le PBS iso-salin.

Tableau IV : Protocole d'activité anti hémolytique

Les solutions	Tubes test	Tubes standard	Contrôle négatif	Contrôle positif	Glucose
Solutions de miel	5 ml	-	-	5 ml	-
Suspension érythrocytaire	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Aspirine	-	5 ml	-	-	-
Eau distillée	-	-	5 ml	-	-
Tampon isotonique	-	-	-	5 ml	-
Tampon hypotonique	5 ml	5 ml	5 ml	-	5 ml
Solution de glucose	-	-	-	-	5 ml

Après une dernière centrifugation l'absorbance du surnageant est lue à 540 nm .

Le pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque échantillon selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Do contrôle (+)} - \text{Do échantillon}) / \text{Do contrôle (+)} \times 100$$

Où :

Do contrôle (+): Densité optique de contrôle positif.

Do échantillon : Densité optique de l'échantillon.

II.6. Analyse statistique

Tous les résultats expérimentaux sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type de trois essais (n=3). Le programme Microsoft office Excel 2016 est utilisé pour calculer les moyennes et les écart type. Afin de vérifier la normalité et l'homogénéité des variables étudiés le test de Kolmogorov-Smirnov et le test de Leven sont utilisés, respectivement. Une ANOVA (analyse de variance à un seul critère de classification) est effectuée à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1 dans le but de déterminer les différences significatives entre les différents échantillons, ainsi que le test post-hoc HSD Tukey est réalisé pour la comparaison des moyennes. Cependant l'ANOVA de Kruskal-Wallis est appliqué aux variables avec de variances non homogènes. L'analyse en composantes principales (ACP) et la classification hiérarchique ascendante (CHA) sont utilisées pour mieux interpréter les données sur un espace réduit et pour mieux visualiser les différences et les similitudes entre les différents paramètres des miels analysés.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

III.1. Analyses polliniques

L'analyse pollinique est une étude quantitative et qualitative indispensable pour déterminer l'origine botanique et géographique des miels (Nair, 2014).

Les fréquences des grains de pollen identifiés sont classées selon les catégories suivantes: pollens dominants (≥ 45 %) ; pollens secondaires (16-44 %) ; pollens minoritaires (15-3 %) et pollens très minoritaires (< 3 %) (Ouchemoukh et al., 2007 ; Makhloufi et al., 2010).

Les analyses polliniques récapitulées dans le tableau V, révèlent la présence de 27 familles de pollens dans les échantillons analysés dont 2 types (*Apiaceae* et *Fabaceae*) sont identifiés comme étant dominants dans 3 miels monofloraux (M1, M4, et M5). Les miels polyfloraux sont dépourvus de pollens dominants et renferment des pollens secondaires dont *Apiaceae*, *Fabaceae* (miels M3 et M7), *Ericaceae* (miels M2 et M6), *Poaceae* (M6). Ces résultats peuvent être expliqués par la diversité géographique et florale des échantillons analysés. L'existence des miels polyfloraux peut aussi être expliquée par l'absence de monocultures dans les régions où la récolte du miel est effectuée (Ouchmoukh, 2012).

Dans l'étude présente, le pollen de la famille des *Apiaceae* est dominant dans le miel M1 de la région de Tizi-ouzou avec une fréquence de 55 % et secondaire dans les miels M3, M5 et M7, il est également présent comme pollen minoritaire dans le miel d'Akfadou (M6). Cela est en accord avec l'étude de Louveau et Abed, (1984) qui a révélé que le pollen de la famille des *Apiaceae* est abondant dans les miels du nord-africain ; ils sont également identifiés dans les régions du Maroc (Terrab et al., 2002). Le miel d'*Apiaceae* (M1) contient des levures de type *Alternaria sp* ce qui indique qu'il est fermenté .

Le pollen de la famille botanique des *Fabaceae* est dominant dans deux miels; celui de Djelfa (M4) et de Laghouat (M5) avec des fréquences respectives 57 % et 45 % , il est également présent dans tous les autres échantillons en tant que secondaire ou minoritaire. Ces résultats sont conformes avec ceux trouvés par Crane, (1991) dont l'étude a abouti à la conclusion que les familles *Fabaceae*, *Asteraceae* et *Bracecceaee* sont les familles mellifères qui dominent les différents miels du monde. C'est le même résultat obtenu par Zerrouk et al. (2014) et Haouam, (2016). Nair en 2014 a trouvé la dominance des *Fabaceae* dans deux échantillons de l'ouest Algérien.

Le spectre pollinique du miel M2 de la région de Bouhatem ne comporte pas de dominance, cependant on y retrouve secondairement le pollen d'*Ericaceae* et de *Poaceae* qui est en commun avec le miel de la région d'Akfadou (M6), cela peut être expliqué par la présence de la même flore car ils sont géographiquement proches.

Les pollens d'accompagnement minoritaires de la famille *Rosaceae* existent dans les miels (M2, M3, M4, M5, M6, et M7) dont trois proviennent des régions relativement arides (M'Sila, Djelfa, Laghouat) cela est compatible à l'étude non datée de Chefrour et Tahar qui ont révélé que la famille des *Rosaceae* est la plus représentée dans certains miels de régions arides. Ceci indique que l'origine botanique du miel est liée à son origine géographique (Ouchmoukh, 2012).

Les miels analysés sont aussi caractérisés par la présence de pollen très minoritaires de plusieurs familles telles que *Boraginaceae*, *Caprifoliaceae*, *Césalpinaceae*, *Cistaceae*.

Les différences dans la teneur en pollen peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, la distance de la ruche au champ de fleurs ou l'abeille peut prélever du pollen seulement sans prenant du nectar (Von der Ohe, 1994 ; Anklam, 1998) .

III.1.1. Vérification des noms commerciaux des miels

Dans cette étude les analyses polliniques ont permis d'identifier deux types de miels monofloraux (miel d'*Apiaceae* et miel de *Fabaceae*) et des miels polyfloraux .

Parmi les échantillons analysés, aucun ne correspond aux appellations commerciales. Les miels M2 et M6 sont présumés d'arbousier mais ils ne présentent pas la dominance des pollens d'*Ericaceae*. Cependant ils l'ont secondairement ils sont donc des miels polyfloraux. Le pollen de *Fabaceae* domine les miels M4 et M5 néanmoins ils sont présumés respectivement miel de jujubier et miel d'euphorbe. Les miels M3 et M7 ne présentent pas de pollens dominants et ont été qualifiés comme étant des miels monofloraux .

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

Echantillon	Origine florale	Pollens dominants (≥45%)		Pollens secondaires (16-44%)		Pollens minoritaires (3-15%)		Pollens très minoritaires (< 3%)	
		Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)
M1	MF	<i>Apiaceae</i>	55			<i>Fabaceae</i> <i>Asteraceae</i> <i>Teliaceae</i> <i>Poaceae</i>	15 8 7 6	<i>Fagaceae</i> <i>Cistaceae</i> <i>Boraginaceae</i> <i>Caprifoliaceae</i> <i>Césalpinaceae</i>	3 2 2 1 1
M2	PF			<i>Poaceae</i> <i>Ericaceae</i>	39 17	<i>Fagaceae</i> <i>Cistaceae</i> <i>Fabaceae</i> <i>Alocynaceae</i> <i>Astéraceae</i> <i>Rosaceae</i>	14 11 5 4 3 3	<i>Lamiaceae</i>	2
M3	PF			<i>Fabaceae</i> <i>Apiaceae</i>	25 21	<i>Plantaginaceae</i> <i>Eucalyptus</i> <i>Bourraginaceae</i> <i>Ericaceae</i> <i>Astéraceae</i> <i>Rosaceae</i> <i>Poaceae</i> <i>Rutaceae</i>	11 8 7 6 6 6 4 4	<i>Cucurbitaceae</i> <i>Rhamnaceae</i>	1 1
M4	MF	<i>Fabaceae</i>	57			<i>Liliaceae</i> <i>Astéraceae</i> <i>Myrtaceae</i> <i>Eucalyptus</i> <i>Rosaceae</i>	11 10 8 6 4	<i>Fagaceae</i> <i>Apiaceae</i>	2 2

Echantillon	Origine florale	Pollens dominants (≥45%)		Pollens secondaires (16-44%)		Pollens minoritaires (3-15%)		Pollens très minoritaires (< 3%)	
		Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)	Type de pollen	F (%)
M5	MF	<i>Fabaceae</i>	45	<i>Apiaceae</i>	29	<i>Rosaceae</i> <i>Liliaceae</i> <i>Astéraceae</i>	9 7 6	<i>Bouraginaceae</i> <i>Eucalyptus</i>	2 2
M6	PF			<i>Ericaceae</i> <i>Poaceae</i>	26 19	<i>Gentianaceae</i> <i>Rosaceae</i> <i>Cistaceae</i> <i>Astéraceae</i> <i>Apiaceae</i>	15 12 10 7 4	<i>Nysaceae</i> <i>Aquifoliaceae</i> <i>Caprifoliaceae</i> <i>Fabaceae</i> <i>Hippocastanaceae</i> <i>polygonaceae</i>	2 1 1 1 1 1
M7	PF			<i>Apiaceae</i> <i>Fabaceae</i>	42 35	<i>Astéraceae</i> <i>Caluna vulgaris</i> <i>Rosaceae</i> <i>Myrtaceae</i>	7 5 4 3	<i>Ericaceae</i> <i>Liliaceae</i>	2 2

PF : PolyFloral. MF : MonoFloral. F : Fréquence.

III.2. Analyses physico-chimiques

Pour une détermination correcte de l'origine botanique du miel, l'analyse pollinique doit être complétée par une analyse physico-chimique (Von Der Ohe *et al.*, 2004). Les résultats des paramètres physico-chimiques des miels analysés ont fait l'objet de comparaison aux normes légales établit par le **Codex Alimentarius** et la **Commission Européenne de Miel**.

III.2.1. Brix

Le degré de brix est la mesure de la teneur en solides solubles totaux dans le miel qui sont représentés par les sucres solubles, un pourcentage de sucre est considéré comme étant degré de brix (Albu *et al.*, 2021). Les résultats de brix des miels étudiés sont illustrés dans la figure 5.

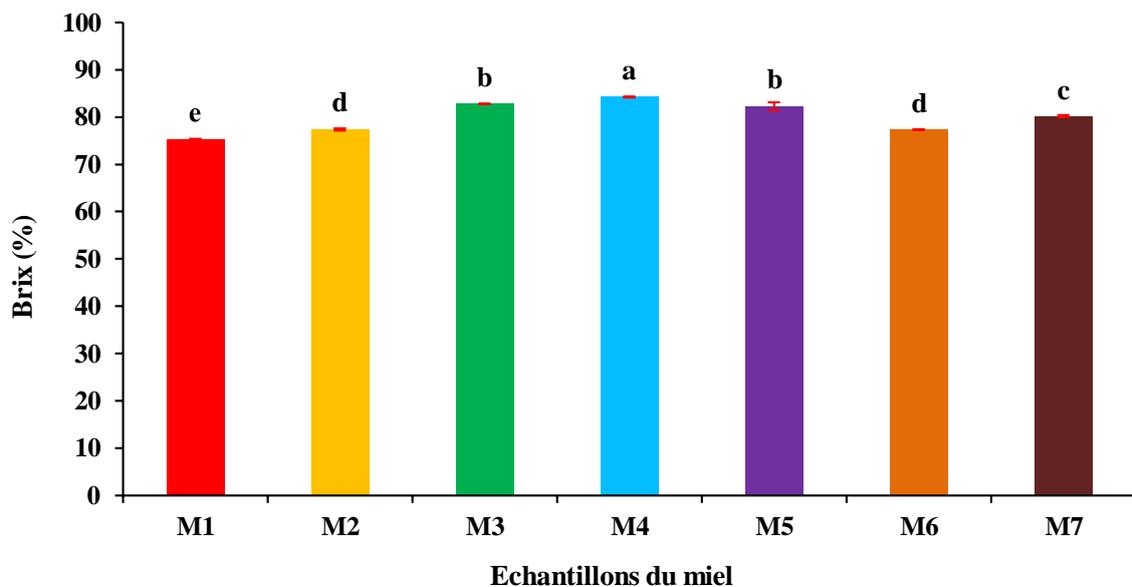


Figure 5: Résultats de degré de brix des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

Le brix des échantillons du miel analysés varient entre 75,4 et 84,27 %. Ces résultats sont supérieurs à la limite minimale fixée par le **Codex Alimentaire (2001)** (au minimum 65 %).

Le miel de Djelfa (M4) , de M'sila (M3) et de Laghouat (M5) montrent les valeurs de brix les plus élevées avec des pourcentages respectives de 84,27 ; 82,8 , et 82,23 % ce qui montre la richesse de ces échantillons en glucides. Tandis que l'échantillon d'Akfadou (M6) et de Tizi-ouzou (M1) sont moins riches en sucres avec des valeurs respectives de 77,33 et de 75,4 % .Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Bentabol Manzanares et al. (2011)** (74,57 à 84,75 %) et largement supérieurs à ceux obtenus par **Islam et al. (2012)** sur les miels du Bangladesh (42,8 à 60,6 %).

L'analyse statistiques de brix des échantillons du miel, montre deux groupes homogènes (M2 et M6) et (M3 et M5) qui ne présentent pas de différence significative en terme de brix par rapport aux autres échantillons ($p < 0,05$).

La variation des teneurs en sucre des miels étudiés dépend de l'origine botanique des plantes à partir desquelles le miellat et/ou le nectar a été récolté et la région de récolte du miel (**Ouchmoukh, 2012**).

III.2.2. Humidité

La teneur en eau de miel est un facteur important pour l'évaluation de son degré de maturité et de sa durée de vie. Généralement, elle conditionne la qualité du miel car elle est étroitement liée à sa cristallisation, sa fermentation et à sa saveur (**Belhaj et al., 2015**).

Les différents résultats de la teneur en eau des miels analysés sont représentés dans la figure 6. L'humidité des échantillons étudiés varie entre 13,87 et 22,65 %. Cet intervalle correspond aux normes fixées par le **Codex Alimentaire (2001)** et la **Commission Européenne (2002)**, ce qui indique que les échantillons analysés sont mûrs et ont un très faible risque de fermentation à l'exception du miel (M1) qui dépasse légèrement la limite autorisée (<20 %) avec un pourcentage de 22,65 %.

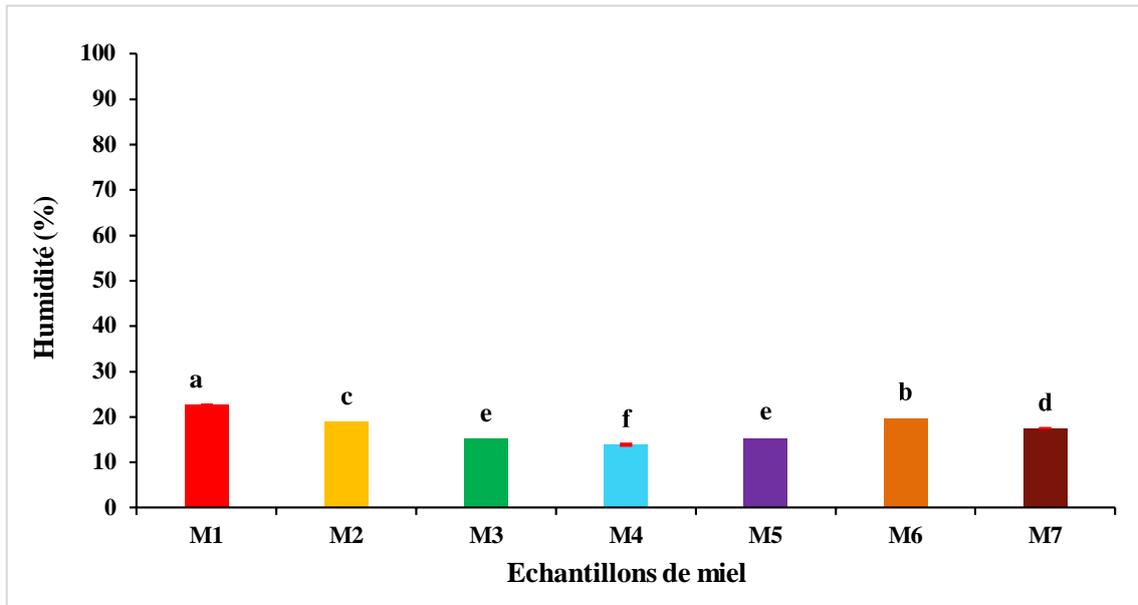


Figure 6: Taux d'humidité des miels analysés

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

La teneur en eau des miels analysés varie significativement en fonction des régions. Le miel de Tizi-ouzou (M1) montre la plus grande teneur en eau 22,65 % ce qui peut être dû au phénomène d'hygroscopie, à la teneur élevée du nectar et/ou du miellat en eau, aux mauvaises conditions de stockage ou bien à la récolte précoce de ce miel. En effet, l'analyse pollinique montre la présence de nombreuses levures dans ce miel (M1).

Les miels polyfloraux de Bouhatem (M2) et Akfadou (M6 et M7) ont une teneur en eau significativement plus élevée par rapport aux échantillons de M'sila (M3), Djelfa (M4) et Laghouat (M5) avec des pourcentages de 18,95 ; 19,69 et 17,51 %, respectivement, cela augmente le risque de fermentation de ces échantillons.

Tous les échantillons analysés montrent des différences significatives ($p<0,05$) pour la teneur en eau à l'exception des miels de M'sila (M3) et de Laghouat (M5) qui ne sont pas statistiquement différents.

Le miel *Fabaceae* de Djelfa (M4) présente la plus faible teneur en eau avec une valeur de 13,87 %. Ce résultat est similaire à celui rapporté par **Doukani et al. (2014)** sur un miel de Tiaret (13,4 %) et ceci pourrait s'expliquer par le climat chaud et sec de cette région. En effet l'humidité dépend du climat. Plus l'environnement de la ruche est chaud, plus l'humidité du miel est faible. En fortes chaleurs et pour garder une température de 36 °C dans la ruche, les abeilles ventileuses battent leurs ailes, l'air ainsi produit pourrait se charger de l'humidité et par conséquence cela provoque le séchage du miel (**Ouchmoukh, 2012**).

La faible teneur en humidité protège le miel du risque de fermentation et permet ainsi sa préservation pour des périodes plus longues (**Laouar, 2016**).

Les taux d'humidité obtenus dans la présente étude sont proches de ceux de **Makhloufi et al. (2010)**, qui ont trouvé des teneurs en eau entre 13,9 et 20,2 %.

La variation d'humidité des miels étudiés peut être due aux différents facteurs tels que le climat, l'origine florale (humidité du nectar et/ou du miellat), à la force des colonies d'abeilles, aux techniques de récolte et aux conditions de stockage (**Doukani et al., 2014**).

III.2.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique est liée à la concentration des sels minéraux et d'acides organiques et donc à la capacité de l'échantillon de miel à transmettre un flux électrique. Ce paramètre est exploité pour différencier les miels de nectar qui doivent avoir des valeurs de conductivité inférieures à 0,8 mS /cm, de ceux de miellats dont la conductivité doit être supérieur à 0,8 mS/cm (**Codex Alimentarius, 2001**).

Les résultats de la conductivité électrique des échantillons du miel étudiés sont représentés dans la figure suivante .

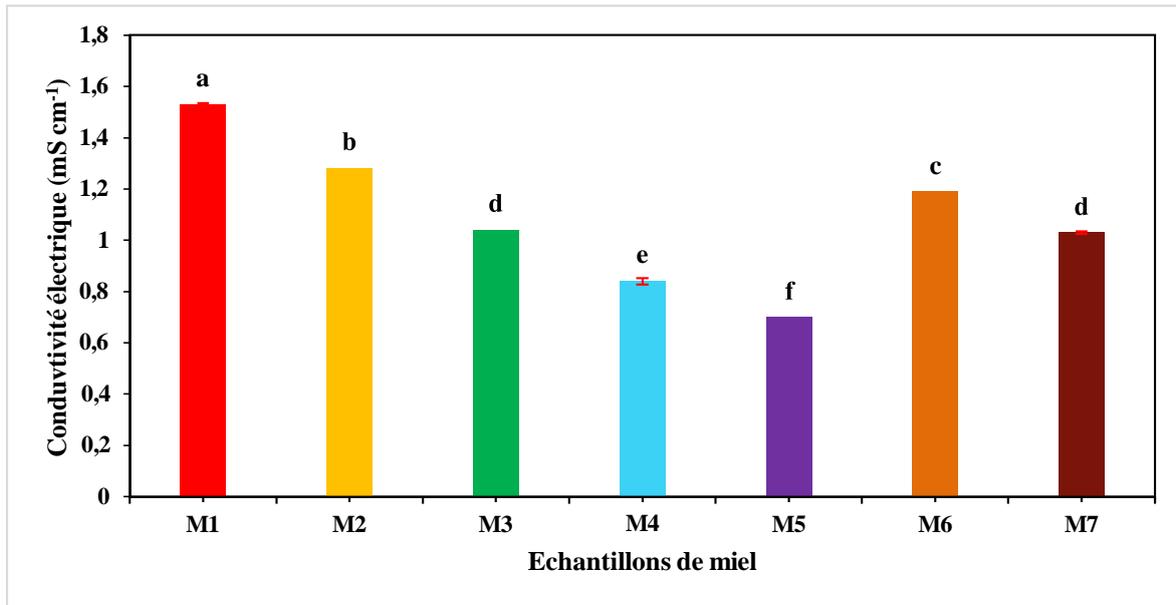


Figure 7 : Conductivité électrique des miels analysés

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

La conductivité électrique des miels analysés varie de 0,7 à 1,53 mS/cm, obtenues respectivement par les miels M5 et M1. Cet intervalle est différent de celui rapporté par **Belay et al. (2013)** (0,63 à 0,79 mS / cm) sur les miels d'Ethiopie et par **Yucel et al. (2013)** sur les miels de la Turquie (0,17 à 1,04 mS/cm).

L'analyse statistique relative à la conductivité électrique montre qu'il n'y a pas une différence significative entre les échantillons du miel M3 et M7 ($p<0,05$).

Le miel M1 montre une conductivité de 1,53 mS /cm, selon ce résultat il doit être issu de miellat, cependant l'analyse pollinique de cet échantillon a déjà révélé qu'il est un miel monofloral d'*Apiaceae* ceci pourrait être expliqué par le fait qu'il est probablement issu de mélange de nectar et de miellat.

Les différences de conductivités électriques entre les miels analysés peuvent être expliquées par la variabilité de l'origine botanique, la composition chimique de ces miels et des teneurs en minéraux, acides organiques, et autres substances ionisables. (**Belay et al., 2013**).

III.2.4. pH

Les résultats de pH obtenus montrent que les miels analysés sont relativement acides avec des valeurs qui oscillent entre 3,52 et 4,28 et qui sont enregistrés respectivement par les échantillons de Laghouat (M5) et de Djelfa (M4). Ces valeurs sont en accord avec les recommandations du **Codex Alimentaire (2001)**. Selon **Bogdanov et al. (1999)** les miels issus du nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5 tandis que pour les miels de miellat il varie de 4,5 à 5,5. Les résultats du pH montrent que les miels analysés sont issus de fleurs. Toutefois, la conductivité électrique de ces miels indique qu'ils proviennent de miellat, ce qui suggère qu'ils sont probablement un mélange de nectar et de miellat.

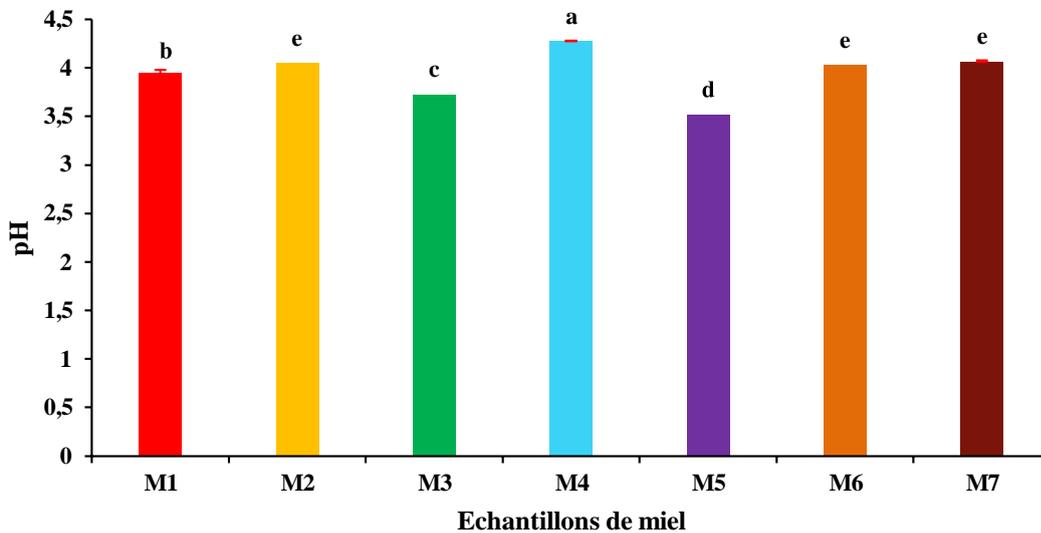


Figure 8 : pH des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p < 0,05$).

L'analyse statistique de pH a révélé la présence d'un groupe homogène (M2, M6 et M7) dont les valeurs de pH ne sont pas statistiquement différentes ($p < 0,05$).

Les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés par **Doukani et al. (2014)** (3,70 à 4,05) sur des miels Algériens et par **Sakač et al. (2019)** sur les miels de Serbie (3,38 à 4,19).

La variation du pH des miels dépend de la flore butinée, de la sécrétion salivaire de l'abeille et de processus enzymatiques et fermentatifs durant la transformation de la matière première (**Louveaux, 1968**).

III.2.5. Couleur (échelle Pfund)

La couleur est le premier critère attractif du miel. C'est un paramètre de qualité qui joue un rôle important dans le choix du miel par le consommateur (Missio da Silva *et al.*, 2016). Les miels analysés enregistrent un intervalle d'intensité de couleur allant de 52,41 (M7) jusqu'à 375,77 (M1) mm Pfund (Figure 9). Cet intervalle est plus élevé que celui obtenu par Izzah Ismail *et al.* (2021) dans les miels Malaisiens (51 à 150 mm Pfund) et celui de Pauliuc *et al.* (2020) dans les miels Roumains (29 à 74 mm Pfund).

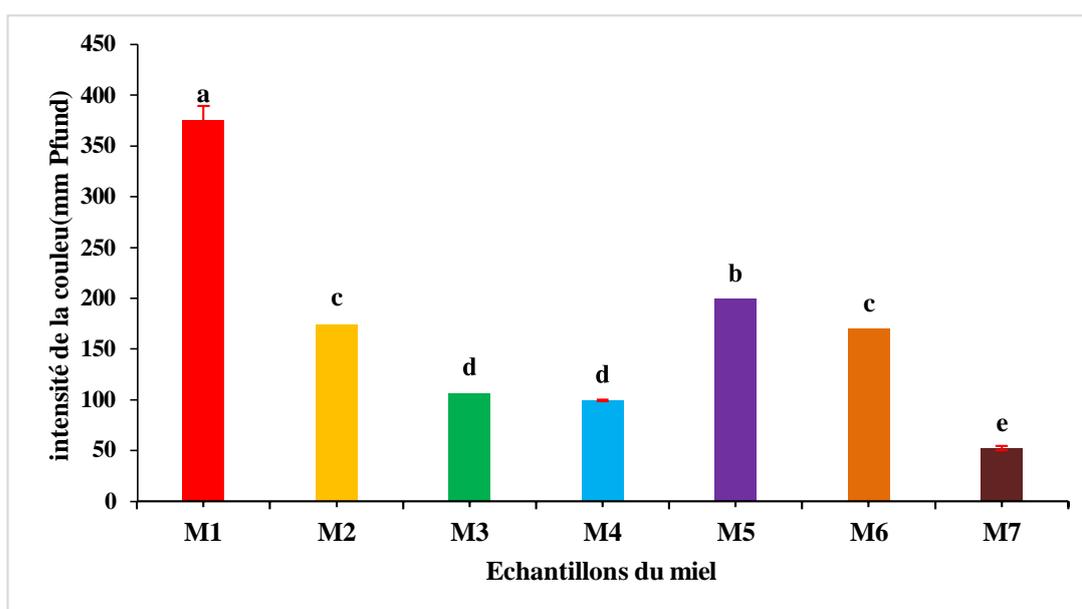


Figure 9: Intensité de couleur (échelle Pfund) des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

Les résultats obtenus montrent que la couleur des miels analysés varie de l'ambre clair à l'ambre foncé (Tableau VI). Les miels foncés tels que les échantillons qui proviennent de Tizou-ouzou (M1), Bouhatem (M2), M'sila (M3) et d'Akfadou (M6) montrent les intensités de couleur les plus élevées par rapport aux miels ambre de Djelfa (M4) et ambre clair d'Akfadou (M7).

Le test ANOVA des miels analysés montre la présence de deux groupes homogènes (M2 et M6) et (M3 et M4).

La couleur du miel est étroitement liée à sa teneur en caroténoïdes, acides phénoliques, flavonoïdes et protéine et à d'autres facteurs également comme l'origine botanique, le contact avec des métaux et l'exposition soit à des températures élevées ou à la lumière (Alvarez, 2010 ; Doukani, 2014).

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

Echantillons	Nom de la couleur
M1	Amber foncé
M2	Amber foncé
M3	Amber
M4	Amber
M5	Amber foncé
M6	Amber foncé
M7	Amber clair

III.2.6. Teneurs en HMF

L'HMF est un produit de déshydratation des sucres et sa concentration est proportionnelle au temps et à la température de stockage du miel. Il est considéré comme un indicateur de fraîcheur du miel. Son taux ne doit pas dépasser, en général, 40 mg/kg (Barth, 2020 ; Turhan et al., 2008).

Les résultats présentés dans la figure 10 montrent que les teneurs en HMF des différents miels analysés varient de 3,14 mg/kg (M3) à 149,9 mg/kg (M2) . Cet intervalle est différent de celui obtenu par Izzah Ismail et al.(2021) (0,7à 163,15 mg/kg) et par Makhloufi et al. (2007) (0,5 à 124 mg/kg).

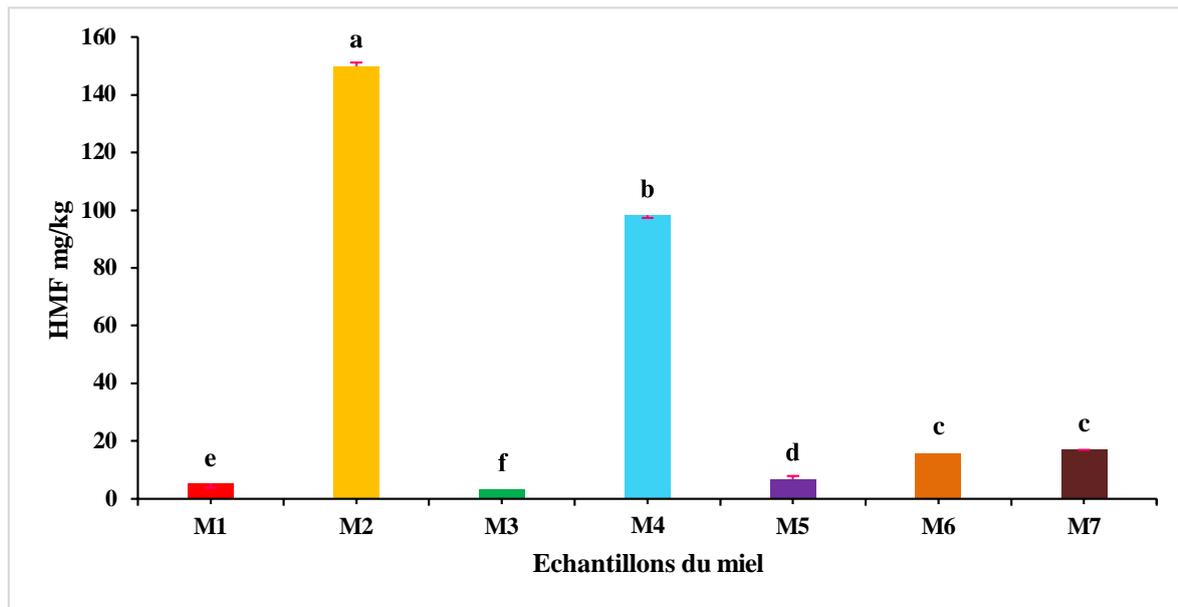


Figure 10: Teneurs en HMF des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en HMF des miels analysés sont en accord avec les normes préconisées par le **Codex Alimentaire** (40 mg/kg), à l'exception des échantillons M2 et M4 qui ont des teneurs de 149,9 et 98,35 mg/kg, respectivement. Ceci pourrait être dû au chauffage des miels pour éviter leur cristallisation et/ou à leur stockage dans des endroits chauds. Il convient de noter que dans notre étude les valeurs de HMF sont un peu plus élevées par rapport aux miels Européens qui sont généralement inférieurs à 10 mg/kg. Le climat Algérien chaud peut être la cause de ce phénomène (**Makhloufi et al., 2010**).

L'analyse statistique montre un seul groupe homogène (M6 et M7). Les autres échantillons sont statistiquement différents ($p<0,05$).

Plusieurs facteurs tels que la source florale, le type de sucre, la température, l'acidité, et la durée de stockage sont associés à la formation de HMF dans le miel (**Belhaj et al., 2015**).

III.2.7. Teneurs en protéines

Les résultats des teneurs en protéines sont représentés dans la figure 11. La valeur la plus élevée est obtenue par le miel M5 (113,34 mg EBSA / 100g) tandis que la faible valeur est enregistré par le miel M2 (42,6 mg EBSA / 100g). Les teneurs obtenues sont incluses dans l'intervalle rapporté par **Ouchmoukh, (2012)** pour les miels Algériens (45,26 à 251,27 mg EBSA/100 g). Cependant, **Alvarez-Suarez et al. (2010)** ont rapporté des teneurs inférieures dans les miels Cubains (12 à 92,3 mg EBSA/100 g).

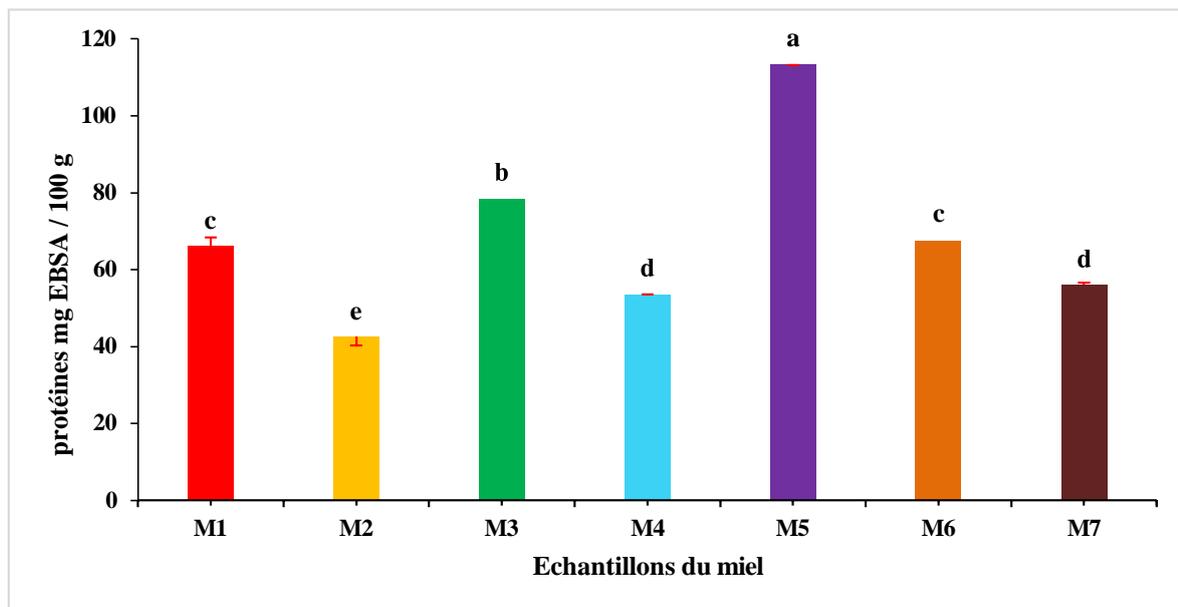


Figure 11 : Teneur en protéines des échantillons du miel analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

L'analyse statistique montre la présence de deux groupes homogènes et il s'agit de (M1 et M6) et (M4 et M7) qui ne sont pas significativement différents ($p<0,05$).

La teneur en protéine des miels est en relation avec les origines botanique et géographique, la présence d'enzymes ajoutées par les abeilles au cours de l'élaboration et le nombre de grains de pollen présents dans le miel (**Moniruzzaman et al., 2013**).

III.2.8. Teneurs en proline

La proline est le principal acide aminé du miel (50 à 80 %), résultant principalement des sécrétions salivaires des abeilles. Il est utilisé comme un paramètre d'évaluation de degré de maturité du miel. Sa teneur doit être supérieure ou égale à 180 mg/kg (**Bogdanov et al., 1999 ; Cianciosi et al., 2018**).

Les teneurs en proline des miels analysés sont données dans la figure 12. Les résultats obtenus révèlent que tous les miels analysés ont des taux de proline supérieurs à la limite minimale fixée par le **Codex Alimentaire (2001)** (>183 mg/kg). Ce qui confirme que tous les échantillons analysés sont mûrs et non adultérés. Les histogrammes ci-dessous montrent que les miels *Fabaceae* de Djelfa (M4) et de Laghouat (M5) sont les plus riches en proline avec des teneurs de 314,01 et de 313,53 mg/kg, respectivement. Cependant, le miel de Bouhatem (M2) est le moins riche en proline (181,21 mg/kg).

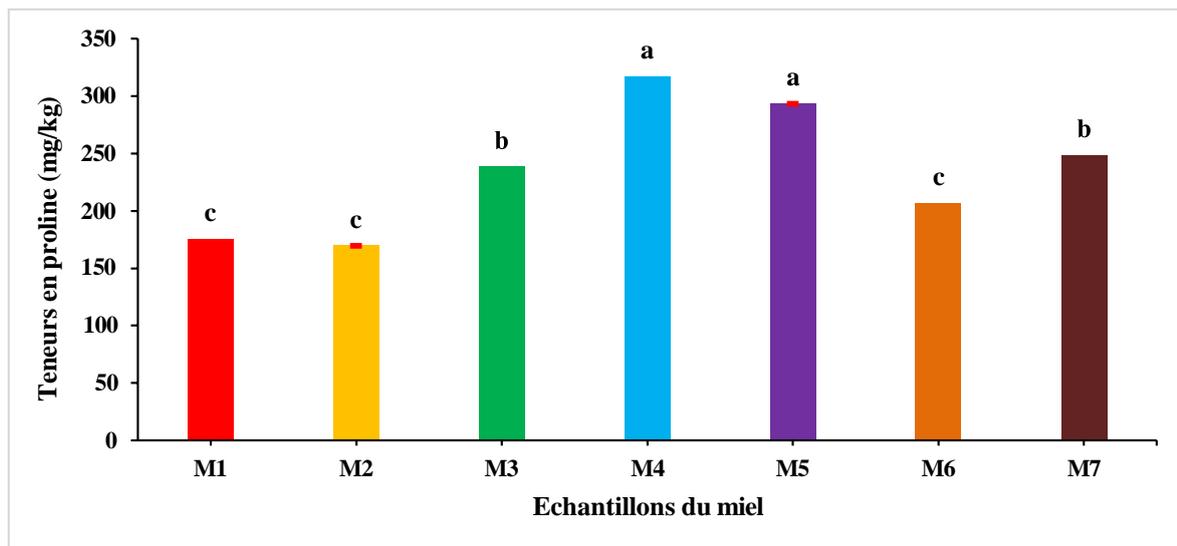


Figure 12 : Teneurs en proline des échantillons du miel analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p < 0,05$).

Les teneurs en proline obtenues dans la présente étude sont inférieures à celles rapportées par **Meda et al. (2005)** pour les miels de Burkina Faso (437,8 à 2169,4 mg/kg) et par **Czipa et al. (2011)** pour les miels Hongrois (252 à 2283 mg/kg). En revanche, les valeurs obtenues sont supérieures à celles rapportées par **Boussaid et al., (2014)** pour les miels de la Tunisie (39,62 à 102,60 mg/kg).

L'analyse statistique montre la présence de trois groupes homogènes (M1, M2, et M6), (M3 et M7) et (M4 et M5) qui ne présentent pas une différence significative ($p < 0,05$).

Les variations des teneurs en proline peuvent être attribuées au pollen que l'abeille consomme et à la force des colonies des abeilles (Ouchmoukh, 2012).

III.3. Teneurs en antioxydants

III.3.1. Composés phénoliques totaux

Tous les miels analysés montrent la présence des composés phénoliques et les différentes teneurs obtenues sont présentées dans la figure 13. Selon les résultats obtenus, le miel de Tizi-ouzou (M1) ($182,67 \pm 2,10$ mg EAG/100 g) est le plus riche en composés phénolique en comparaison avec le miel d'Akfadou (M7) qui est le moins riche en ces composés et qui affiche une teneur de 90,21 EAG/100 g. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Laouar, (2017) pour les miels du nord est Algérien (39,78 à 108,69 mg EAG/100 g) mais inférieurs à ceux rapportés par Doukani et al. (2014) avec des valeurs qui varient de 166,11 à 427,14 mg EAG/100 g.

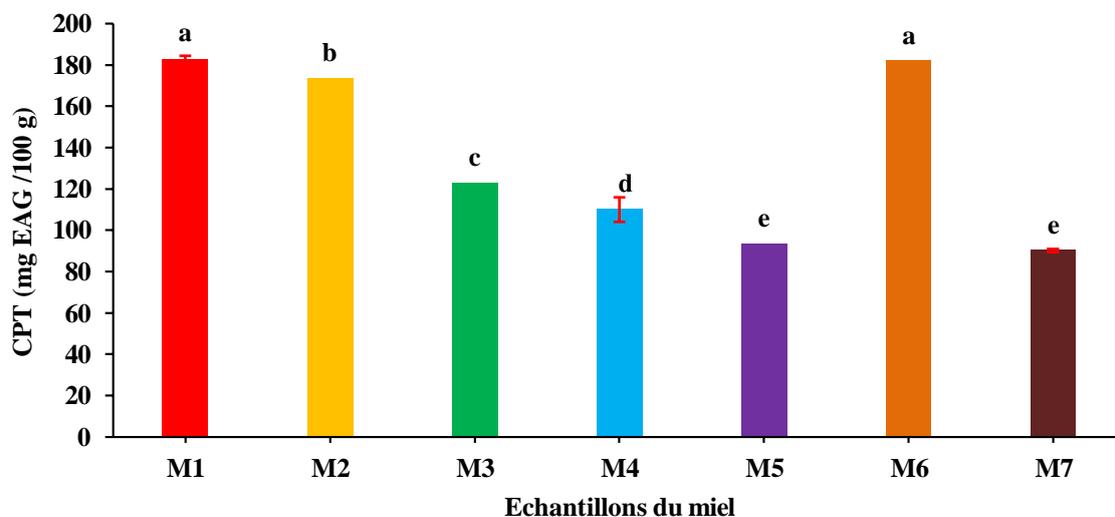


Figure 13: Teneurs en composés phénoliques totaux des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p < 0,05$).

Selon **Beretta et al. (2005)** les miels foncés ont des teneurs plus élevées en composés phénoliques par rapport aux miels clairs, ceci a été constaté dans le présent travail. En fait les miels ambre foncés de Tizi-ouzou (M1) et d'Akfadou (M6) enregistrent les concentrations de phénols totaux les plus élevées. En revanche, La teneur la plus faible est obtenue par le miel ambre clair d'Akfadou (M7).

L'ANOVA montre deux groupes homogènes qui ne présentent pas de différence significative pour les teneurs en polyphénols (M1 et M6) et (M5 et M7) ($p < 0,05$).

La teneur en composés phénoliques dans le miel dépend principalement de la source butinée ainsi que les conditions géographiques et climatiques. En fait la teneur en polyphénols peut aussi servir d'outil d'authentification notamment pour les variétés uniflorales; certains auteurs ont rapporté qu'à certaines saisons de l'année, la floraison est si rare que les apiculteurs doivent nourrir les abeilles avec du sirop de sucre, ce qui entraîne la diminution en composés phénoliques (**Becerril-Sanchez et al., 2021 ; Ciansioci et al., 2018 ; Stankoviç et al., 2020**).

III.3.2. Flavonoïdes

Tous les miels testés renferment des flavonoïdes et selon les résultats illustrés dans la figure 14, le meilleur taux revient au miel ambre foncé d'Akfadou (M6) avec une concentration de 99,44 mg EQ/100 g tandis que la teneur la plus faible est obtenue par le miel ambre clair de Djelfa (M4) avec une valeur de 37,89 mg EQ/100 g. Cela correspond aux études antérieures qui ont montré que les miels les plus foncés contiennent des quantités de flavonoïdes supérieures aux miels plus pâles, ainsi qu'une plus grande capacité antioxydante (**Doukani et al., 2014**).

L'analyse statistique des taux des flavonoïdes des échantillons analysés révèle deux groupes homogènes (M1 et M3) et (M4 et M7) qui ne présentent pas de différence significative ($p < 0,05$).

La quantité et le type des flavonoïdes trouvés dans le miel varient selon la source forale et géographique du miel (**Doukani et al., 2014**).

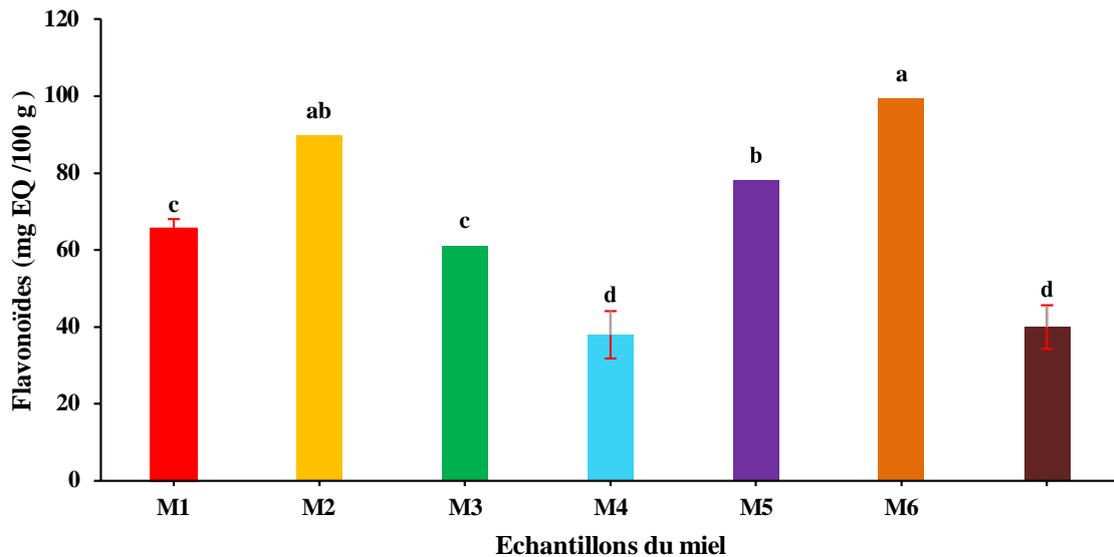


Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

III.3.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles naturels responsables de pigmentation des végétaux, ces composés sont susceptibles d'avoir des activités biologiques notamment l'activité anti-oxydante (**Choubert et al., 2001**).

Selon les résultats illustrés dans la figure 15, la teneur la plus élevée en caroténoïdes est enregistré par le miel de Bouhathem (M2) avec une concentration de 5,77 mg E β -carot/kg par contre le taux le plus faible est obtenu par le miel de Tizi-ouzou (M1) avec une valeur de 2,16 mg E β -carot/kg. Ces résultats sont proches à ceux rapportés par **Boussaid et al. (2014)** dans les miels Tunisiens (1,16 à 4,72 mg E β -carot/kg) et inférieur aux valeurs trouvés par **Mouhoubi-Tafnine et al. (2016)** dans les miels Algériens (3 à 10,1 mg E β -carot/kg).

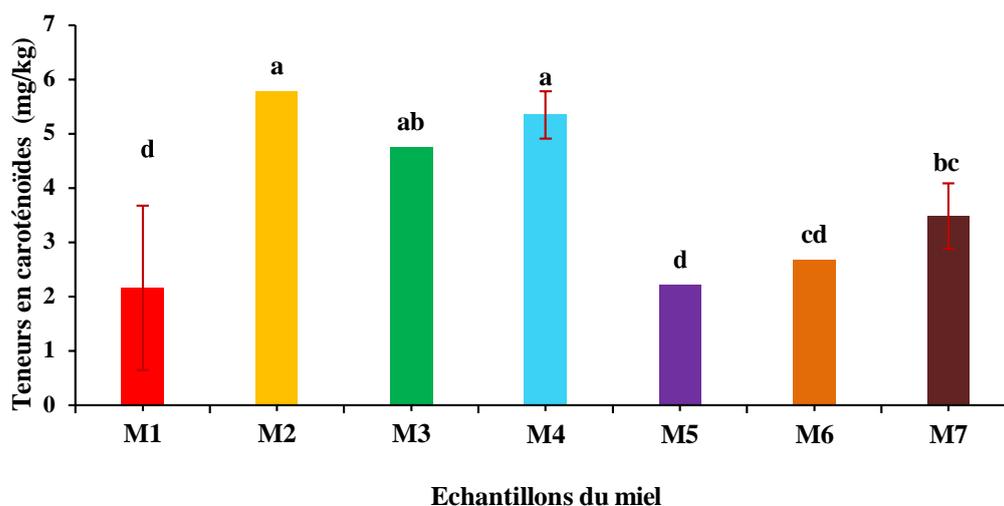


Figure 15: Teneurs en caroténoïdes totaux des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

L'analyse statistique des teneurs en caroténoïdes montre la présence de deux groupes homogènes (M2 et M4) et (M1 et M5) qui ne présentent pas de différence significative à $p<0,05$.

Les conditions de culture et la maturité des fleurs butinés par les abeilles peut influencer la quantité de caroténoïdes dans le miel, ils dépendent également de la zone géographique, des facteurs environnementaux et saisonniers (Boussaid *et al.*, 2014 ; Mouhoubi-Tafnine *et al.*, 2016).

III.4. Activités biologiques

III.4.1. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante des miels est évaluée *in vitro* avec deux tests (piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS).

a. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire DPPH sont représentés dans la figure 16. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est enregistré par le miel de Bouhathem (M2) avec une valeur de 78,54 %. Cela peut être attribué à ses différents constituants en polyphénols car il a été rapporté que le potentiel antioxydant du miel est directement proportionnel à la quantité d'acides phénoliques et de flavonoïdes (Hanine *et al.*, 2018). Cependant, la valeur la plus faible est obtenue avec l'échantillon de Laghouat (M5) avec un pourcentage d'inhibition de 38,29 %. Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapportés par Al Kiyumi *et al.* (2021) dans les miels Omanis (0,83 à 51,89 %) et par Hanine *et al.* (2018) dans 8 miels Marocains (12,26 à 50,23 %).

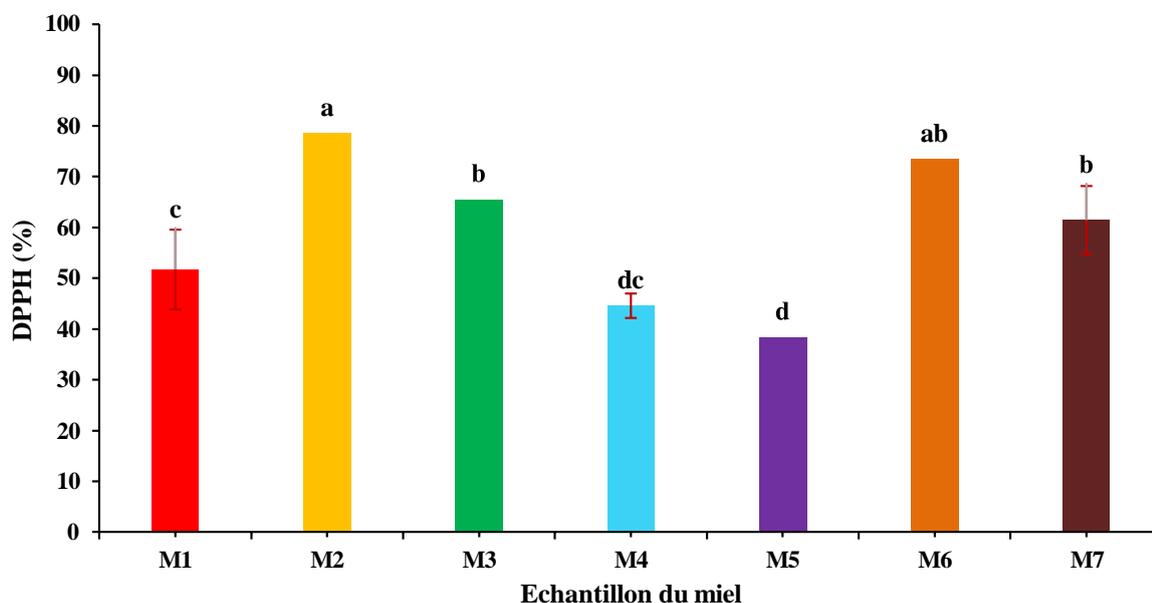


Figure 16: L'activité antiradicalaire DPPH des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

L'analyse statistique montre que tous les échantillons présentent une différence significative ($p < 0,05$) en termes d'activité antiradicalaire estimée avec DPPH à l'exception de (M3) et (M7) qui forment un groupe homogène, cela est probablement dû à leurs mêmes teneurs en composés phénoliques totaux.

Beretta et al., (2005) ont rapporté que le miel de couleur foncée a une haute teneur en antioxydants, tel que le résultat obtenu pour les miels M2 et M6. En revanche les miels clairs M4 et M5 ont de faibles activités antioxydantes avec des pourcentages de 44,6 et 38,29 %, respectivement.

Dans le miel, les composants responsables de l'effet antioxydant sont les flavonoïdes et les acides phénoliques. La quantité de ces composants varie largement en fonction de l'origine florale et géographique du miel. En outre, la transformation, la manutention et le stockage du miel peuvent influencer sur sa composition (**Doukani et al., 2014**).

b. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS

Les résultats illustrés dans la figure 17 montrent que tous les échantillons du miel testés ont un pouvoir scavenger du radical ABTS et les pourcentages d'inhibitions se situent entre 26,91 et 74,92 % obtenus par les miels de Laghouat (M5) et de Bouhathem (M2), respectivement.

Les pourcentages d'inhibitions obtenus dans la présente étude sont inférieurs à ceux rapportés par **Özşahin Kireççi et Kireççi, (2018)** pour des miels de la Turquie avec un intervalle de 54,88 à 82,45 %. En revanche, les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapportés par **Wilczynska, (2010)** sur les miels Polonais (2 à 31,51 %).

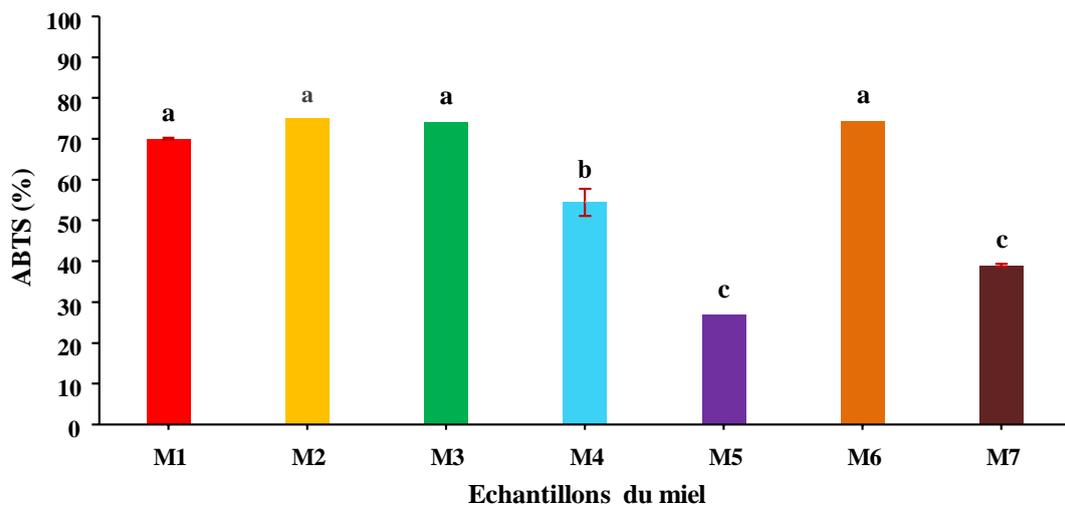


Figure 17 : L'activité antiradicalaire ABTS des miels analysés.

Les résultats sont présentés sous forme de la moyenne \pm l'écart type ($n=3$). Les barres verticales représentent les écarts types. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p<0,05$).

L'analyse ANOVA de test ABTS montre la présence de deux groupes homogènes (M1, M2, M3 et M6) ainsi que (M5 et M7) qui ne présentent pas une différence significative à $p<0,05$.

Al-Mamary et al. (2002) ont signalé que l'activité antioxydante peut être affectée par de nombreux facteurs tels que la structure des composés phénoliques principalement le degré d'hydroxylation et de méthylation de ces composés. De plus, certains composés phénoliques, en tant qu'antioxydants, peuvent réagir plus rapidement que d'autres dans les mêmes conditions. En outre, la présence de constituants autres que les composés phénoliques tels que les vitamines C, E et les caroténoïdes peuvent influencer l'activité antioxydante totale.

III.4.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons du miel est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm) en utilisant deux concentrations et les résultats obtenus sont représentés dans le tableau VII. Les échantillons du miel sont classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne : non sensible (<8 mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19 mm) et extrêmement sensible (>20 mm) (**Ponce et al., 2003**).

Le diamètre des zones d'inhibition à la concentration 1 g/ml varie de 0 à 7,5 mm. Cependant, à une concentration de 2 g/ml, les diamètres sont compris entre 0 et 8,5 mm montrant ainsi un effet plus efficace que la première concentration. Ces diamètres sont inférieurs à ceux obtenus par **Otmani, (2021)** pour les miels Algériens avec des diamètres qui varient de 7,33 à 12,33 mm.

Selon les résultats obtenus, la souche bactérienne à Gram négatif *Escherichia coli* est sensible aux miels de M'sila (M3) et d'Akfadou (M6). Tandis que les autres miels ne montrent pas d'effet antibactérien contre cette souche. Ceci pourrait être dû à la structure de cette souche. Il est à noter que plusieurs études ont montré que la perméabilité d'*E. coli* contre les antibiotiques et les agents antimicrobiens est faible. Entre autres **Ebrahimi et al.(2020)** ont rapporté que les bactéries à Gram négatif possèdent une enveloppe cellulaire complexe constituée de deux membranes lipidiques et un peptidoglycane au milieu, ce que rend ces bactéries résistantes.

D'après **Alkhyat et Al Maqtari, (2014)**, l'activité antibactérienne du miel dépend de divers facteurs agissant individuellement ou en synergie, dont les plus saillants sont les composés phénoliques, le pH, la pression osmotique exercé par le miel et le type de bactérie.

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

Echantillons	<i>Escherichia coli</i>				
	DZI 1 (1g/ml)en mm	ES	DZI 2 (2g/ml)en mm	ES	CMI (mg/ml)
M1	-	NS	-	NS	-
M2	6,5± 0,5 ^a	NS	7,5±00 ^a	NS	756,43± 32,68 ^c
M3	6,5 ± 3,7 ^{ab}	NS	8,17 ± 0 ,29 ^a	S	752,34±35,03 ^c
M4	6,83 ± 0,76 ^a	NS	7,83 ± 0,29 ^a	NS	884,57±38,60 ^b
M5	6,67± 0,58 ^a	NS	7,33 ± 0,58 ^a	NS	936,05±11,51 ^{ab}
M6	7,50± 0,5 ^a	NS	8,50 ± 0,87 ^a	S	479,05±31,05 ^e
M7	6 ± 3,46 ^{ab}	NS	7,33 ± 0,58 ^a	NS	988,73±18,89 ^a

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

➤ **Concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice la plus faible contre *E. coli* est enregistrée par le miel polyfloral (M6) avec une valeur de 479,05 mg/ml. Cependant, la plus grande est attribuée au miel M7 avec une concentration de 988,73 mg/ml (Tableau VII). Il est à noter que le miel M1 n'a pas montré une inhibition de croissance pour *E. coli*. Les résultats obtenus sont supérieurs à ceux de **Deb Mandal et Mandal. (2011)** pour le miel Egyptien (100 mg/ml).

La littérature fait état de corrélation entre l'activité anti bactérienne et la composition chimique du miel. Cependant les raisons précises de l'activité antibactérienne sont controversées. Certaines études rapportent que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est le principal contributeur à l'activité antimicrobienne, et les différentes concentrations de ce composé dans les différents miels entraînent la variabilité des effets antibactériens. D'autres trouvent que l'activité non peroxyde est la plus probable. L'argument de ce dernier est que dans le miel mûr la glucose oxydase est inactive et le miel ne contient qu'une petite quantité de peroxyde insuffisante à inhiber la croissance bactérienne (**Alkhyat et Al Maqtari, 2014 ; Elbanna et al., 2014**).

➤ **Courbes dose-réponse du miel contre la souche bactérienne**

Les courbes dose-réponse sont obtenues en traçant le pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne (*E. coli*) en fonction de logarithme des concentrations du miel, ceci permet de déterminer la concentration nécessaire pour avoir le pourcentage d'inhibition le plus élevé.

D'après l'analyse des courbes dose-réponse des miels contre *E.coli* (Figure18) les miels M3, M4, M5 et M7 révèlent une similitude de réponse et montrent une relation presque linéaire entre les concentrations et les pourcentages d'inhibition. Les courbes relatives à M2 et M3 enregistrent une légère diminution de dose (D0 à D1) et diminuent d'une manière considérable à partir de D2 à D5. La courbe du miel de *Fabaceae* (M4) montre une chute de pourcentage d'inhibition constante de D0 à D5.

Les courbes de M2 et M6 dont l'inhibition est proportionnelle à la concentration, ils montrent une stabilisation de l'inhibition entre D0 et D1, puis ils marquent des pourcentages d'inhibition qui diminuent différemment ; une diminution légère de pourcentage d'inhibition est observé dans le miel M6 puis une inhibition constante de D2 jusqu'à D5 où le pourcentage d'inhibition est de 10% . Cependant M2 montre une diminution de D1 à D3 ensuite de D3 à D5. Le miel M5 de *Fabaceae* ainsi que M7 montrent une forte diminution de D0 jusqu'à D5.

Tous les miels ne présentent pas un pourcentage d'inhibition à la dilution D5, excepté l'échantillon M6 (10%), de ce fait il est considéré comme l'échantillon ayant le meilleur pouvoir antibactérien. Cela peut être expliqué par sa grande teneur en polyphénols notamment en flavonoïdes. Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition est plus important avec les miels non dilués, il diminue à chaque concentration.

Tous les miels analysés n'ont pas la même activité antibactérienne, cette différence peut être due à la variation de la composition des échantillons de miel collectés dans différentes régions. Même les miels collectés à partir d'un seul endroit peuvent avoir des variations de l'activité antibactérienne (**Alkhyat et Al Maqtari, 2014**).

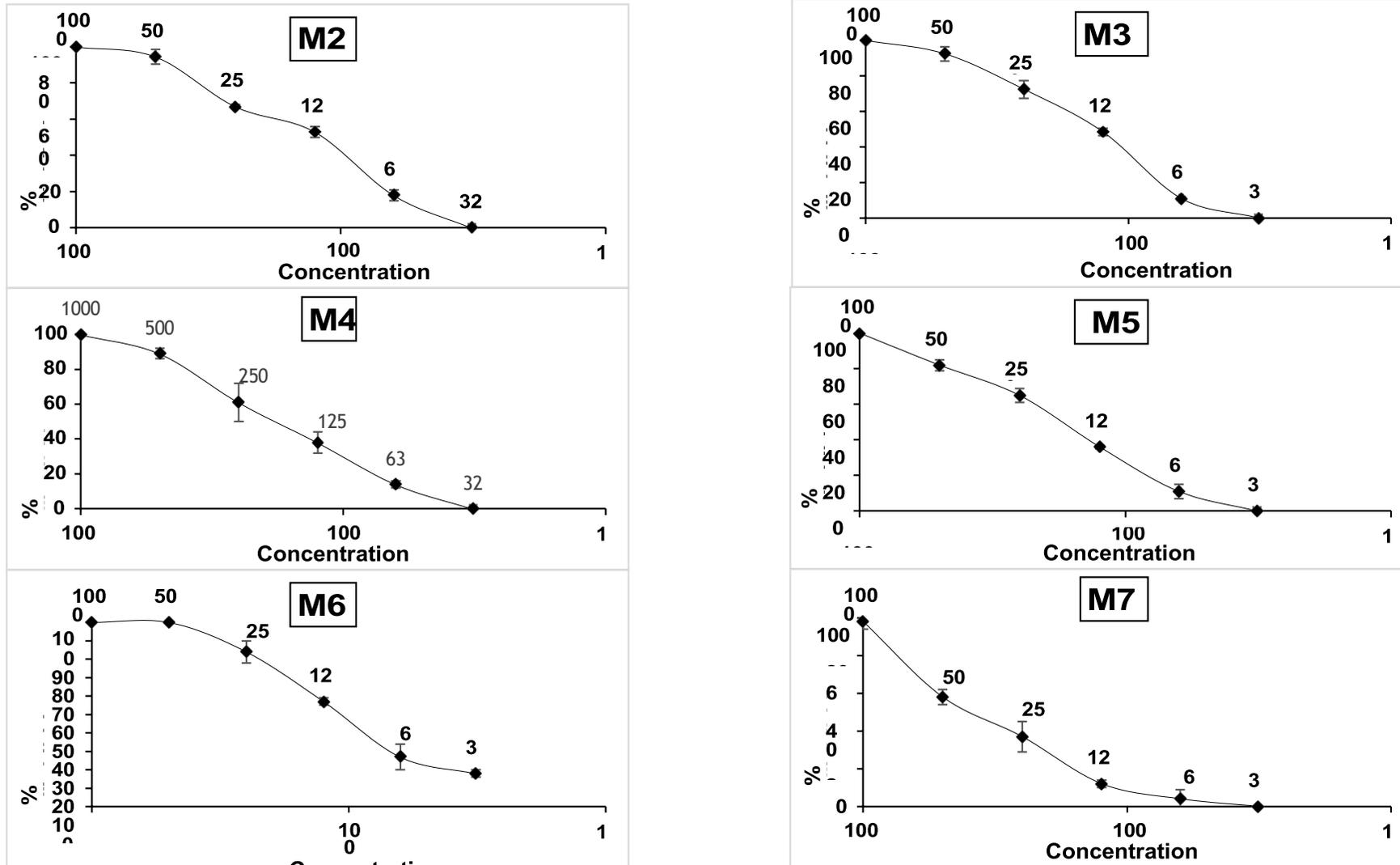


Figure 18 : Courbes dose-réponse des miels analysés contre *E.coli*.

III.4.3. Activité anti-hémolytique

L'exposition des érythrocytes à certains facteurs notamment les substances toxiques induit la lésion de leurs membranes et la perte de leurs intégrité, entraînant ainsi la libération d'hémoglobine ou une hémolyse. Dans cette étude l'hémolyse *in vitro* a été induite par une solution hypotonique.

➤ Observation macroscopique

Après la dernière centrifugation, par estimation à l'œil nu, les échantillons de miel ainsi que le contrôle isotonique révèlent un culot intact et un surnageant clair ce qui reflète l'absence d'hémoglobine libérée. En outre il y'a eu une inhibition d'hémolyse. Tandis que le surnageant du contrôle à l'eau distillée a une couleur rouge reflétant la présence d'hémoglobine. Le tube contenant le standard (Aspirine) a un surnageant de couleur légèrement claire de contrôle à l'eau distillée, ce qui indique une inhibition partielle de l'hémolyse (Figure19).

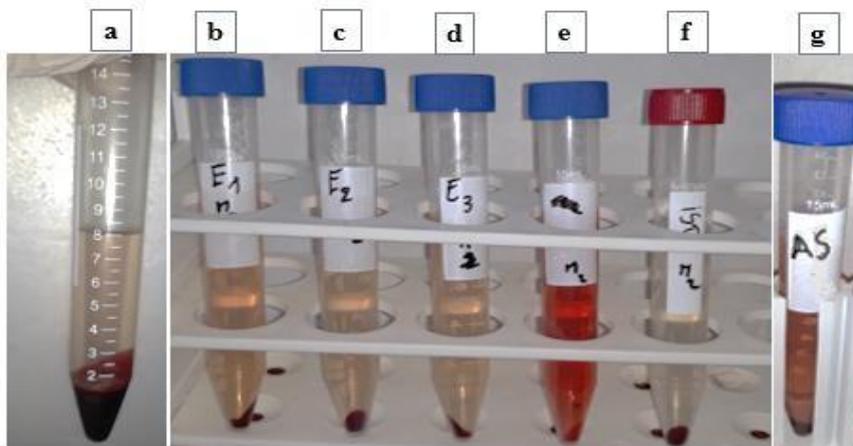


Figure19: Photographie du test d'activité anti-hémolytique (originale)

a :Solution de glucose. **b c d** : échantillons de miel. **e** : eau distillée. **f** : contrôle isotonique.

g : Aspirine.

Les résultats observés se concordent avec les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse présentés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Pourcentages d'inhibition d'hémolyse

	Activité anti-hémolytique (%)				
	Individu N°1	Individu N°2	Individu N°3	Individu N°4	Moyenne
M1	73,38±3,23 ^{Dd}	85,95±1,93 ^{Cc}	93,47±0,48 ^{Ab}	90,60±1,59 ^{Bc}	85,85±8,87 ^{ab}
M2	72,03±0,73 ^{Dd}	84,22±0,67 ^{Cc}	92,05±0,65 ^{Ac}	88,11±0,01 ^{Bd}	84,10±8,66 ^{ab}
M3	92,37±0,46 ^{Ca}	90,44±1,31 ^{Db}	95,25±0,30 ^{Aa}	94,49±0,01 ^{Bb}	93,14±2,17 ^a
M4	90,54±0,92 ^{ABb}	89,92±0,19 ^{Bb}	94,58±0,68 ^{ABa}	93,01±0,02 ^{Ab}	92,01±2,17 ^a
M5	89,04±0,38 ^{Cc}	93,62±0,21 ^{Ba}	89,08±0,47 ^{Cd}	94,13±0,00 ^{Ab}	91,47±2,79 ^a
M6	90,62±0,25 ^{Bb}	81,72±1,13 ^{Cd}	76,85±0,80 ^{De}	93,21±0,98 ^{Ab}	85,60±7,63 ^{ab}
M7	90,22±1,68 ^{Bbc}	43,41±1,47 ^{De}	83,44±1,78 ^{Cf}	95,45±0,00 ^{Aa}	78,13±23,66 ^b
Standard	49,53± 2,90 ^{De}	55,84±1,43 ^{Dd}	55,55±0,8 ^{Dd}	48,33±0,90 ^{De}	52,31±3,94 ^c
C isotonique	90,24±2,5 ^{Bbc}	93,51±1,01 ^{Ab}	93,70±1,73 ^{Bb}	94,36±0,92 ^{Ab}	92,95±0,39 ^a
SG	96,20±0,22 ^{Aa}	94,02±0,87 ^{Ba}	95,11±0,4 ^{Aa}	91,06±0,13 ^{Bba}	94,09±0,13 ^a

Standard : Solution d'Aspirine. **C. isotonique** : Contrôle isotonique. **SG** : Solution de glucose

Les valeurs sont la moyenne ± écart type. Les différentes lettres majuscules (A>B>C>D) indiquent les différences significatives entre les individus (colonnes) tandis que les différentes lettres minuscules (a>b>c>d>e>f) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons du miel (lignes).

Tous les miels ont montré une bonne protection de l'hémolyse, celle-ci varie de 78,13 à 93,14 % obtenues par les miels d'Akfadou (M7) et de Bouhathem (M2). Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Gowda Manukumar et Umesha, (2015)** pour les miels Indiens (8,25 à 97,76 %).

Dans ce test le glucose est utilisé pour vérifier sa contribution dans l'effet anti-hémolytique du miel, et il a donné des résultats positifs avec une moyenne de 94,09 %. Cela pourrait être dû à un éventuel effet antioxydant du sucre. En effet des études ont montré que, grâce à son caractère hygroscopique le sucre produit un léger effet antioxydant en réduisant la quantité d'eau normalement requise pour solubiliser les oxydants. Il a été montré aussi qu'il agit en synergie avec d'autres antioxydants naturels pour éviter l'oxydation des lipides et protéines qui sont des constituants principales de la membrane érythrocytaire (**David, 2010**).

D'autres études ont montré que l'effet anti-hémolytique du miel peut être attribué à la capacité de ce dernier à augmenter le rapport surface/volume des globules rouges, provoqué par une expansion de la membrane ou le rétrécissement de la cellule et une interaction avec les protéines membranaires (**Gowda Manukuma et Umesha, 2015**).

III.5. Corrélations et analyses multivariées

III.5.1. Corrélations

Les résultats de l'analyse statistique montrent des corrélations très hautement significatives entre le brix et l'humidité ($r=-0,97$), la conductivité électrique ($r=-0,83$) et la proline ($r=0,82$). Le test de corrélations montre également un lien entre l'humidité et les autres paramètres physicochimiques à l'exception de pH, HMF et protéines. Une corrélation significative est observée entre le pH et la couleur, l'HMF et les protéines avec les coefficients de corrélations de $r = - 0,63$; $r = 0,76$ et $r = - 0,85$, respectivement.

La matrice de corrélation montre une corrélation significative entre les composés phénoliques et les flavonoïdes ($r = 0,54$). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Otmani et al. (2021)** et **Alvarez-Suarez et al. (2010)** avec des coefficients de corrélation de 0,80 et 0,83, respectivement. La matrice montre également un lien significatif entre les composés phénoliques et le DPPH ($r = 0,50$) et un lien très hautement significatif entre les composés phénoliques et l'ABTS ($r = 0,72$). Les teneurs en flavonoïdes sont significativement corrélées avec le DPPH et l'ABTS et les coefficients de corrélations sont respectivement de 0,48 et 0,45. Ces coefficients de corrélations sont inférieurs à ceux obtenus par **Otmani et al. (2022)** entre les composés phénoliques et le DPPH ($r = 0,85$) et les composés phénoliques et l'ABTS ($r = 0,86$) et par **Zaidi et al. (2019)** entre les flavonoïdes et le DPPH ($r = 0,80$) et les flavonoïdes et l'ABTS ($r = 0,79$).

Une relation significative est observée entre la couleur et les composés phénoliques ($r=0,53$) d'une part et entre la couleur et les flavonoïdes ($r=0,56$) d'autre part. Cependant, des coefficients de corrélations supérieurs à ceux obtenus dans cette étude sont rapportés par **Otmani et al. (2021)** pour les miels Algériens avec des coefficients de corrélation de 0,88 et de 0,93, respectivement. **Beretta et al. (2005)** ont rapporté que les miels foncés montrent généralement des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes plus élevées que les miels clairs. Les miels M1, M2 et M6 illustrent bien les corrélations obtenues dans cette étude. Ces échantillons ont montré l'intensité de couleur et les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes les plus élevées.

La concentration minimale inhibitrice présente une corrélation très hautement significative avec la teneur en composés phénoliques ($r=-0,94$), de même avec les flavonoïdes et l'ABTS dont les coefficients de corrélation sont $r=-0,44$ et $r=-0,65$, respectivement.

Tableau IX : Corrélations des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques.

	Brix	Humidité	pH	CE	IC	HMF	Protéines	Proline	CP	Flav	Carot	DPPH	ABTS	CMI	DZI C1	DZI C2	AAH
Brix	1,00																
Humidité	-0,97	1,00															
pH	0,13	-0,12	1,00														
CE	-0,83	0,83	0,02	1,00													
IC	-0,56	0,51	-0,63	0,40	1,00												
HMF	0,04	-0,10	0,76	-0,03	-0,28	1,00											
Protéines	0,16	-0,11	-0,85	-0,31	0,32	-0,81	1,00										
Proline	0,82	-0,86	0,00	-0,90	-0,36	-0,02	0,30	1,00									
CP	-0,66	0,71	-0,13	0,81	0,53	-0,11	-0,07	-0,77	1,00								
Flav	-0,54	0,55	-0,43	0,39	0,56	0,06	0,14	-0,54	0,54	1,00							
Carot	0,40	-0,45	0,49	-0,01	-0,44	0,49	-0,60	0,07	-0,12	-0,24	1,00						
DPPH	-0,43	0,46	0,18	0,57	-0,12	0,24	-0,38	-0,73	0,45	0,48	0,23	1,00					
ABTS	-0,37	0,39	0,02	0,68	0,09	0,05	-0,23	-0,70	0,72	0,45	0,35	0,77	1,00				
CMI	0,60	-0,64	0,23	-0,77	-0,55	0,28	-0,07	0,65	-0,94	-0,44	0,15	-0,31	-0,65	1,00			
DZI C1	0,37	-0,37	-0,04	-0,24	-0,25	0,08	0,13	0,20	0,08	0,20	0,28	0,27	0,42	-0,10	1,00		
DZI C2	0,20	-0,20	0,24	-0,32	-0,30	0,40	-0,07	0,14	-0,14	0,14	0,17	0,08	0,05	0,27	0,37	1,00	
AAH	0,33	-0,26	-0,15	-0,26	-0,07	-0,27	0,21	0,17	-0,08	-0,26	-0,08	-0,28	-0,09	0,10	-0,04	-0,16	1,00

■: Significatif (p<0,05); ■: Hautement significatif (p<0,01) ; ■: Très hautement significatif (p<0,001).

AAH : activité anti-hémolytique ; **ABTS** : Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique ; **Carot** : caroténoïdes ; **CE** : conductivité électrique ;
CMI : concentration minimale inhibitrice ; **CP** : composés phénoliques ; **DPPH** : 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl ; **DZI** : diamètre de zone d'inhibition ;
Flav: flavonoïdes ; **HMF** :Hydroxyméthylfurfural, **pH** :potentiel d'hydrogène.

III.5.2. Analyse en composante principale (ACP)

L'analyse exploratoire ou l'analyse en composante principale (ACP) est réalisée pour démontrer les différences et les similitudes entre les miels analysés par rapport à leurs paramètres physicochimiques, leurs teneurs en composés bioactifs et leurs activités biologiques. Le tracé des valeurs propres montre une ligne droite après la deuxième composante principale, ce qui conduit à la conclusion que seules CP1 et CP2 qui représentent 70,24 % de la variation totale peuvent être utilisées pour une explication adéquate des données obtenues.

La figure 20 (a) montre que CP1 explique 45,76 % des données et représente le brix ($r=0,95$), l'HMF ($r=0,03$), les protéines ($r=0,40$), la proline ($r=0,91$), les caroténoïdes ($r=0,23$), les diamètres de zone d'inhibition ($r=0,56$), les CMI ($r=0,88$) et l'activité anti-hémolytique ($r=0,51$) dans la partie positive de graphique. En revanche, l'humidité ($r=-0,95$), la conductivité électrique ($r=-0,97$), le pH ($r=-0,20$), l'intensité de couleur ($r=-0,67$), les composés phénoliques totaux ($r=-0,92$), les flavonoïdes ($r=-0,48$), le DPPH ($r=-0,54$) et l'ABTS ($r=-0,70$) sont présentés dans la partie négative. CP2 explique 24,48 % des données et représente l'humidité ($r=0,18$), l'intensité de couleur ($r=0,59$), les protéines ($r=0,78$), la proline ($r=0,23$) et l'activité anti-hémolytique ($r=0,26$) dans la partie positive. Cependant, le brix ($r=-0,07$), la conductivité électrique ($r=-0,06$), le pH ($r=-0,68$), l'HMF ($r=-0,76$), les composés phénoliques totaux ($r=-0,15$), les flavonoïdes ($r=-0,02$), les caroténoïdes ($r=-0,84$), le DPPH ($r=-0,67$), l'ABTS ($r=-0,43$), les diamètres de zone d'inhibition ($r=-0,54$) et les CMI ($r=-0,28$) sont présentés dans la partie négative.

La discrimination par CP1 et CP2 est réalisée sur la base des variables étudiées, la figure 20(b) montre quatre groupes du miel. Le premier groupe se situe en haut dans la partie gauche de la figure 20 (b) et qui contient le miel M1. Ce groupe se distingue par des valeurs élevées en humidité, conductivité électrique, intensité de couleur, composés phénoliques et activités antioxydantes. En revanche, le miel M1 marque des faibles valeurs en brix, proline et activités antibactériennes et anti-hémolytiques. Le deuxième groupe (M2 et M6) (en bas dans la partie gauche de graphique) montre des valeurs élevées en DPPH, ABTS et diamètres de zone d'inhibition et des faibles valeurs en protéines. Cependant, le troisième groupe (M3, M4 et M7) se trouve à l'opposé du graphique et montre des faibles valeurs en pH, caroténoïdes et HMF.

Le quatrième groupe se trouve en haut dans la partie droite de graphique et contient le miel M5 qui est caractérisé par sa teneur élevée en protéines et en proline et des faibles valeurs en humidité, conductivité électrique, composés phénoliques, flavonoïdes, DPPH et ABTS.

Les résultats de l'ACP démontrent que le miel M1 est le meilleur miel en termes de teneur en composés phénoliques et flavonoïdes et activités antioxydantes. Les miels M2 et M6 montrent les meilleures activités antibactériennes. Cependant, les miels M3, M4 et M7 montrent les meilleures activités anti-hémolytiques. La figure 20 (a) confirme les corrélations obtenues à l'aide de la matrice de corrélation.

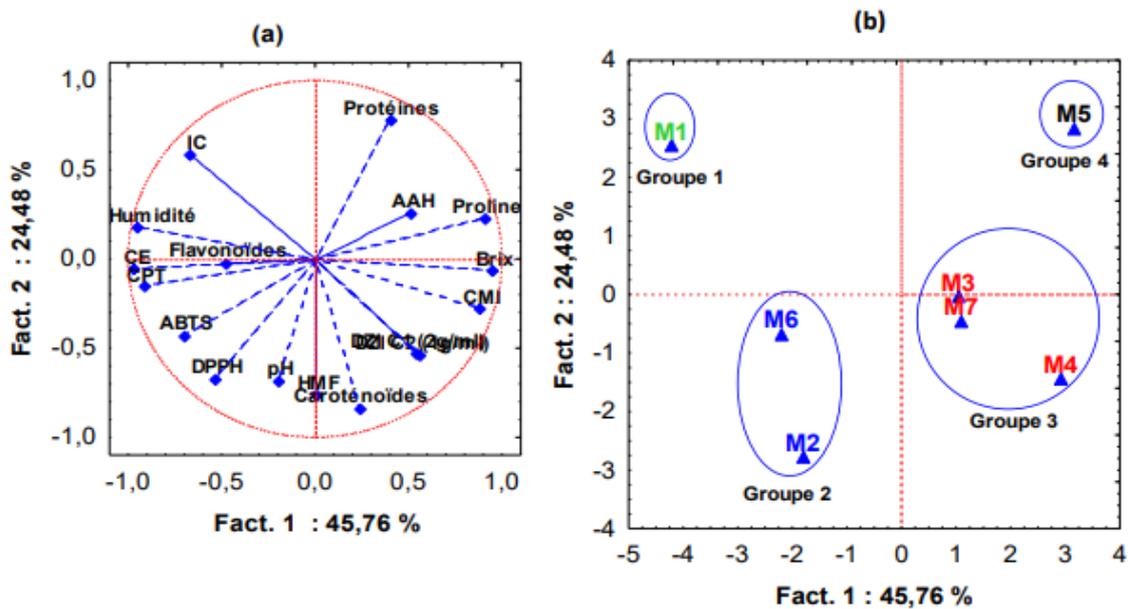


Figure 20: Graphiques d'analyse en composantes principales (ACP) des paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.

a : projection des variables. **b :** projection des individus

AAH : activité anti-hémolytique ; **ABTS :** Acide 2-2-azinobis -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique ; **CE :** conductivité électrique ; **CMI :** concentration minimale inhibitrice ; **CPT :** composés phénoliques totaux, **DPPH :** 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl, **DZI :** diamètre de zone d'inhibition ; **HMF :** Hydroxyméthylfurfural ; **IC :** intensité de couleur ; **pH :** potentiel hydrogène.

III.5.3. Classification hiérarchique ascendante (CHA)

La similarité des miels est analysée à l'aide de la classification hiérarchique ascendante (Figure 21). L'analyse révèle 4 clusters et ces résultats confirment ceux obtenus par l'ACP. Le premier cluster est formé par l'échantillon M5 et montre les valeurs les plus faibles en humidité, conductivité électrique, intensité de couleur, composés bioactifs (composés phénoliques et flavonoïdes) et activités antioxydantes (DPPH et ABTS).

Selon les paramètres analysés, le cluster 2, qui contient les miels M3, M4 et M7 est caractérisé par les valeurs les plus faibles pour les caroténoïdes, l'HMF et le pH. Le cluster 3 (M2 et M6) montre des faibles teneurs en protéine. Le cluster 4 est formé uniquement par le miel M1 et montre les teneurs les plus élevées en composés bioactifs et activités antioxydantes mais les activités antibactériennes et anti-hémolytiques, les teneurs en proline et le brix les plus faibles.

En utilisant la CHA, il a été possible de suggérer la formation de groupes pour classer les échantillons sur la base de leurs paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques. Les résultats obtenus suggèrent donc que la discrimination entre les miels est possible et que l'ACP et la CHA peuvent être des outils chimiométriques efficaces et rapides afin de discriminer les différences entre les échantillons, en fonction des paramètres utilisés .

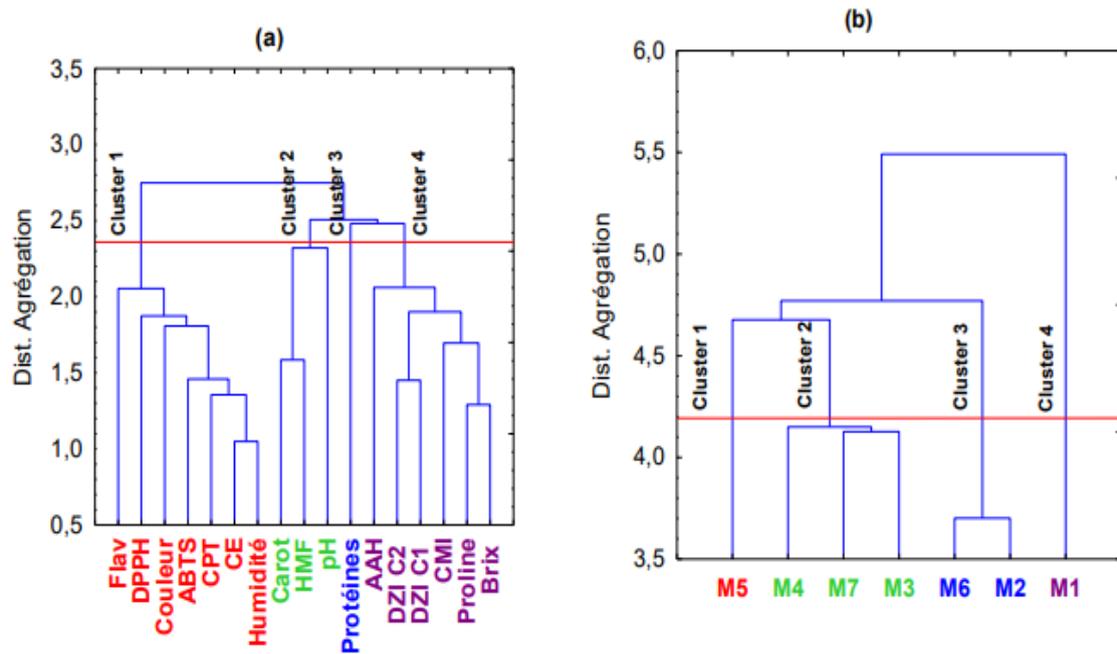


Figure 21: Dendrogramme vertical obtenu à l'aide de la méthode de Ward et des distances euclidiennes pour les paramètres physicochimiques, teneurs en composés bioactifs et activités biologiques des échantillons du miel.

a : Dendrogramme des variables ; **b :** Dendrogramme des individus.

AAH : activité anti-hémolytique ; **ABTS :** Acide 2-2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique ; **Carot :** caroténoïdes ; **CE :** conductivité électrique ; **CMI :** concentration minimale inhibitrice ; **CPT :** composés phénoliques totaux ; **DPPH :** 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl ; **DZI :** diamètre de zone d'inhibition ; **Flav :** flavonoides ; **HMF :** Hydroxyméthylfurfural, **pH :** potentiel hydrogène.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le présent travail a permis d'évaluer la qualité des miels récoltés de différentes régions d'Algérie (Tizi-ouzou, Bouhatem, M'sila, Laghouat, Djelfa et Akfadou) à travers des paramètres physicochimiques, des activités antioxydantes, antibactériennes et anti-hémolytique.

L'analyse pollinique des 7 échantillons du miel révèle 3 miels monofloraux avec comme pollens dominants *Apiaceae* et *Fabaceae* et 4 miels polyfloraux, ce qui indique la diversité florale des régions d'où ils proviennent.

Concernant les paramètres physicochimiques, en manière globale, les échantillons étudiés répondent aux normes fixés par le **Codex Alimentaire** ce qui montre la bonne qualité des différents miels analysés

Le brix des échantillons analysés présentent des valeurs allant de 75,4 à 84,27 %. L'humidité est comprise entre 13,87 et 22,65 %. Tous les miels sont acides avec un intervalle de pH qui oscille de 3,52 à 4,28. La couleur varie de l'ambre clair à l'ambre foncé. La plupart des miels sont frais avec des teneurs en HMF conformes aux normes, à l'exception de deux échantillons M2 et M4 qui ont des teneurs de 149,9 et 98,35 mg/kg respectivement. La teneur en protéines dans les miels analysés varie de 42,6 à 113,34 mg EBSA/100g tandis que la concentration en proline va de 181,21 à 314,01 mg/kg ce qui indique que ce sont des miels mûrs et authentiques.

Les miels analysés ont une teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de 90,21 à 182,67 mg EAG/100 g et de 37,89 à 99,44 mg EQ/100g, respectivement. Leurs concentration en caroténoïdes va de 2,16 à 5,77 mg E β -carot/kg.

Tous les miels étudiés montrent une capacité de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS avec des valeurs qui varient de 38,29 à 78,54 % et de 54,88 à 82,45 %, respectivement reflétant ainsi une grande capacité antioxydante.

Les résultats de l'activité antibactérienne des miels étudiés montrent des zones d'inhibition allant de 0 à 8,5 mm contre *E.coli*. De ce fait il n'y a que M3 et M6 qui ont un pouvoir inhibiteur contre cette souche.

Le pouvoir anti-hémolytique est testé par induction d'hémolyse par une solution hypotonique. Tous les échantillons ont révélé un pourcentage d'inhibition d'hémolyse allant de 78,13 à 93,14 %.

Les résultats trouvés dans ce travail nous mènent à envisager des différentes perspectives dont on cite :

- Mener des études sur un grand nombre d'échantillons Algériens de différentes régions pour enrichir les bases de données scientifiques et sélectionner les meilleurs miels au niveau national.
- Utiliser des techniques beaucoup plus sophistiquées (HPLC, CPG, SM...) pour mieux connaître la composition des miels et par conséquent les substances responsables de différentes activités.
- Faire des études *in vivo* pour mieux comprendre l'effet du miel sur l'organisme vivant.
- Tester l'activité antibactérienne des miels à une large gamme de bactéries Gram positif et Gram négatif.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Al Kiyumi, E. H., Al Rashdi, B. S., Al Alawi, A. A., Al Balushi, S. N., Al Hooti, S., Al Housni, S., & Alam khan, S. (2021).** Quantification of bioactive components and evaluation of antioxidative potential of different floral origin honey from arid regions of Oman. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 1-5.
- Al, M . L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009).** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867.
- Albu, A., Radu-Russu, C. G., Pop, I.M., Frunza, G., & Gherasim, N.(2021).** Quality assessment of raw honey issued from eastern Romania. *Agriculture*, 11(247)1-17.
- Alkhyat, S., & Al Maqtari, A. (2014).** Antibacterial potential and physicochemical properties of selected Yemeni honeys against clinical wounds bacteria and comparative with standard bacteria isolates. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 3(3), 49-58.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., & Al-Habori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22, 1041–1047.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Diaz D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., & 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.
- Anklam, E. A. (1998).** Review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food chemistry*, 63, 549-562.
- Azeredo, L. D. C., Azeredo, M. A. A., De Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003).** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249–254.
- Barth, V. (2020).** Analyse LC/MS du miel et son intérêt en santé. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques.p15-40.
- Baume, K., Rubink, W. L., Coulson, R. N., Vaughn, M., & Bryant, J. R. (2004).** Pollen selection by feral honeybee (*Hymenoptera: apideae*) colonies in a coastal prairie landscape, *Environ Entomology*, 3(3), 727-739.
- Becerril-Sánchez, A. L., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O., Escalona-Buendía, H. B. (2021).** Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. *Antioxidants*, 1700 (10), 1-23.
- Belay, A., Solomon, W. K., Bultossa, G., Adgaba, N., & Melaku, S. (2013).** Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food chemistry*, 141(4), 3386-3392.

- Belhaj, O., Oumato, J., & Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels Marocains. *Revue Marocaine Des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 3(3), 71–75.
- Bentabol Manzanares, A., Hernandez Garcia, Z., Rodriguez Galdon, B., Rodriguez, E. & Diaz Romero, C. (2011).** Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry*, 126, 664-672.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino R. M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 53, 185-191.
- Bogdanov, S. (2011).** Honey composition. In *The honey book*, (Chapter 5). Bee Product Science, www.bee-hexagon.net.
- Bogdanov, S., Haldimann, M., & Gallman, P. (2007).** Minerals in honey: Environmental geographic and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 46(4), 269–275.
- Bogdanov, S., Lüllman, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl G., Persanoddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., et al. (1999).** Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 80(2), 61–69.
- Bogdanov, S., Martin P., Lüllman, C., Borneck, R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl, G., Russmann, H., Persanoddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A., & Ivanov, T. (1997).** Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie*, 1–59.
- Boligon, A. A., Machado, M. M., & Athayde, M. L. (2014).** Technical evaluation of antioxidant activity. *Medicinal chemistry*. 4(7), 517-522.
- Bonté, F., Desmoulière, A. (2013).** Le miel: Origine et composition. *Actualité pharmaceutique*, 531, 18-21.
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal R., Donsi F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2014).** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 1-8
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bruneau, E. (2002).** Le miel. In « Le traité Rustica de l'Apiculture ». Edition Rustica, 63- 354.
- Cavelier, E. (2011).** Le miel : Composition et techniques de production. Mémoire de master de traduction Italien-français. Université Sorbonne Nouvelle – Paris 3. p10.

- Chefrour, A. & Tahar, A.** Origine botanique des miels des régions semi arides (Algérie).
- Choubert, G., Guillou, A.V., Tyssandir, P., & Grolier, P. (2001).** Health value of carotenoids. *Science des aliments*, 21 (5), 467-480.
- CiAnciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P., Zhang, J., Bravo Lamas, L., Martínez Flórez, S., Agudo Toyos, P., Quiles, J., Giampieri, F., & Battino, M. (2018).** Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 22-23.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 12th Edition, document M02 A1.
- Codex Alimentarius (2001).** Revised codex standard for honey. *Revue*, 12: 1-7.
- Commission Européenne (2002).** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 10 :47-5.
- Couquet, Y., Desmoulière, A., & Rigal, M. L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, 531, 22-25.
- Crane, E. (1991).** The plant resources of honeybee. *Apiacta*, 26, 57-64.
- Czip, N., Borbély, M & Gyóri, Z. (2012).** Proline content of different honey types. *Acta Alimentaria*, 41 (1), 26–32.
- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., & Hacini, Z.(2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37-49.
- Elbanna, K., Attala. K., Elbadry, M., Awad, A., Hosny, G. E., & Fawzy, M.R. (2014).** Impact of floral sources and processing on the antimicrobial activities of different unifloral honeys. *Asian Pacific of Tropical Disease*, 4 (3)194-200.
- Feller-Demalsy, M. J., Vincent, B., & Beaulieu, F (1989).** Mineral content and geographical origin of Canadian honeys. *Apidologie*, 20 (1), 77–91.
- Gheldouf, N., Wang, X. H., & Engeseth, N. (2002).** Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Agriculture Food Chemistry*, 50, 5870-5877.
- Gonzalez-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernandez-Recamales, M. A., & Heredia, F.J (2005).** Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (7), 2574–2580.
- Gowda Manukumar, H.M., & Umesha, S. (2015).** Assessment of membrane stabilizing activity from honey an *in-vitro* approach. *Acta Scientiarum polonorum Technologia Alimentaria*, 4(1), 85–90.

Gülçin, I., Oktay, M., Kirreççi, E., & Küfrevioğlu Ö. I., (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-382.

Hanine, H., Fauconnier, M., Kenne, Tb., Rizki, H., Ouradi, H., Ennahli, Sc., & Hssaini, L. (2018). Determination of physico-biochemical proprieties and composition in volatile constituents by solid phase micro-extraction of honey samples from different botanical and geographical origins in Morocco. *Journal of Apicultural Research*, 1-44.

Haouam, L. (2016). Etude physico-chimique et mellisopolynologique de quelques échantillons de miel (Nord- Est algérien), thèse de Doctorat en Biologie, Université Badji mokhtar Annaba. p102.

Hilary, S., Habib, H., Suka, U., Ibrahim, W., & Platat.(2017). Bioactivity of arid region honey. an *in vitro* study. *BMC Complementary and Alternative Medicine* .177 (17),1-10.

Homrani, M. (2020). Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florale. Thèse de Doctorat université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

Hoyet, C.(2014). Le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincare - Nancy 1.

Huchet, E., Julie, C. & Laurent, G. (1996). Les constituants chimiques du Miel. *Science et Médecine*, 4, 1-7.

Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12,177.

Izzah, N. I., Kadir, M. R. A., Zulkifli, R. M., & Mohamed, M. (2021). Antioxidant profiles between malaysian *Apis* And *Trigona* honeys. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 25(2), 243-256.

Kaskoniené, V., Petras, R., & Venskutonis, R. (2010). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins : A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6),620-634.

Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Bacandritsos, N., & Sabatini, A. G. (2004). Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, 64(1), 9–21.

Lobreau-Callen, D., Clément, M-C., & Marmion V. (1999). Les miels. In «Techniques de l'ingénieur », 1-20.

Louveaux, J. (1968). Composition, propriétés et technologie du miel. In: CHAUVIN R. Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 277-324

- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, 139–157
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. D., D'Albore, G.R., Choukri, A., & Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41(5), 509–521.
- Mamdouh Abdulmaksoud, A., Fouad Nassar, M., Mostafa, H., El-Khayat, Z. A., & Wageh Abu El Naga, M. (2011).** Effect of Honey on 50% complement hemolytic activity in infants with protein energy malnutrition: A randomized controlled pilot Study. *Journal of Medicinal food*, 14 (5), 551–555 .
- Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011).** Honey, its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 154-160.
- Maurizio, A. (1975).** How bees make honey. London : Heinemann. p 77-105.
- Mbogning, E. (2005).** Etude des plantes médicinales et caractérisation du pollen des plantes mellifères et du miel du Cameroun. Thèse de Master en Transfert des technologies en Biomédecine, Université de Rome «Tor Vergata».p64.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577.
- Missio da Silva, P., Cony, G., Valdemiro Gonzaga, L., Oliveira Costa, A., & Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 126, 309-323.
- Molan, P. C. (1992).** The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, 73(1), 5-2.
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S., Khalil, M., & Gan, S. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7, 1-138.
- Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016).** Antioxydant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85–90.
- Nafea, E. A., Zidan, E. W., Asmaa, M. F., & Sehata, I. A. A. (2013).** Determination of organic acids in Saudian Bee honey types. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 5(2), 117-120.
- Nair, S. (2014).** Identification des plantes melliferes et analyse physicochimique des miels algériens, Thèse de Doctorat en Biologie, Biochimie, Université d'Oran.
- Naithani, V., Nair, S., & Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39(2), 176–181.

Otmani, A., Amessis-Ouchemoukh, N., Birinci, C., Yahiaoui, S., Kolayli, S., Rodríguez-Flores M.C, Escuredo, O., Seijo, M. C., & Ouchemoukh, S. (2021). Phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of Algerian honeys. *Food Bioscience*, 42,1-11.

Otmani, A. (2021). Paramètres physicochimiques, profils polliniques et phénoliques et propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et inhibitrices d'enzymes de miels d'Algérie. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biochimie Appliquée et Biotechnologies.

Otmani, A., Amessis-Ouchemoukh, N., Mouhoubi-Tafnine, Z., Tighlit, k., Redouan, I., Terrab, A., & Ouchemoukh, S. (2022). Contribution of organic bee pollen to the determination of botanical origin of honey and its impact on its biological properties. *Current Bioactive Compounds*, 18(5).66-77.

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

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52–58.

Ozkok, A., D'arcy, B., & Sorkun, K. (2010). Total phenolic acid and flavonoid content of turkish pine honeydew honey. *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*, 2(2),65-71.

Özşahin Kİreççi, D., & Kireççi, A. O. (2018). Examination of some properties of honeys in Mutki(Bitlis-Turkey), *Agric Nat*, 21(6),936-943.

Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., & Moran, N. (2006). Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(1), 84–95.

Pauliuc, D., Dranca, F., & Oroian, M. (2020). Antioxidant activity, total phenolic content, individual phenolics and physicochemical parameters suitability for Romanian honey authentication. *Foods*, 9(3),1-22

Pham-Delegue, M. (1999). Les abeilles. Genève, Minerva, p 206.

Philippe, M. (1988). Miels, miellats, miellées. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*. (35),121-146

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux K., & Defraigne, J-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*,16,233-239.

Pita-Calvo, C., & Vázquez, M. (2017). Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 79–87.

Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684.

Popivici, C., Saykova, I. & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.

Rani, A. A., Punitha, S. M. J., Rema, M. (2014). Anti-inflammatory activity of flower extract of cassia auriculata – an *in-vitro* study. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 4(1), 57-60.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *free radical biology & medicine*, 26 (9), 1231–1237

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Propriétés chimiques des phénols. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Edition Dunod, 29-57.

Rossant, A. (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse doctorat en Pharmacie. Université de Limoges faculté de Pharmacie, P 35.

Sakač, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Pezo, L. L., Kevrešan, Ž. S., Novaković, A. R., & Nedeljković, N. M. (2019). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food Chemistry*, 276, 15–21.

Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8-9), 1023–1029.

Sevlimli, H., Bayulgen, N., & Varinioglu. (1992). Determination of trace elements in honey by INAA in Turkey. *Journal of Radio analytical and Nuclear Chemistry, Letters*, 165 (5), 319 – 325.

Shapla, U. M., Solayman, Md., Alam, N., Khalil, Md. I., & Gan, S. H. (2018). 5- Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), p35.

Shinde, U. A., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., & Saraf, M. N. (1999). Membrane stabilizing activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70, 251-257.

Stankovic, M., Nikcević, M., Radotić, K. (2020). Annual variation of proteins and phenols in honey of a Bee society using fluorescence spectroscopy: A way to assess effects of antivarroa treatments on honey composition. *Food Research Technology*, 246, 1515–1518.

Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79(3), 373–379.

- Tomas-Barberan, F., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., & Ankalam. (2001).** HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the science of food and agriculture*, 81(5). 485-496.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J & Perez-Alvarez, J. A. (2008).** Functional properties of honey, propolis and royal jelly. *Journal of food science*, 73(9), 117-124.
- Von der Ohe, W., Oddo, L., Piana, Morlot, M., & Martin, P. (2004).** Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35 (1), 18-25.
- White, J. W (1975).** Composition of honey. ISBN 434 90270 5: p 157–206.
- Wilczyńska, A. (2010).** Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60(4), 309-313
- Yaiche Achour, H., & Khali, M. (2014).** Composition des miels Algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique science* ,10(2), 127-136.
- Yang, Y. (2014).** Qualification des miels de corse par une approche multifactorielle : diversité pollinique & variabilité chimique. . Thèse doctorat en Chimie. Université de Corse-Pascal Paoli.
- Yucel, Y. & Sultanoglu, P. (2013).** Characterisation of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 16-25.
- Zaidi, H., Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Debbache, N., Pacheco, R., Serralheiro, M. L., & Araujo, M. E. (2019).** Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys-The inhibition of acetylcholinesterase and α -glucosidase activities. *European Journal of Integrative Medicine*, 25, 77–84.
- Zerrouk, S., Seijo, M. C., Boughediri, L., Escuredo, O., & Rodriguez-Flores, M. S. (2014).** Palynological characterization of Algérian honeys according to their geographical and botanical origin. *Grana*, 53(2), 147-158.

Annexes

Annexe 1 : Table de CHATAWAY

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

Annexe 2 :Echelle Pfund

Nom de couleur	Intensité de la couleur (mm Pfund)
Blanc d'eau	<9
Extra blanc	9-17
Blanc	18-34
Ambre extra clair	35-50
Ambre clair	51-85
Amber	86-114
Ambre foncé	>114

Annexe 3 : Résultats des analyses physico-chimiques des miels analysés.

Miels	Brix (%)	Humidité	CE (mS / cm)	pH	Couleur	Protéines (mgEBSA / 100g)	Proline (mg / kg)	HMF (mg / kg)
M1	75,4 ± 00 ^e	22,65 ± 0,023 ^a	1,53 ± 00 ^a	3,95 ± 0,03 ^b	375,77 ± 13,55 ^a	66,15 ± 2,29 ^c	183,13 ± 00 ^c	5,24 ± 1,33 ^e
M2	77,4 ± 0,2 ^d	18,95 ± 0,23 ^c	1,28 ± 0,01 ^b	4,05 ± 0,00 ^e	174,48 ± 0,74 ^c	42,6 ± 0,11 ^e	181,21 ± 0,01 ^c	149,9 ± 1,05 ^a
M3	82,8 ± 00 ^b	15,2 ± 00 ^e	1,04 ± 00 ^d	3,73 ± 0,007 ^c	106,14 ± 1,97 ^d	78,54 ± 0,63 ^b	228,67 ± 0,01 ^b	3,14 ± 00 ^f
M4	84,27 ± 0,12 ^a	13,87 ± 0,02 ^f	0,84 ± 0,01 ^e	4,28 ± 0,010 ^a	99,58 ± 0,77 ^d	53,42 ± 1,10 ^d	314,01 ± 00 ^a	98,35 ± 2,45 ^b
M5	82,23 ± 0,85 ^b	15,32 ± 0,24 ^e	0,7 ± 00 ^f	3,52 ± 0,018 ^d	199,11 ± 0,86 ^b	113,34 ± 2,9 ^a	313,53 ± 0,01 ^a	6,84 ± 0,43 ^d
M6	77,33 ± 0,06 ^d	19,69 ± 0,23 ^b	1,19 ± 0,01 ^c	4,03 ± 0,01 ^e	170,39 ± 1,29 ^c	67,60 ± 3,65 ^c	186,97 ± 0,02 ^c	15,82 ± 3,16 ^c
M7	80,2 ± 0,2 ^c	17,51 ± 0,16 ^d	1,03 ± 00 ^d	4,07 ± 0,00 ^e	52,41 ± 1,83 ^e	56,05 ± 6,98 ^d	227,72 ± 0,83 ^b	16,92 ± 1,05 ^c

Les valeurs portant la même lettre ne présentent pas une différence significative.

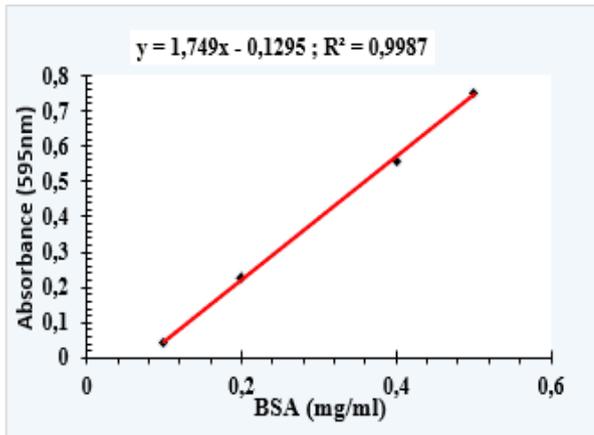
Annexe 4 : Teneurs en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysés.

Miels	Phénols (mg EAG/100g)	Flavonoïdes (mg EQ/100g)	Caroténoïdes (mg EβC/100g)	ABTS	DPPH
M1	182,67 ± 2,10 ^a	64,50 ± 2,5 ^c	2,16 ± 1,51 ^d	70,03 ± 0,31 ^a	51,71 ± 7,82 ^c
M2	173,39 ± 5,99 ^b	89,87 ± 6,15 ^{ab}	5,77 ± 0,44 ^a	74,92 ± 3,36 ^a	78,54 ± 2,39 ^a
M3	122,66 ± 0,75 ^c	61,18 ± 5,62 ^c	4,74 ± 0,6 ^{ab}	74,01 ± 0,31 ^a	65,40 ± 6,72 ^b
M4	110,28 ± 1,81 ^d	37,89 ± 0,72 ^d	5,35 ± 0,02 ^a	54,43 ± 10,40 ^b	44,60 ± 4,43 ^{cd}
M5	93,40 ± 3,16 ^e	78,23 ± 6,23 ^b	2,2 ± 0,66 ^d	26,91 ± 7,65 ^c	38,29 ± 4,18 ^d
M6	182,07 ± 3,16 ^a	99,44 ± 4,99 ^a	2,66 ± 0,56 ^{cd}	74,52 ± 2,60 ^a	73,40 ± 9,48 ^{ab}
M7	90,21 ± 0,46 ^e	39,97 ± 1,90 ^d	3,48 ± 0,49 ^{bc}	39,04 ± 0,18 ^c	61,43 ± 3,35 ^b

Les valeurs portant la même lettre ne présentent pas une différence significative.

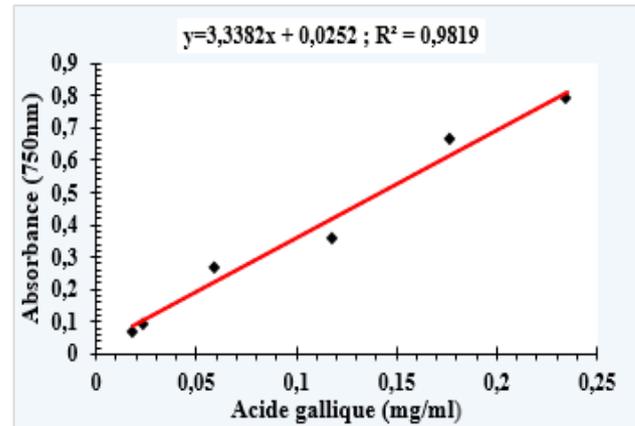
Annexe 5 : Courbes d'étalonnages de dosages des protéines et des antioxydant

A



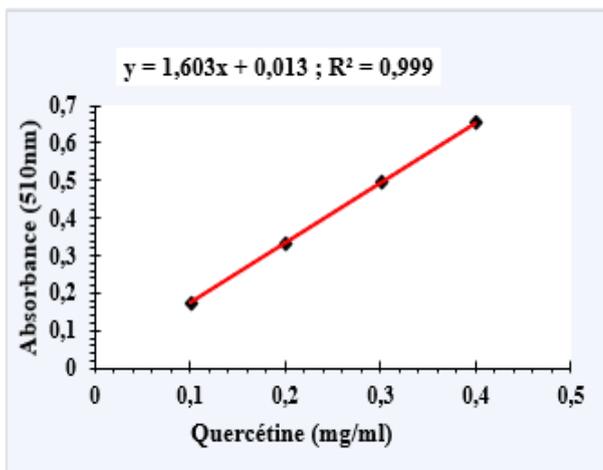
Courbe d'étalonnage des protéines

B



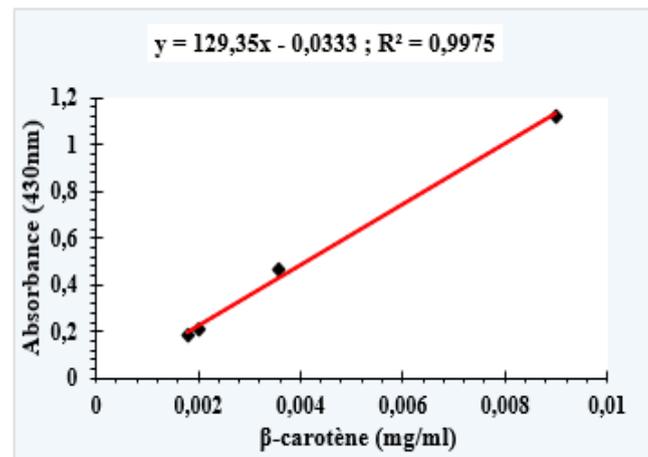
Courbe d'étalonnage des composés phénoliques

C



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

D



Courbe d'étalonnage des caroténoïdes

Annexe 6 : Matrices de corrélations significatives marquées à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$ des miels analysés .

Variable	Coeffs de Corrélations de Rangs de Spearman (Feuille)																
	Brix	Humidité	pH	CE	HMF	Couleur	proteines	CPT	Flav	Carot	DPPH	ABTS	proline	AAH	DZI 1	DZI 2	CMI
Brix	1,00	-0,97	0,12	-0,82	0,03	-0,56	0,16	-0,66	-0,54	0,40	-0,44	-0,37	0,82	0,33	0,19	0,38	0,60
Humidité	-0,97	1,00	-0,13	0,83	-0,09	0,52	-0,11	0,71	0,55	-0,45	0,47	0,39	-0,86	-0,26	-0,20	-0,38	-0,64
pH	0,12	-0,13	1,00	0,02	0,76	-0,65	-0,85	-0,13	-0,42	0,50	0,13	0,02	-8,47E-3	-0,15	0,09	0,06	0,24
CE	-0,82	0,83	0,02	1,00	-0,03	0,40	-0,31	0,81	0,39	-0,01	0,62	0,68	-0,90	-0,25	-0,32	-0,25	-0,77
HMF	0,03	-0,09	0,76	-0,03	1,00	-0,32	-0,81	-0,11	0,06	0,49	0,19	0,04	-0,02	-0,26	0,35	0,10	0,28
Couleur	-0,56	0,52	-0,65	0,40	-0,32	1,00	0,37	0,53	0,56	-0,47	-0,05	0,12	-0,37	-0,06	-0,03	-0,41	-0,56
proteines	0,16	-0,11	-0,85	-0,31	-0,81	0,37	1,00	-0,07	0,14	-0,60	-0,33	-0,23	0,30	0,21	-0,03	0,12	-0,07
CPT	-0,66	0,71	-0,13	0,81	-0,11	0,53	-0,07	1,00	0,54	-0,12	0,54	0,72	-0,77	-0,08	0,05	-0,06	-0,94
Flav	-0,54	0,55	-0,42	0,39	0,06	0,56	0,14	0,54	1,00	-0,24	0,50	0,45	-0,54	-0,26	0,33	0,05	-0,44
Carot	0,40	-0,45	0,50	-0,01	0,49	-0,47	-0,60	-0,12	-0,24	1,00	0,25	0,35	0,07	-0,08	0,16	0,28	0,15
DPPH	-0,44	0,47	0,13	0,62	0,19	-0,05	-0,33	0,54	0,50	0,25	1,00	0,84	-0,73	-0,24	0,13	0,32	-0,41
ABTS	-0,37	0,39	0,02	0,68	0,04	0,12	-0,23	0,72	0,45	0,35	0,84	1,00	-0,70	-0,09	0,18	0,34	-0,65
proline	0,82	-0,86	-0,01	-0,90	-0,02	-0,37	0,30	-0,77	-0,54	0,07	-0,73	-0,70	1,00	0,17	0,08	0,26	0,65
AAH	0,33	-0,26	-0,15	-0,25	-0,26	-0,06	0,21	-0,08	-0,26	-0,08	-0,24	-0,09	0,17	1,00	-0,04	-0,14	0,10
DZI 1	0,19	-0,20	0,09	-0,32	0,35	-0,03	-0,03	0,05	0,33	0,16	0,13	0,18	0,08	-0,04	1,00	0,45	0,05
DZI 2	0,38	-0,38	0,06	-0,25	0,10	-0,41	0,12	-0,06	0,05	0,28	0,32	0,34	0,26	-0,14	0,45	1,00	0,06
CMI	0,60	-0,64	0,24	-0,77	0,28	-0,56	-0,07	-0,94	-0,44	0,15	-0,41	-0,65	0,65	0,10	0,05	0,06	1,00

Variable	Coeffs de Corrélations de Rangs de Spearman (Feuille)																
	Brix	Humidité	pH	CE	HMF	Couleur	proteines	CPT	Flavonoides	Caroténoïdes	DPPH	ABTS	proline	AAH	DZI 1	DZI 2	CMI
Brix	1,00	-0,97	0,12	-0,82	0,03	-0,56	0,16	-0,66	-0,54	0,40	-0,44	-0,37	0,82	0,33	0,19	0,38	0,60
Humidité	-0,97	1,00	-0,13	0,83	-0,09	0,52	-0,11	0,71	0,55	-0,45	0,47	0,39	-0,86	-0,26	-0,20	-0,38	-0,64
pH	0,12	-0,13	1,00	0,02	0,76	-0,65	-0,85	-0,13	-0,42	0,50	0,13	0,02	-0,01	-0,15	0,09	0,06	0,24
CE	-0,82	0,83	0,02	1,00	-0,03	0,40	-0,31	0,81	0,39	-0,01	0,62	0,68	-0,90	-0,25	-0,32	-0,25	-0,77
HMF	0,03	-0,09	0,76	-0,03	1,00	-0,32	-0,81	-0,11	0,06	0,49	0,19	0,04	-0,02	-0,26	0,35	0,10	0,28
Couleur	-0,56	0,52	-0,65	0,40	-0,32	1,00	0,37	0,53	0,56	-0,47	-0,05	0,12	-0,37	-0,06	-0,03	-0,41	-0,56
proteines	0,16	-0,11	-0,85	-0,31	-0,81	0,37	1,00	-0,07	0,14	-0,60	-0,33	-0,23	0,30	0,21	-0,03	0,12	-0,07
CPT	-0,66	0,71	-0,13	0,81	-0,11	0,53	-0,07	1,00	0,54	-0,12	0,54	0,72	-0,77	-0,08	0,05	-0,06	-0,94
Flavonoides	-0,54	0,55	-0,42	0,39	0,06	0,56	0,14	0,54	1,00	-0,24	0,50	0,45	-0,54	-0,26	0,33	0,05	-0,44
Caroténoïdes	0,40	-0,45	0,50	-0,01	0,49	-0,47	-0,60	-0,12	-0,24	1,00	0,25	0,35	0,07	-0,08	0,16	0,28	0,15
DPPH	-0,44	0,47	0,13	0,62	0,19	-0,05	-0,33	0,54	0,50	0,25	1,00	0,84	-0,73	-0,24	0,13	0,32	-0,41
ABTS	-0,37	0,39	0,02	0,68	0,04	0,12	-0,23	0,72	0,45	0,35	0,84	1,00	-0,70	-0,09	0,18	0,34	-0,65
proline	0,82	-0,86	0,00	-0,90	-0,02	-0,37	0,30	-0,77	-0,54	0,07	-0,73	-0,70	1,00	0,17	0,08	0,26	0,65
AAH	0,33	-0,26	-0,15	-0,25	-0,26	-0,06	0,21	-0,08	-0,26	-0,08	-0,24	-0,09	0,17	1,00	-0,04	-0,14	0,10
DZI 1	0,19	-0,20	0,09	-0,32	0,35	-0,03	-0,03	0,05	0,33	0,16	0,13	0,18	0,08	-0,04	1,00	0,45	0,05
DZI 2	0,38	-0,38	0,06	-0,25	0,10	-0,41	0,12	-0,06	0,05	0,28	0,32	0,34	0,26	-0,14	0,45	1,00	0,06
CMI	0,60	-0,64	0,24	-0,77	0,28	-0,56	-0,07	-0,94	-0,44	0,15	-0,41	-0,65	0,65	0,10	0,05	0,06	1,00

Variable	Coeffs de Corrélations de Rangs de Spearman (Feuille)																
	Brix	Humidité	pH	CE	HMF	Couleur	proteines	CPT	flav	Carot	DPPH	ABTS	proline	AAH	DZI 1	DZI 2	CMI
Brix	1,00	-0,97	0,12	-0,82	0,03	-0,56	0,16	-0,66	-0,54	0,40	-0,44	-0,37	0,82	0,33	0,19	0,38	0,60
Humidité	-0,97	1,00	-0,13	0,83	-0,09	0,52	-0,11	0,71	0,55	-0,45	0,47	0,39	-0,86	-0,26	-0,20	-0,38	-0,64
pH	0,12	-0,13	1,00	0,02	0,76	-0,65	-0,85	-0,13	-0,42	0,50	0,13	0,02	-0,01	-0,15	0,09	0,06	0,24
CE	-0,82	0,83	0,02	1,00	-0,03	0,40	-0,31	0,81	0,39	-0,01	0,62	0,68	-0,90	-0,25	-0,32	-0,25	-0,77
HMF	0,03	-0,09	0,76	-0,03	1,00	-0,32	-0,81	-0,11	0,06	0,49	0,19	0,04	-0,02	-0,26	0,35	0,10	0,28
Couleur	-0,56	0,52	-0,65	0,40	-0,32	1,00	0,37	0,53	0,56	-0,47	-0,05	0,12	-0,37	-0,06	-0,03	-0,41	-0,56
proteines	0,16	-0,11	-0,85	-0,31	-0,81	0,37	1,00	-0,07	0,14	-0,60	-0,33	-0,23	0,30	0,21	-0,03	0,12	-0,07
CPT	-0,66	0,71	-0,13	0,81	-0,11	0,53	-0,07	1,00	0,54	-0,12	0,54	0,72	-0,77	-0,08	0,05	-0,06	-0,94
Flavonoides	-0,54	0,55	-0,42	0,39	0,06	0,56	0,14	0,54	1,00	-0,24	0,50	0,45	-0,54	-0,26	0,33	0,05	-0,44
Caroténoïdes	0,40	-0,45	0,50	-0,01	0,49	-0,47	-0,60	-0,12	-0,24	1,00	0,25	0,35	0,07	-0,08	0,16	0,28	0,15
DPPH	-0,44	0,47	0,13	0,62	0,19	-0,05	-0,33	0,54	0,50	0,25	1,00	0,84	-0,73	-0,24	0,13	0,32	-0,41
ABTS	-0,37	0,39	0,02	0,68	0,04	0,12	-0,23	0,72	0,45	0,35	0,84	1,00	-0,70	-0,09	0,18	0,34	-0,65
proline	0,82	-0,86	-0,01	-0,90	-0,02	-0,37	0,30	-0,77	-0,54	0,07	-0,73	-0,70	1,00	0,17	0,08	0,26	0,65
AAH	0,33	-0,26	-0,15	-0,25	-0,26	-0,06	0,21	-0,08	-0,26	-0,08	-0,24	-0,09	0,17	1,00	-0,04	-0,14	0,10
DZI 1	0,19	-0,20	0,09	-0,32	0,35	-0,03	-0,03	0,05	0,33	0,16	0,13	0,18	0,08	-0,04	1,00	0,45	0,05
DZI 2	0,38	-0,38	0,06	-0,25	0,10	-0,41	0,12	-0,06	0,05	0,28	0,32	0,34	0,26	-0,14	0,45	1,00	0,06
CMI	0,60	-0,64	0,24	-0,77	0,28	-0,56	-0,07	-0,94	-0,44	0,15	-0,41	-0,65	0,65	0,10	0,05	0,06	1,00

Annexe 7 : Photographies de quelques grains de pollen de miels analysés (originale).



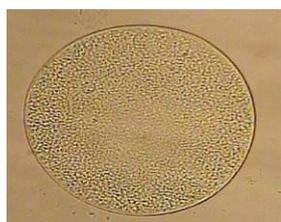
Apiaceae



Fabaceae



Rosaceae



Poaceae



Asteraceae



Ericaceae

Annexe 8 : Photographies de l'activité antibactérienne (originale).



Annexe 9 : Composition de solution de Bradford

Pour préparer un litre de réactif de Bradford, procéder ainsi :

- 100 mg de bleu de Coomassie G250
- 50 ml de l'éthanol
- 100 ml de H₃PO₄ (Acide phosphorique)

Ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.

Résumé

Cette étude est entreprise dans le but d'évaluer et de comparer les spectres polliniques, les caractéristiques physicochimiques (humidité, pH, conductivité électrique, couleur, HMF, et proline) la teneur en composés bioactifs et quelques activités biologiques (antioxydante, antibactérienne, anti-hémolytique) de 7 échantillons de miel provenant de différentes régions d'Algérie suivant des méthodes validées par la Commission International du Miel. L'analyse pollinique révèle trois miels monofloraux (*Apiaceae*, 2 *Fabaceae*) et quatre miels polyfloraux. Les analyses physicochimiques montrent que la majorité des miels étudiés sont conformes aux normes internationales. Tous les échantillons analysés montrent la présence des composés phénoliques (90,21 à 182,67 mg EAG/100 g), des flavonoïdes (37,89 et 99,44 mg EQ/100 g) et des caroténoïdes (2,16 à 5,77 mg E β -carot/kg). L'activité antioxydante est évaluée par deux méthodes DPPH (38,29 à 78,54 %) et ABTS (54,88 et 82,45%). L'échantillon M6 possède l'activité antimicrobienne la plus efficace contre *E. coli*. Tous les miels montrent un pourcentage d'inhibition d'hémolyse allant de 78,13 à 93,14 %. D'après l'analyse statistique il existe des corrélations positives entre la couleur, les antioxydants et les activités antioxydantes des miels analysés.

Mots clés : Miel Algérien, analyse pollinique, paramètres physicochimiques, antioxydants, antibactériens, anti-hémolytique.

Abstract

This study is undertaken with the aim of evaluating and comparing pollen spectra, physicochemical characteristics (humidity, pH, electrical conductivity, color, HMF, and proline) the content of bioactive compounds and some biological activities (antioxidant, antibacterial, anti-hemolytic) of 7 honey samples from different regions of Algeria according to methods validated by the International Commission of the Honey. Pollen analysis reveals three monofloral honeys (*Apiaceae*, 2 *Fabaceae*) and four polyfloral honeys. The physicochemical analysis show that the majority of honeys studied are comply with international standards. All the analysed samples show phenolic compounds presence (90.21 to 182.67mg EAG / 100 g), flavonoids (37.89 and 99.44mg EQ/ 100g) and carotenoids (2.16 to 5.77 mg E β -carot/ kg). Antioxidant activity is assessed by two methods DPPH (38.29 to 78.54%) and ABTS (54.88 and 82.45%). The sample M6 has the most effective antimicrobial activity against *E. coli*. All honeys show a percentage of hemolysis inhibition ranging from 78.13 to 93.14%. According to the statistical analysis there are positive correlations between color, antioxidants and antioxidant activities of the analysed honey samples.

Keywords : Algerian honey, polinical analysis, physicochemical parameters, antioxidants, antibacterial, anti-hemolytic.

ملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف تقييم ومقارنة أنواع حبوب الطلع، الخصائص الفيزيائية والكيميائية (الرطوبة، درجة الحموضة، التوصيل الكهربائي، اللون، HMF والبرولين) ومحتوى المركبات النشطة بيولوجياً وبعض الأنشطة البيولوجية (مضادات الأكسدة، مضادات البكتيريا، ومضاد لانحلال الدم) لسبعة عينات من العسل من مناطق مختلفة من الجزائر وفق طرق معتمدة من هيئة العسل الدولية. يكشف تحليل حبوب الطلع عن ثلاثة أنواع عسل أحادي الأزهار (*Apiaceae*, 2 *Fabaceae*) وأربعة أنواع عسل متعدد الأزهار. وفقاً للتحليلات الفيزيائية والكيميائية، فإن غالبية العسل المدروس يتوافق مع المعايير الدولية. تحتوي كل العينات المدروسة على المركبات الفينولية (من 90.21 إلى 182.67 mg EQ/100g) والفلافونويدات (من 37.89 إلى 99.44 mg EQ/100g) والكاروتينات (من 2.16 إلى 5.77 mg E β -carot/kg). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقتين DPPH (من 38.29 إلى 78.54%) و ABTS (من 54.88 إلى 82.45%). تحتوي عينة M6 على أحسن نشاط مضاد للبكتيريا فعالية ضد *E. coli*. أظهرت جميع أنواع العسل نسبة من تثبيط انحلال الدم تتراوح من 78.13 إلى 93.14%. وفقاً للتحليل الإحصائي، هناك تناسب طردي بين اللون ومضادات الأكسدة والنشاطات المضادة للأكسدة لمختلف عينات العسل المدروسة.

الكلمات المفتاحية: العسل الجزائري، تحليل حبوب الطلع، المعايير الفيزيائية والكيميائية، مضادات الأكسدة، مضادات البكتيريا، مضاد لتتحلل الدم.