

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Activités anti microbiennes de quelques miels de la région de Bejaia

Présenté par :
ATAMNA Siham **BELMOUHOUB Nassima**
Soutenu le : **Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme KARA. S	MAA	Présidente
Mr HAMOUM. M	MAA	Encadreur
Mme ATMANI. D	MCA	Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuille toujours diriger nos pas.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection.

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude envers notre promoteur **Mr HAMOUM. H**, pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien. Il s'est toujours montré à l'écoute et disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire,*

*Avec tout notre respect on tient à remercier **Mr OUCHEMOUKH. S** pour son aide, ses orientations judicieuse, ses qualité d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail. Ainsi que pour **Mr ATMANI. A** pour sa disponibilité et pour tout le temps qu'il a consacré pour notre mémoire. Votre aide est très précieuse pour nous.*

*Je remercie Madame **KARA** d'avoir accepté de présider mon jury et qui a pris le temps de lire et de corriger ce mémoire. C'est un honneur pour moi de vous avoir dans mon jury.*

*Je remercie également Madame **ATMANI** D'avoir bien accepté d'examiner mon travail.*

Je tiens donc à remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont aidé pendant mon travail. Certaines par leurs conseils et leurs connaissances scientifiques, d'autre par leur soutien et leurs présences dans les moments les plus pénibles.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon grand-père et de mon oncle Mabrouk qui n'ont pas pu partager avec moi cet instant de bonheur et de joie que Dieu les bénissent.

A mon Père et à ma Mère pour votre amour, la confiance que vous avez placés en moi depuis mon très jeune âge, votre soutien de tout ordre et pour vos encouragements tout au long de ces années. Que Dieu vous préserve toujours dans ce bas monde en bonne santé.

A mes frères Hakim, Rafik, Yacin. Et à ma sœur Linda et son époux Sofiane et à toute sa famille.

A mes chers oncles Mouloud, Mouhamed, Nadir, mes chères tantes Malia, Salih, mes cousins Nadir, Mahfoud, Lyes, Aissa, Sami, mes cousines Fairouz, Ryma, Kenza, Mina, Hinda. Sarah, Sonia,

A Ceux avec qui j'ai partagés les meilleurs moments de ma vie : Djahid, Katia, Lounis, thiziri, Yassou, loula, Ryma, Samir, Khahina, Marouane, Cilia, Nawel, Naima, Boussaad, Massilva, Nacim, Serrina, Massi. Nacim, Massil, Iman.

A ma binôme Nassima, toute sa famille, ainsi que son époux Amazigh.

A toute la promotion biochimie appliqué 2016 / 2017.

SIHAM

Dédicaces

Je dédie ce Modest mémoire à :

Avant tous je remercie Dieu qui m'a donnée la volonté de continuer mes études et faire ce modeste travail.

Je le dédie à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège.

Je le dédie à mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.

A mon cher fiancé, pour sa disponibilité son soutien moral et surtout sa patience. Que Dieu tu gardes toujours en bonne santé.

Merci à mes très chères sœurs : Fatiha, Kaissa, Wissame et Rania. .

Merci à mes deux meilleurs amies Sabrina et Siham qui j'aime beaucoup.

A tous mes amis(es) sans exception.

A toute la famille BELMOUHOUB et à toute la famille OULAGHA.

NASSIMA

Liste des figures

Figure	Titre	Pages
1	les échantillons de miels analysés.	14
2	carte géographique des régions où la récolte a été faite.	15
3	le culot des échantillons de miels après centrifugation.	15
4	Le diamètre des zones d'inhibitions des échantillons du miel testé sur les trois souches bactériennes.	37
5	L'analyse en composantes principales des échantillons de miels	39

Liste des tableaux

Tableau	Titre des tableaux	Pages
I	Composition moyenne en sucres de miel.	5
II	Sels minéraux et oligo-éléments du miel	6
III	Autres constituants de miel.	7
IV	Origine des échantillons de miel.	14
V	Souches pathogènes testées vis-à-vis des échantillons de miel.	21
VI	Spectres polliniques et pourcentages des pollens des miels analysés	24
VII	Résultats des analyses physico-chimiques des miels analyses.	25
VIII	Pouvoir rotatoire des miels analysés.	31
IX	Tenure en antioxydant et activités antioxydantes des miels analysées.	32
X	Effet de miel sur les souches bactériennes testées.	36
XI	Les concentrations minimales inhibitrices des différents miels testés.	37

Liste d'abréviations

Abs : Absorbance

ACP : Analyse en Composante Principale

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

ANOVA : Analysis of variance

BSA : Serum Albumin Bovin.

CE : Conductivité Electrique

CFU : Colony-forming unit

DPPH: 2, 2-diphinol-1-picrylhydrazyl

EAG: Equivalent Acide Gallique

EqBSA: Equivalent Serum Albumin Bovin.

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HMF: Hydroxy-méthyl-furfural

MGO : Méthylglyoxal

MH : Gélose de Muller-HINTON

mS : milli Siemens

nm : Nanomètres

r : coefficient de corrélation

TPTZ : Tripyridyletriazine

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1- Généralités sur le miel	3
I.1.1- Définition	3
I.1.2- Origines	3
I.1.3- Différents types du miel	4
I.1.4- Fabrication.....	4
I.1.5- Composition Chimique.....	5
I.2- Propriétés physico-chimiques	8
I.3- Activités biologiques du miel.....	9
I.3.1- propriétés nutritionnelles.....	9
I.3.2- propriétés thérapeutiques	10
I.3.3- propriétés antioxydantes	10
I.3.4- Activité antimicrobienne de miel	10

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- Origine des échantillons de miel	14
II.2- Analyses polliniques.....	15
II.3- Analyse des paramètres physico-chimiques.....	16
II.3.1- Humidité	16
II.3.2- pH	16
II.3.3- Conductivité électrique	16
II.3.4- Couleur.....	17
II.3.5- Protéines	17
II.3.6- Proline	17
II.3.7- HMF	18

II.3.8- Pouvoir rotatoire	18
II.4- Dosage phytochimiques	18
II.4.1- Dosage des composés phénoliques totaux	18
II.4.2- Dosage des flavonoides	19
II.5- Activité antioxydante	19
II.6- L'activité antibactérienne	21
II. 7- Analyses statistiques	22

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Analyses polliniques	23
III.2- Analyses physico-chimiques	25
III.2.1- Humidité et Brix	26
III.2.2- pH	27
III.2.3- Conductivité électrique.....	27
III.2.4- Couleur	28
III.2.5- Protéines	29
III.2.6- prolines	29
III.2.7- Teneur en 5- hydroxy-3- méthyl-2-furfural (HMF)	30
III.2.8- Pouvoir rotatoire	30
III.3-Teneurs en antioxydants et activité antioxydante	32
III.3.1- Composés phénoliques totaux	33
III.3.2- Flavonoïdes.....	33
III.3.3- Pouvoir antiradicalaire par l'ABTS.....	34
III.3.4- Pouvoir antiradicalaire par DPPH	34
III.3.5- Test de FRAP.....	35
III.3.6- Pouvoir réducteur	35
III.4- Activité antibactérienne	36
III.5- corrélation	38
III.6- Analyse des composantes principales	39
CONCLUSION	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES.	

INTRODUCTION GENERALE

De nombreuses cultures ont attribué à l'abeille une valeur symbolique particulière, voir un statut d'animal sacré, elle a toujours fasciné les hommes qui ont progressivement appris à l'élever, à l'entretenir et à la soigner. C'est *Apis mellifera* qui est l'espèce la plus intéressante de l'ordre des hyménoptères en apiculture.

En effet, dans beaucoup de civilisations, le miel a toujours eu une place privilégiée, ce cadeau de la nature est le symbole à la fois de la vie, de l'abondance, de la pureté et de la sagesse (**Rossant et desmoulier., 2011**). Il est fait sujet dans de nombreux ouvrages, notamment les tablettes sumériennes, la bible et le saint Coran. Son utilisation par l'homme remonte aux temps les plus reculés de son histoire et il fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité (**Badawy et al., 2004**).

Le miel constitue une source abondante de matières sucrées, c'est un assemblage complexe, fruit de l'interaction entre les fleurs butinées, le sol et les systèmes métaboliques liés à la singularité génétique des abeilles.

Les composants majoritaires du miel sont les glucides, notamment le fructose, le glucose, et l'eau. En outre, il renferme une large gamme de substances mineurs, telles que les acides aminés, les enzymes, les acides organiques, les éléments figurés (grains de pollen, levures), sa richesse en flavonoïdes, caroténoïdes, et composés phénoliques lui confère ces propriétés antioxydantes, antibactériennes, et anti ulcère qui sont connues depuis l'antiquité (**Missio da silva et al., 2016**). En effet la composition du miel varie en fonction de la source florale utilisée par les abeilles, la période de la récolte et les conditions géo-climatiques des régions concernées.

Des études scientifiques commencent à redonner au miel et aux produits de la ruche, la juste place que les anciens leurs avaient attribuée. Des chercheurs ont récemment démontré les multiples vertus du miel : antibactérien, antifongique, antiviral, cicatrisant... à l'heure où la médecine moderne se trouve confrontée à divers problèmes (résistances aux antibiotiques, augmentation des dépenses de santé...). Son utilisation entre dans le cadre de l'apithérapie qui est un concept médical basé sur le traitement des différentes maladies avec les produits de la ruche.

Le miel est sujet à des tentatives de fraude comme beaucoup d'autres produits alimentaires. L'établissement des normes d'identification et d'appréciation des miels ; s'avère une obligation, ceci se fait par une série d'analyse.

C'est dans cet objectif, que notre travail se base essentiellement sur les analyses physicochimiques. Celles-ci nous permettra d'identifier les différentes propriétés (antioxydante, antibactérienne) de miel récoltés dans des dates et des régions différentes.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1-Generalite sur le miel

I.1.1-Définition de miel

Selon le **codex alimentarius (2001)**, le miel est défini comme étant la denrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar du plantes ou à partir des sécrétions provenant des parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de la plantes que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche.

I.1.2-Origine de miel

Les abeilles produisent le miel à partir du nectar recueilli dans les fleurs au niveau de petites glandes végétales nommées nectaires (se situant le plus souvent au fond de la corolle), ou à partir du miellat recueilli sur les plantes. Donc d'après leurs origines botaniques les miels peuvent être classifiés en (**Sanz et al., 2005**).

I.1.2.1-Miel de nectar de fleurs (origine direct)

Le nectar est un liquide sucré et mielleux, il se produit à la surface des parties spéciales appelés nectaires (**Ouchemoukh, 2012**). Il est composé de trois sucres principaux (saccharose, le glucose, fructose). Les proportions de ces trois sucres varient d'une plante à une autre et influent sur la qualité de miel. En outre les sucres, il en existe d'autres constituants tels que des acides aminés, des protéines, des acides organiques, acides inorganiques, des alcaloïdes et des enzymes (**Bonté et al., 2013**).

I.1.2.2-Miel du miellat (origine indirect)

Le miellat est obtenu à partir d'excrétion d'insectes suceurs de sève tels que les pucerons ou à partir des sécrétions de plantes. Ce miellat est un liquide épais et visqueux, diffère de nectar par sa composition. Les miels de miellat sont caractérisés par une forte saveur, une couleur très foncée et une cristallisation très lente, il renferme près de 70 % de substances azotées et de dextrines (**Dawney et al., 2005**). Leur production est sous la dépendance de nombreux facteurs écologiques : sol, microclimat, insectes (**Hoyet, 2005**).

I.1.3-Différents types du miel

Les miels peuvent être divisés en deux groupes :

I.1.3.1-Miels monofloraux

Les miels monofloraux sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale et cela nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. De tels miels sont exceptionnels, car il est rare que l'abeille ne butine qu'une seule espèce mellifère. Donc les miels unis floraux naturels sont provenant d'une plante déterminé mais non à 100% (**Bonté *et al.*, 2013 ; Rossant., 2011**).

I.1.3.2-Miels polyfloraux

Ces miels sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leurs spécificités et permettre au consommateur de reconnaître leurs caractères dominants, les apiculteurs indiquent leurs origines géographiques ; celle-ci indique soit l'aire de production, région, département, massif (**Bonté *et al.*, 2013 ; Rossant., 2011**).

I.1.4-Fabrication du miel

L'abeille butineuse plonge dans la fleur afin de puiser son nectar, et le conserve dans son jabot, où commence alors la transformation du nectar en miel. En effet, dès son passage dans le tube digestif, le nectar subit des modifications sous l'action d'enzymes, dont l'invertase qui clive les molécules de saccharose en sucres simples (glucose, fructose, maltose) (**Loubreau-callen *et al.*, 1999**).

De retour à la ruche, la butineuse transfère le nectar « pré digéré » à des abeilles ouvrières qui vont par trophallaxie, compléter et achever la transformation commencée, avant d'aller dégorger ce liquide dans les alvéoles de cires disponibles. Ainsi, au fil des échanges entre les abeilles, la composition de la miellée évolue : sa teneur en eau s'abaisse tandis que sa concentration en sucres augmente, elle s'enrichit en substances salivaires, notamment en enzymes (invertase, diastase, glucose-oxydase).

Les abeilles ventileuses vont créer un flux d'air afin de déshumidifier progressivement le futur miel. Lorsqu'il atteint la teneur en eau souhaitée, 17 % en moyenne, pour environ 83% de sucres, les abeilles bouchent les alvéoles par un opercule de cire (**Alvarez, 2010 ; Loubreau-callen *et al.*, 1999**).

I.1.5-Composition Chimique

Le miel contient un très grand nombre de substance appartenant à des familles diverses ; il existe entre les miels une différence, dans certains cas importante. Cette variation a pour origine la qualité de nectar produit par la plante mais aussi la nature du sol sur lequel elle vit.

I.1.5.1-La teneur en eau

La teneur en eau varie assez largement en fonction de leur origine florale, de la saison, de l'intensité de la miellée, de la force des colonies d'abeilles, bien entendu, de la façon dont l'apiculteur aura fait la récolte. En général la teneur en eau se situe dans la plupart des cas entre 15-20g/100g de miel, au-delà le miel risque de se fermenter et de perdre ces propriétés physico-chimiques (**Terrab *et al.*, 2002**).

I.1.5.2-Glucides

Ce sont essentiellement des sucres simples et ils représentent la plus grande partie de la matière sèche de miel (95-99%) (**Meda *et al.*, 2005 ; Missio da silva *et al.*, 2016**). Chaque miel susceptible de contenir une bonne dizaine de sucre, ce sont des mono, di, tri ou poly saccharides représentaient les 80% de poids total de miel dont la composition moyenne est rassemblée dans le tableau suivant (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

TABLEAU I : Composition moyenne en sucres de miel.

Sucres	Pourcentage(%)
Fructose	40%
Glucose	34%
Saccharose	1,9%
Maltose	2,3%
Divers sucres	1,5%

I.1.5.3-Acides organiques

Les miels contiennent des acides organiques dont certains sont volatils, ainsi que des lactones. Leurs provenance est diverse : certains sont issus de nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions enzymatiques et de fermentations.

Parmi ces acides, il y'a principalement l'acide gluconique, formé à partir de glucose sous l'action de glucose-oxydase, et d'autres acides tels que l'acide citrique, malique, oxalique, formique et succinique (**Bogdanov *et al.*, 1999 ; Desmouliere et bonté, 2013**).

I.1.5.4-Matières minérales

Le pourcentage en matière minérale est faible (0,05 à 1,5%). La teneur moyenne de miel en minéraux est inférieure à 0,6 % pour le miel de nectar ; cependant elle est inférieure à 1,2% pour le miel de miellat (**Loubreau-callen *et al.*, 1999**). Les éléments les mieux présentés dans les miels sont rassemblés dans le tableau II.

Tableau II : sels minéraux et oligo-éléments du miel (Mores *et al.*, 1980)

Minéraux	Quantité (mg/kg)	Minéraux	Quantité (mg/kg)
Potassium	200-1500	Manganèse	0,2-10
Sodium	16-170	Chrome	0,1-0,3
Calcium	40-300	Cobalt	0,01-0,5
Magnésium	7-130	Nickel	0,3-1,3
Fer	0,3-40	Aluminium	60
Zinc	0,5-20	Cuivre	0,2-6,0
Plombe	< 0,02-0,8	Cadmium	0,005-0 ,15

I.1.5.5-Enzymes

Le miel contient plusieurs enzymes dont la présence est à rattacher à l'origine double de miel : végétales (proviennent essentiellement de nectar) et animales (proviennent des sécrétions salivaires des abeilles). Les principaux enzymes rencontrés dans le miel sont :

- les amylases (alpha et beta) qui provoque la dégradation de l'amidon en dextrine puis en maltose.
- glucose invertase qui provoque la scission de la molécule de saccharose pour donner une molécule de fructose et de glucose.
- gluco-oxydase qui est à l'origine de la formation de l'acide gluconique dans le miel à partir de glucose, phénomène qui s'accompagne d'un dégagement de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Serrano *et al.*, 2007).

I.1.5.6-Composés phénoliques

La teneur des miels en composés phénoliques varie de 56,32 à 76,37 mg/100g de miel. Cependant dans certains cas, elle peut atteindre 246,21 mg/100g de miel (Al mamary *et al.*, 2002). Ces phénols interviennent sur la couleur par l'intermédiaire des flavonoïdes susceptible de contribuer à la coloration jaune (Amiot *et al.*, 1989).

I.1.5.7-Autres constituants

Le miel contient d'autres constituants qui sont représenté dont le tableau III :

Tableau III : Autres constituants de miel en faible quantité.

Acides aminés et protéines	Il s'agit d'acides aminés libres et des protéines d'origine végétale ou animale (Bougdanov, 2004).
Vitamines	Le miel est pauvre en vitamines, on trouve des vitamines de groupes B et quelquefois les vitamines C, A, D et K (Ouchemoukh, 2012).
Lipides	La fraction lipidique du miel est très faible, elle est à l'état de traces. Ils sont représentés par les stérols, triglycérides et les AG (Lobreau-callen <i>et al.</i> , 1999).
L'hydroxy-méthyl-furfural(HMF)	Il est pratiquement absent dans le cas des miels frais, cependant sa teneur augmente durant le stockage et le chauffage (Downey <i>et al.</i> , 2005).
Composés aromatique	Ces substances jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle de miel (Bousetta <i>et al.</i> , 1992).
Pollen	Ils servent à féconder la partie femelle des fleurs et constituent les gamètes males dans le règne végétal. Il existe de nombreux types de pollens, tout autant que de fleurs déférentes (Laaidi <i>et al.</i> , 1997).

I.2-Propriétés physico-chimiques

I.2.1-Densité

La valeur de la densité varie approximativement de 1,39 à 1,44 à 20°C. Elle est en fonction de la teneur en eau et de la composition chimique du miel (**Bogdanov, 2004**). En effet plus le miel est riche en eau, moins il est dense.

I.2.2-La couleur

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement (**Khalil et al., 2012**). La couleur du miel est un autre paramètre de qualité. Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs, elle va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) (**Alvarez, 2010**).

I.2.3-Le pH

L'acidité est un critère de qualité important durant l'extraction et le stockage, en raison de son influence sur la texture et la stabilité de miel. Elle est due à la présence d'acide, principalement l'acide gluconique ainsi que d'ions inorganiques (**Terrab et al., 2002 ; Bogdanov et al., 2004**).

Le pH des miels de nectar est faible (de 3.3 à 4.5) tandis que les miels de miellats ont un pH un peu plus élevé (**Bogdanov, 1999**).

I.2.4-Conductivité électrique

La conductivité électrique est considérée comme l'un des meilleurs paramètres pour la différenciation entre les miels de différentes origines florales (**Terrab et al., 2004**). Elle permet de distinguer aisément des miellats, des miels des fleurs. Les miels de miellat possèdent une conductivité électrique beaucoup plus élevée que les miels de fleurs (**Downey et al., 2005**). D'autre part la conductivité électrique d'un miel est en rapport avec sa couleur, selon (**Kasoniene et al., 2010**), les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs.

I.2.5-La teneur en eau

La teneur en eau est un facteur hautement important car il permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur sa stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours du stockage ; donc elle conditionne la conservation du produits (**Küçük et al., 2007**). Le risque de fermentation est très faible pour les miels qui contiennent moins de 18% (**Carvalho et al., 2009**). Elle est mesurée à partir de l'indice de réfraction à l'aide d'un refractomètre.

I.2.6-L'hydroxy-méthyl-furfural (HMF)

L'hydroxy-méthyl-furfural (HMF) est un sucre de dégradation du fructose, naturellement présent dans tous les miels à la récolte à l'état de trace (1 à 3mg/kg) (**Fallico et al., 2004 ; Makhloufi et al., 2010**). La concentration en HMF est reconnue comme indicateur du niveau de fraîcheur du miel, critère important pour la détection des miels surchauffés, d'autant que l'HMF est présent en quantité faible ou absent dans les miels frais (**Karabourniotti et Zervaki., 2001**).

I.3-Propriétés biologiques

Le miel possède maintes propriétés biologiques qui sont, nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes, et thérapeutiques. Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (**Lobreau-callen et al., 1999**).

I.3.1-Propriétés nutritionnelles

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétique, il apporte 3200 kilocalories par kilogramme de matière sèche. Il est facilement assimilé par l'organisme ; il passe dans le sang très rapidement et la glycémie décroît ensuite lentement. Il est donc conseillé autant que possible, de remplacer dans l'alimentation le sucre par du miel car il a non seulement de bonnes propriétés nutritives, mais surtout de bonnes propriétés thérapeutiques (**Al-kalifa et al., 1999**).

I.3.2-Propriétés thérapeutiques

Depuis des millénaires déjà, le miel a été utilisé dans la médecine populaire dans de nombreux domaines et Aristote le recommandait pour soulager divers maux (**Désmoulière, 2013**). Certains de ces effets thérapeutiques ont depuis été confirmés, la majorité étant liés à la grande quantité de sucres qu'il contient.

Le miel guérit et soulage les troubles intestinaux, des ulcères d'estomac, l'insomnie, les maux de gorge, certains infection cardiaque, il facilite la rétention de calcium. Il active aussi la guérison des brûlures, des plaies et des affections rhino-pharyngées (**Couquet et al., 2013**).

Les propriétés cicatrisantes du miel tiennent à ses caractéristiques physiques, chimiques et enzymatiques. Le miel, par sa saturation en sucres entretient une pression osmotique trop élevée pour inhiber la croissance des microbes. Cette action est à la base du traitement des plaies par le miel (**Désmoulière ; Couquet et al., 2013**).

I.3.3-Propriétés antioxydantes

Le miel contient des flavonoïdes (chrysine, pinocembrine, pinobanksine, querétine, kaempférol), des acides phénoliques (caféique, coummarique, ferrulique, éllagique et chlorogénique), l'acide ascorbique, la catalase, la peroxydase, les caroténoïdes, les produits de la réaction de Maillard, qui agissent comme des antioxydants. Cette fonction qui consiste à éliminer les radicaux libres, qui sont des composés réactifs présents dans l'organisme, et qui participent à l'évolution de nombreuses maladies graves telles que des maladies cardiovasculaires, cancers (**Meda et al., 2005; Bertoncelj et al., 2007**).

I.3.4-Activité antimicrobienne de miel

I.3.4.1-Généralité sur l'activité antimicrobienne

Le terme antimicrobien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer (bactéricide) ou de réduire (bactériostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire).

I.3.4.2-Le miel comme antibactérien

Les agents antimicrobiens, comme le cas des antibiotiques sont essentiellement importants dans la réduction de la majorité des maladies infectieuses. Cependant leurs utilisation continue dans le domaine clinique avait été la cause directe de développement de multiples bactéries résistantes à ces antibiotiques (**Mandal et al., 2011**).

Les scientifiques ont découverts des sources naturelles alternatives sans effets de résistance telles que le miel, dont l'activité antibactérienne a été signalée pour la première fois en 1892 sur certains bactéries telles que *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, et *Staphylococcus aureus* (**Cortopassi-Laurino et Gelli., 1991**). Il présente une activité envers 60 espèces bactériens y compris les aérobies et les anaérobies, bien que les Gram + et les Gram- (**Taormina et al., 2001**).

I.3.4.3-Les facteurs impliqués dans l'activité antibactérienne

Les facteurs impliqués dans l'activité antimicrobienne sont nombreux et complexes en raison de l'implication de multiples composés et de la grande variation dans les concentrations de ces composés.

Les chercheurs ont aussi montré que c'est l'action combinée des propriétés physiques (pression osmotique élevée, acidité...) et chimiques (peroxyde d'hydrogène et les inhibines non peroxydes) qui confère au miel son activité antibactérienne (**Molan et Russel., 1988**).

- **L'osmolarité**

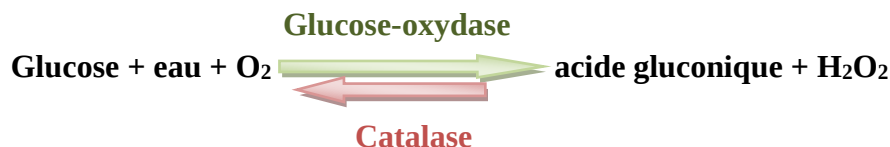
L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. En effet, il est connu qu'une osmolarité importante, présente un effet bactéricide et favorise la cicatrisation. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont alors plus suffisamment d'eau pour survivre. Cependant, il est intéressant de noter qu'à osmolarité équivalente avec une solution de sucre, le miel est plus efficace pour inhiber la prolifération de nombreux germes et notamment celle des staphylocoques à coagulase négative (**couquet et al., 2013**).

- Le pH acide

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes. On peut donc dire que le pH acide du miel renforce l'activité antibactérienne de celui-ci (**Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991**).

- Le système peroxyde d'hydrogène (inhibine)

La principale activité antibactérienne du miel est liée à la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène. La glucose-oxydase est une enzyme qui est sécrétée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles, au moment de la récolte du nectar ou du miellat, ainsi que pendant les trophallaxies successives, cette enzyme est associée au mélange sucré qui va devenir le miel. Cette enzyme permet la réaction suivante :



La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. L'eau oxygénée produite a donc une origine végétale grâce au glucose provenant du nectar des plantes, mais sa formation implique une enzyme d'origine animale, la glucose-oxydase, qui est sécrétée par l'abeille. L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement de colonies bactériennes (**Brudzynski et al., 2012 ; Couquet et al., 2013**).

La catalase est une enzyme antagoniste de la glucose-oxydase, elle réduit l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



- **Des facteurs phytochimiques**

Parmi les facteurs phytochimiques on retrouve les huiles essentielles des nectars de fleurs, dont le pouvoir antibactérien est déjà connu, comme le thymol du thym ou la pinocembrine, flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels. De par son effet antiseptique, cette dernière jouerait un rôle important dans le maintien de l'hygiène à l'intérieur de la ruche. D'autres composés ayant une activité antibactérienne ont été identifiés dans le miel mais ils sont en quantité trop faible pour contribuer de manière significative à cette activité (**Couquet *et al.*, 2013**).

- **Le méthylglyoxal (MGO)**

C'est une substance naturelle à pouvoir bactéricide, présent dans tous les aliments riches en glucides ainsi, elle est l'un des composants dicarboxylés découlant de la réaction de Maillard. Le MGO a été retrouvé en particulier dans le miel de Manuka (*Leptospermum scoparium*) (**Sultanbawa *et al.*, 2015**).

- **La défensine-1**

La défensine-1 est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité innée. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. Il a été montré récemment que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel provient de cette protéine (**Couquet *et al.*, 2013**).

MATERIELS ET METHODES

II. MATERIELS ET METHODES

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de physico-chimie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia. Cette étude consiste à faire une analyse physico-chimique de cinq échantillons de miel et de tester leurs activités antimicrobiennes.

II.1-Origine des échantillons de miel

Les échantillons de miel sont au nombre de cinq offerts par les apiculteurs, ils ont été récoltés durant l'année 2016, d'une manière aléatoire dans les différentes régions citées dans le tableau ci-dessous et figuré dans la carte géographique (figure 2).

Tableau IV : Origine des échantillons de miel.

Echantillon de miel	Région de récolte	Etat	Couleur
Echantillon 1	Tazmalt	Semi cristalisé	Jaune clair
Echantillon 2	Bouira (haizer)	Cristalisé	Jaune clair
Echantillon 3	Akbou	Liquide	Brun foncé
Echantillon 4	Biskra	Liquide	Marron
Echantillon 5	Toudja	Cristalisé	Marron clair

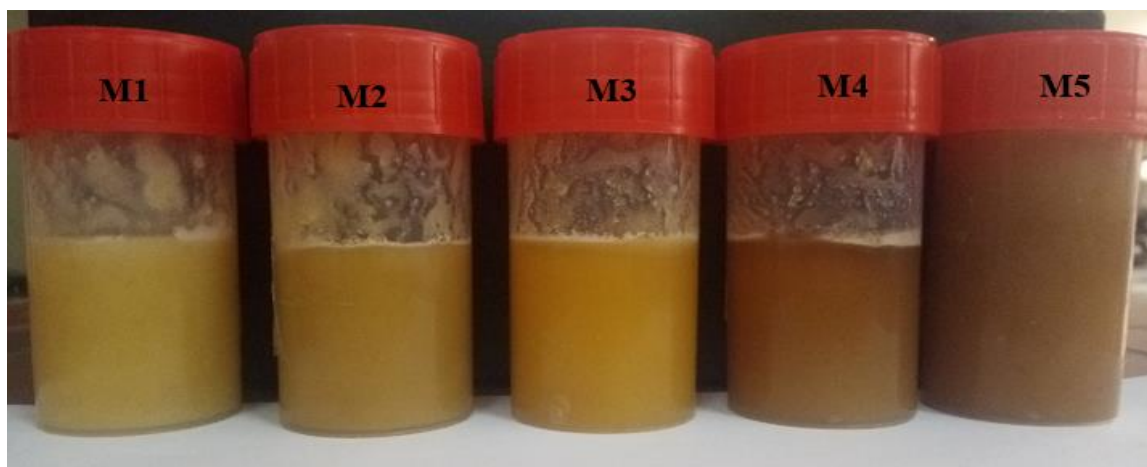


Figure 1 : les échantillons de miels analysés.



Figure 2 : Carte géographique des régions où la récolte a été faite (Google earth, 2017).

II.2-Analyse pollinique

L'analyse pollinique permet de déterminer l'origine botanique des échantillons de miels. Elle est faite en suivant la méthode décrite par **Louveaux et al. (1978)**, et qui consiste à séparer les grains de pollen de la matière qui les entoure afin de pouvoir en observer la morphologie sur une lamelle microscopique.

3 à 10g de miel selon la couleur, sont dissoute dans 12ml d'eau distillé puis versé dans des tubes à hémolyse, ces derniers sont placés dans une centrifugeuse pendant 10 min à 4500 tours / min. Le surnageant a été retiré avec précaution en laissant 1cm du culot. 10ml de l'eau distillée sont ajoutées au culot et centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions. 100 μ l de culot récupéré sont étalés sur une lame et séché sur une plaque chauffante. La lecture est faite sous microscope optique (Gx10, Gx40) après avoir ajouté de la gélatine fuchsiné dans le but de fixer la lamelle.



Figure 3 : le culot des échantillons de miels après centrifugation.

II.3-Analyses des paramètres physico-chimiques de miel

Les méthodes utilisées pour la mesure des paramètres physico-chimique : pH, humidité, HMF, proline, conductivité électrique, pouvoir rotatoire sont celles recommandés par **Bogdanov et al. (1997)**.

II.3.1-Humidité

Deux grammes de miel sont introduits dans un bécher, puis ce dernier est placé sur une plaque chauffante afin d'assurer la disparition des cristaux de sucres. Une goutte de miel est déposée directement après homogénéisation, sur le prisme du réfractomètre. L'indice de réfraction est lu grâce à l'oculaire au niveau du linge horizontal de partage entre une zone claire et une zone obscure, et la température de laboratoire doit être notée. Dans notre cas cette dernière est de 16°C, d'où la nécessité d'une correction additive de 0,00023 par 1°C. En se rapportant à la table de CHATAWAY (Annexe 1), on obtient le pourcentage de la teneur en eau correspondant à l'indice de réfraction.

II.3.2-Mesure de pH

Le pH d'une solution de miel à 10% a été mesuré à l'aide d'un pH mètre et cela après avoir Peser 2,5 g du miel ; l'homogénéiser ; puis versé la solution dans une fiole jaugée de 25ml et complété le volume avec l'eau distillé jusqu'au tri de jauge.

II.3.3-La conductivité électrique

Une quantité de miel M qui correspond : $M = (5 \times 100) / (100 - \% \text{ d'humidité})$ est pesée. Cette quantité pesée est dissoute dans 25 ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (15,60µS/cm). La cellule de mesure du conductimètre est introduite dans la solution de miel et la valeur de la conductivité est lue sur l'appareil. La conductivité électrique est calculée selon la formule suivant :

$$\text{Conductivité électrique} = (\text{Valeur mesurée} - A)$$

$$A = \text{Valeur mesurée} \times 0,032(T - 20)$$

T : température.

0,032 : Facteur de correction.

100- % d'humidité= matière sèche.

II.3.4-Couleur

La couleur de miel est déterminée selon la méthode décrite par **Bath et Singh. (1999)**. Dans un bécher, une masse de 1g de miel est pesée, diluée dans 4ml d'eau distillée puis homogénéisée. La valeur des absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre à 450nm.

II.3.5-Dosage des protéines

Un gramme de miel est dissout dans 1ml de l'eau distillé (solution mère). Dans un tube à essai et à l'aide d'une micropipette, 100µl de la solution mère est prélevé et homogénéisé avec 5ml de réactif de Bradford (Annexe 8). Après deux minutes, l'absorbance est lue par spectrophotomètre à 595nm. Les résultats sont déterminés par référence à une courbe d'étalonnage réalisé avec la sérumalbumine bovine (Annexe 2, Figure 1) (**Bradford., 1976**).

II.3.6-Proline

1ml d'acide formique et 1ml de ninhydrine (3%) sont additionnés à 3 tubes contenant 500µl de d'échantillon de miel à (5%) et à un tube standard qui renferme 500µl de la solution de proline. Après 15 min d'agitation et de chauffage des solutions préparés à 100°C, ils sont transférés dans un bain marie à 75°C pendant 10 min. 5 ml de 2-propanol à 50% sont ajoutés et la lecture des absorbance est faite à 510 nm après 45 min d'incubation à l'obscurité.

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

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

Es : Absorbance de la solution d'échantillon.

Ea : Absorbance de la solution standard de la proline.

E1 : mg de proline pour la solution standard.

E2 : Quantité de miel en Kg.

80 : Facteur de dilution.

II.3.7-HMF

Le dosage de l'HMF consiste à dissoudre une masse de 5g de miel dans 25 ml d'eau distillée, puis un volume de 1ml de Carrez I (hexacyanoferrate de potassium à 15%) et 1ml de Carrez II (acétate de zinc à 30%) sont ajoutés. Après homogénéisation le volume est ajusté à 50 ml avec de l'eau distillée dans une fiole, Les dix premiers ml sont écartés, les 40 ml restantes sont filtrés.

Quatre tubes à essai sont remplis avec 5ml de filtrat. Un volume de 5 ml de l'eau distillé est introduit dans trois tubes, le quatrième qui représente le blanc contient 5ml de la solution sodium bisulfite (0,2%). L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 284 nm et à 336 nm. La teneur en HMF est donnée par l'équation :

$$HMF \left(\frac{mg}{kg} \right) = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5/w$$

A 284 : Absorbance à 284 nm.

A 336 : Absorbance à 336 nm.

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

149,7 : Constante

II.3.8-Pouvoir Rotatoire

Le pouvoir rotatoire est lié à la composition en sucre, déterminé par un polarimètre en utilisant une solution aqueuse de miel et filtré.

12g de miel sont dissouts dans de l'eau distillé, un volume de 1ml de la solution de Carrez I (hexacyanoferrate de potassium à 15%) et un 1ml de Carrez II (acétate de zinc à 30%) sont ajoutés. Dans une fiole le volume de la solution est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillé. Après 24h la solution est filtrée sur un papier filtre, le filtrat obtenu est versé dans un polarimètre. Le pouvoir rotatoire s'affiche sur l'appareil à la température de 20°C.

II.4-DOSAGES PHYTO-CHIMIQUES

II.4.1-Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques des échantillons de miel est déterminée selon la méthode décrite par **Naithani et al. (2006)**.

1g de miel est dissout dans 10ml d'eau distillé, puis 100µl de cette solution est homogénéisé avec 100µl de réactif de folin-Ciocalteu dilué à 50 %. Après une minute d'agitation, 2ml de carbonate de sodium (2%) sont ajoutés. La préparation est ensuite laissée à l'obscurité pendant 30min, puis l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 750nm. Les concentrations en composés phénoliques totaux des miels sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisé avec l'acide gallique comme standard (Annexe 2, Figure 2).

II.4.2-Dosage des flavonoïdes

Al et al. (2009) ont décrit une méthode colorimétrique de dosage des flavonoïdes, elle est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre flavonoïde-aluminium par chélation des métaux.

Une quantité de 2,5g de miel est homogénéisée avec 5ml d'eau distillée (solution mère), à partir de cette dernière, 1ml est mélangé avec 4ml d'eau distillée et 0,3ml de la solution nitrate de sodium (NaNO_2 à 5%). Après une durée de 5mn, 0,3ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 à 10%) sont ajoutés. Six minutes plus tard, on additionne 2ml de la solution hydroxyle de sodium (NaOH , 1N). Après l'homogénéisation, la lecture est faite à 510nm. La teneur du miel en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine (Annexe 2, Figure 3).

II.5-L'activité antioxydante

II.5.1-l'activité antiradicalaire

II.5.1.1-Test de DPPH

La détermination de pouvoir antiradicalaire est basée sur la diminution de l'absorbance à 517nm quand le radical libre DPPH réagit avec un antioxydant. D'après **Meda et al. (2005)**, Une masse de 0,1g de miel est dissout dans 4ml d'eau distillée, un volume de 500µl de cette solution est mélangé avec 1ml de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15min avant de lire les absorbances à 517nm. Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% Red = \left(\frac{AbsC - AbsE}{AbsC} \right) \times 100$$

Abs E : Absorbance de l'échantillon.

Abs C : Absorbance de témoin.

II.5.1.2-Test d'ABTS

Le pourcentage d'inhibition de radical ABTS est évalué par la méthode de **Re et al. (1999)**, Un volume de 100µl de la solution de miel est mélangé avec 1ml d'ABTS. Après 7mn, la lecture est faite à 734nm. Le pouvoir antiradicalaire de l'échantillon est exprimé selon la formule suivante :

$$PI\% = \left(AbsC - AbsE \frac{AbsC}{AbsC} \right) \times 100$$

II.5.1.3-Test de FRAP

Le test le plus utilisé pour évaluer la capacité antioxydante est celui de FRAP. En présence des antioxydants, le complexe ferrique 2, 4, 6 – tripyridyl-1,3,5-striazine (Fe³⁺-TPTZ) est réduit en sa forme ferreux (Fe²⁺-TPTZ). La réaction de Fe²⁺ avec le TPTZ forme une couleur bleu-violet avec un max d'absorbance à 593nm (**Alvarez -suarez et al., 2010**).

500 µl de la solution de miel (0,1g / 4ml d'eau distillé) est mélangé avec 750 µl de la solution de FRAP. L'absorbance est lue à 593 nm après incubation pendant 5 min à 37 °C. Le test de FRAP est déterminé en se référant à la courbe d'étalonnage réalisé avec l'acide gallique (Annexe 2, Figure 4).

II.5.2-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur de certains composés peut servir d'indicateur significatif de l'activité antioxydante. L'étude de pouvoir réducteur de miel est effectuée en employant la méthode rapportée par **Li et Lin. (2010)**, 500µl de la solution de miel (0,1g / 4ml d'eau distillé) sont mélangés avec 500µl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 500µl de hexacyanoferrate de potassium (1%). Une incubation du mélange est faite pendant 20min au bain marie à 50°C avant l'ajout de 500µl de trichloracétique (10%). Après l'arrêt de la

réaction, un volume de 100µl de chlorure ferrique est ajouté à 500µl de mélange dilué avec 800µl de l'eau distillé. Après 10min, L'absorbance est lue à 700nm.

II.6-Activite antibactérienne

L'activité antibactérienne des échantillons de miel est testée par deux méthodes recommandées par **Jean ; Patel et al. (2015)**. Une sur un milieu liquide, l'autre sur un milieu solide sur trois souches bactériennes de référence (*Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Klebsiella pneumonia* ATCC700603). Le choix de ces souches est en fonction de leurs pathogénicités et de leurs résistances naturelles aux antibiotiques.

II.6.1-Les souches bactériennes testées

La vérification de la pureté de ces souches a été faite par une coloration de gram.

Les souches utilisées dans les tests de l'activité antibactérienne font parties de deux groupes de bactéries pathogènes : les bactéries à Gram+ et les bactéries à Gram- (Tableau V).

Tableau V : Souches pathogènes testées vis-à-vis des échantillons de miel.

Groupe bactérienne	Souches testées
Gram- Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922
	<i>Klebsiellapneumoniae</i> ATCC700603
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923

Afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées, les différentes souches bactériennes sont repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les cultures bactériennes sont utilisées pour préparer l'inoculum qui est obtenu par un mélange d'une culture bactérienne avec un volume de 9 ml d'eau physiologique (0,9%) pour le milieu solide et avec un volume de 9 ml de milieu nutritif pour un milieu liquide (microplaque) pour avoir une absorbance de (0,08-0,13) à 625nm, qui correspond à une densité cellulaire d'environ 10^8 CFU/ml (MacFarlon)

II.6.2-La méthode de diffusion en gélose (ou méthode de diffusion sur disques de papier filtre)

Après avoir préparé la gélose Muller –Hinton et collé les boîtes de pétri, on procède à l'ensemencement avec la suspension bactérienne à l'aide d'un écouvillon. Dans chaque boîte, on dépose 4 disques en papier absorbant de Whatman de 6 mm de diamètre stérilisés à l'autoclave (121°C pendant 15 minutes). Un disque pour le contrôle négatif qui reçoit 100µl d'eau distillée stérile. L'autre pour le témoin positive fait avec des disques d'antibiotiques (acide Nahidixic pour *Escherichia coli*, Acide fusidic pour *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumonia*) et les deux autres pour 100µl de la solution de miel préparé, les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. la présence d'une zone d'inhibition est observée et mesurée. Ce test est effectué à trois reprises avec chaque échantillon de miel et avec les trois souches.

II.6.3-Technique de micro-dilution en milieu liquide pour détermination de la CMI

C'est une méthode qui utilise des micro-dilutions sur une microplaque. Pour ce faire 4 séries de dilution de miel de gradient de 2 ont été réalisés à partir d'une concentration initiale de 1mg /1ml de miel (Annexe 7, tableau VI).

Chaque puits a reçu 80µl de l'inoculum préparé et 20µl de chaque série de dilution de la solution de miel, sauf pour le contrôle qui contient 20µl de l'eau distillé stérile et 80µl de l'inoculum. Ce test est réalisé sur 3 microplaques avec deux répétitions chacune, sur les 3 souches bactériennes précédentes. Après 18 à 24h d'incubation à 37°C, la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) est faite.

II.7-Analyse statistique

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de 3 essais à l'exception de l'humidité (2 essai). Le programme Microsoft office Excel 2013 est utilisé pour calculé les moyennes et les écartypes, et les coefficients de corrélation.

Une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur suivie du teste LSD est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5, afin de mettre en évidence les différences significative entre les échantillons de miel pour chaque paramètre étudié, ainsi que des analyses multivariées ont été effectués (ACP).

*RESULTS ET
DISCUSSIONS*

III.1-Analyse pollinique

La palynologie, étude qualitative et quantitative qui donne des informations précises sur les principales plantes mellifères, et permet de caractériser les miels par leurs origines botaniques et géographiques. Elle est également employée pour évaluer les corrélations avec les paramètres climatiques (**Makhloufi et al., 2010**).

Les pollens identifiés ont été classés selon leurs fréquences polliniques suivantes ; pollen prédominant (>45%), pollen secondaire (16-45%), pollen mineur important (3-15%) et pollen mineur d'occurrence (1-3%) (**Ouchemoukh et al., 2007 ; Makhloufi et al., 2010**).

Les résultats des analyses polliniques récapitulés dans le (tableau VI), montrent que le pollen dominant se trouve seulement dans M05 (Monoflorale de la famille des Fabaceae), il contient aussi des pollens d'accompagnement (Cistaceae 30%), avec des valeurs faibles pour les familles (Chinopodiaceae 5%, Rosacées, Oleaceae, Liliaceae à 4% et Apiaceae à 2%). Ceci confirme la richesse de la région en cette famille de Fabaceae.

La méliissopalynologie révèle aussi l'existence de 4 échantillons du miel polyfloraux (M01, M02, M03, M04) qui sont dépourvus de pollen dominant. Ces miels renferment des pollens d'accompagnement dont Fabaceae est présente dans tous les miels, en plus des Rosaceae, Rhamnaceae, Bracécaceae, Astiraceae avec des pourcentages déferents. D'autres familles sont présentes mais à des valeurs très petites de l'ordre de 1% environ. La présence d'un nombre élevé de miels polyfloraux peut s'expliquer par l'absence de monocultures à grande échelle où la récolte du miel est effectuée.

Tous les échantillons du miel présentent les pollens d'accompagnement, les pollens minoritaires et très minoritaires. Toutefois, le pollen dépend des conditions climatiques, rapports plantes et abeilles, la disponibilité et les diamètres des pollens, force de colonies d'abeilles et de la localisation de la ruche (**Makhloufi et al., 2010**).

Tableau VI : Spectres polliniques et pourcentages des pollens des miels analysés.

Miel	Pollens dominantes (45%)	Pollens d'accompagnement (16-45%)	Pollens minoritaires (3-15)%	Pollens très minoritaires %	Origine botanique
M01	Absence	<i>Fabaceae</i> 34,56% <i>Rosaceae</i> 28,39%	<i>Cistaceae</i> 3,70% <i>Liliaceae</i> 6,17% <i>Lamiaceae</i> 13,58%	<i>Apiaceae</i> 1,23% <i>Poaceae</i> 1,23%	Polyfloraux
M02	Absence	<i>Rhamnaceae</i> 35,59% <i>Fabaceae</i> 27,11% <i>Rosaceae</i> 16,94%	<i>Brassicaceae</i> 10,16% <i>Apiaceae</i> 5,08%	<i>Cistaceae</i> 1,69% <i>poaceae</i> 1,69% <i>oleaceae</i> 1,69%	Polyfloraux
M03	Absence	<i>Rhamnaceae</i> 20% <i>Fabaceae</i> 26,66% <i>Brassicaceae</i> 20%	<i>Chinopodiaceae</i> 13,33 % <i>Rosaceae</i> 13,33% <i>Citrus</i> 6,66%	Absence	Polyfloraux
M04	Absence	<i>Fabaceae</i> 31 % <i>Chinopodiaceae</i> 29% <i>Brassicaceae</i> 19% <i>Astiraceae</i> 16%	<i>Apiaceae</i> 3% <i>Oleaceae</i> 8% <i>Cistaceae</i> 5%	<i>Fagaceae</i> 1% <i>Poaceae</i> 1%	Polyfloraux
M05	<i>Fabaceae</i> 49%	<i>Cistaceae</i> 30%	<i>Chinopodiaceae</i> 5% <i>Rosaceae</i> 4% <i>oleaceae</i> 4% <i>liliaceae</i> 4%	<i>Apiaceae</i> 2%	Monofloraux

III.2- Analyse physico-chimique

Tableau VII : Résultats des analyses physico-chimiques des miels analysés.

Miel	Humidité (%)	pH	Brix (%)	CE (mS /cm)	Couleur	Protéine (mgEBSA /100g)	Proline (mg/kg)	HMF (mg/kg)
M01	15,19 ^c ±0,57	4,29 ^a ±0,06	83,70 ^a ±0,2	0,10 ^d ±0,00	0,25 ^c ±0,03	17,55 ^c ±1,50	643,17 ^d ±31,20	28,84 ^e ±0,46
M02	14,66 ^c ±0,94	4,20 ^a ±0,04	83,75 ^a ±0,35	0,48 ^b ±0,01	0,54 ^b ±0,02	21,93 ^b ±0,96	1327,52 ^a ±113,04	35,37 ^d ±1,05
M03	23,01 ^a ±0,56	3,81 ^b ±0,02	74,50 ^c ±0,28	0,72 ^a ±0,05	0,96 ^a ±0,03	49,17 ^a ±1,25	1118,42 ^b ±42,63	117,76 ^a ±1,60
M04	13,97 ^c ±2,01	3,29 ^d ±0,00	83,75 ^a ±0,5	0,20 ^c ±0,00	0,58 ^b ±0,02	17,42 ^c ±1,44	596,70 ^d ±46,38	62,80 ^b ±3,62
M05	17,20 ^b ±0,28	3,41 ^c ±0,01	81,00 ^b ±0,5	0,19 ^c ±0,01	0,57 ^b ±0,00	13,36 ^d ±3,60	820,59 ^c ±27,07	48,99 ^c ±1,68

III.2.1- Humidité et Brix

L'humidité est un élément important dans l'évaluation du degré de maturité du miel et de sa durée de vie.

La teneur en eau de nos échantillons varie entre 13,97 % et 23,04 %, et qui correspond à des indices de réfraction allant de 1,5092 à 1,4780 respectivement. Les échantillons de miel présentent une différence significative. Ces valeurs obtenues sont inférieurs à 20 %, limite mentionnée par **l'Union européennes (2002)** et le **codex alimentaire (2001)**, sauf pour le M03 qui présent une valeur de 23 %.

L'étude effectuée par **Habib et al. (2014)** a révélé des valeurs comprises entre 15 et 22,6 % avec une moyenne de 17,68 %. **Bogdanov et al. (1997)** indiquent que la teneur en eau du miel varié entre 15 de 20 %.

Les résultats des échantillons (M01), (M02), (M04), (M05) sont révélateurs de leurs maturités et de leurs faibles risque de fermentation, donc de bon stockage des miels étudiés.

La teneur en eau de l'échantillon M03 est supérieur à la norme ce qui peut être la conséquence d'une récolte prématurée, une telle humidité prédispose le miel à la fermentation aux cours de conservation.

Les valeurs de la matière sèche varient entre 74,50 et 83,75%. Ces valeurs sont dans l'intervalle fixé par le **codex alimentaire (2001)**. Ces résultats sont supérieurs à ceux des miels du Bangladesh (42,8 à 60,6 %) rapportés par **Islam et al. (2012)** et celui des miels Malaysiens (55,33 à 64,93%) rapportés par **Moniruzzaman et al. (2013)**.

Les échantillons de miel (M03), (M05) enregistrent une différence significative ($p < 0,05$), par contre les échantillons de miel (M01), (M02), (M04) n'enregistre pas une différence significative.

Les faibles pourcentages de la matière sèche des échantillons analysés peuvent être contribués par la conversion des sucres en acides inorganiques ou la conversion du glucose en acide gluconique (**Moniruzzaman et al., 2013**).

En effet, la variation de l'humidité peut s'expliquer par la composition et l'origine florale du miel. La forte interaction de sucre avec les molécules d'eau réduire l'eau disponible au développement des micro-organismes (**Malika et al., 2005**).

D'après **Zerrouk et al. (2011)**, l'eau et la teneur en sucre de miel sont strictement corrélés. La teneur en eau dépend des divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche.

III.2.2-Le pH

Pour le miel, le pH est un indice de la « réactivité acide » du produit, c'est une mesure courante dans les laboratoires d'analyse des miels (**Vanhanen et al., 2011**).

Les valeurs de pH des miels analysées sont comprises entre 3,29 et 4,29, on suppose donc qu'ils sont issus de nectar.

Les échantillons de miel (M05), (M04) et (M03) analysées présentent une différence significative ($p < 0,05$), par contre les échantillons (M01) et (M02) ne présentent pas une différence significative.

L'intervalle de pH obtenu pour les miels (M01), (M02) et (M03) sont conforme avec ceux de (**Ouchemoukh et al., 2007**) sur les miels algériens (3,49 et 4,43) et de (**Silva et al., 2009**) sur les miels portugais (3,45 à 4,70), ce qui n'est pas le cas pour les miels (M04) et (M05) qui sont pas inclus dans cet intervalle. Aucun de nos échantillons étudiés n'a dépassait la limite permise, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur.

La variation du pH serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Belhaj et al., 2015**).

Le caractère acide du miel dépend de la quantité d'acide gluconique produite par l'enzyme glucose-oxydase lors de l'oxydation du glucose. D'autres composés comprennent les acides non aromatiques et aromatiques, respectivement (**Alvarez, 2010 ; Belhaj et al., 2015**).

III.2.3- Conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre pour la différenciation entre les miels de différentes origines florales (**Terrab et Heredia, 2004**). Elle exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique, et elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles.

La conductivité électrique permet de distinguer entre les miels de nectar et ceux de miellat, les miels de nectar doivent avoir des valeurs de conductivité inférieure à 0,8 ms/cm,

tandis que les miels de miellat doivent avoir des valeurs plus de 0,8mS/cm (**Codex Alimentaire., 2001**).

Les valeurs de la conductivité électrique des miels analysés sont comprises entre 0,11 et 0,72. Ces valeurs sont inférieures à 0,8 mS/cm, cela veut dire que ce sont des miels à nectars.

La conductivité électrique de nos miels est similaire à celle obtenue dans 151 miels algériens (0,10 à 1,61ms/cm) (**Ouchemoukh et al., 2007**), (**Makhloufi et al., 2010 ; Benaziza-Bouchema et al., 2010**).

Les miels M01, M02, M03 présentent une différence significative à ($p < 0,05$), par contre le M04, M05 ne présentent aucune différence significative.

Le miel (M02) et (M03) sont les meilleurs conducteurs de courant électrique, ce qui confirme la corrélation entre la conductivité électrique et la couleur des miels, selon **Kaskoniené et al. (2010)**, les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs, ils sont les plus riches en matières minérales ionisables, donc ce sont de bons conducteurs de courant.

III.2.4-La couleur

La couleur des miels est une caractéristique physique dépendante de l'origine du produit, mais également un élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du consommateur (**Missio Da Silva et al., 2016**).

La couleur des miels analysés varie entre le jaune clair et le brun foncé. Les densités optiques obtenues présentent des variations significatives allant de 0,25 à 0,96.

Le miel M02, M04, M05 ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$), par contre le M01 et M03 présentent une différence hautement significative. L'intervalle de couleur obtenu pour les miels (M02), (M03), (M04), (M05) est conforme à ceux de (**Serem et Bester, 2012**) (0,32 à 2,16).

La couleur foncé de M03 est probablement due à la diversité florale des régions appropriées et à leurs compositions chimiques très riches. Plus un miel est de couleur foncée plus ça teneur en phénols totaux, en minéraux et en acides est élevées (**Ouchemoukh et al., 2007**).

Une corrélation est trouvée entre la couleur et les différents paramètres antioxydants (DDPH, FRAP, ABTS) dans les différents types des miels analysés, ceci est dû à leurs richesses en composés phénoliques, ces résultats sont confirmés par **Irina et al. (2010)**.

Ce paramètre peut être interprété comme un indice fiable de la présence de pigments ayant une activité antioxydante telles que les caroténoïdes et les flavonoïdes (**Doukani et al., 2014**).

Le miel assombrit généralement avec l'âge. La variation de couleur peut être due à l'utilisation des vieux rayons, contact avec des métaux et l'exposition à des températures élevées (**Moniruzzaman et al., 2013**).

III.2.5- Les protéines

Le dosage des protéines du miel est un caractère qui ne figure pas dans les normes internationales. Cependant leurs richesses donnent une valeur nutritionnelle aux miels.

Les teneurs en protéines des miels analysés varient de 13,36 à 49,17 mg EqBSA/100g. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par (**Yucel et Sultanoglu, 2013**) (13 à 115 mg EqBSA/ 100 g), et ceux de (**Alvarez-Suarez et al., 2010**) sur le miel de Cuba (12-92,3mg EqBSA/ 100g).

Les échantillons du miel (M01) et (M04) ne présentent pas une différence significative, contrairement aux autres échantillons.

Le (M01), (M02), (M04), (M05) présentent une faible teneur en protéines.

L'échantillon (M03) présente la teneur en protéine la plus élevée, et diffère significativement de celle des autres miels. Ceci peut être expliqué par les sécrétions d'abeilles ouvrières, des grains de pollen ou de nectar, Ceci explique bien les différences dans les taux de protéines des miels analysés (**Hermosin et al., 2003**).

III.2.6-La proline

La proline est l'acide aminé libre retrouvé dans le miel et le pollen. Dans le miel, il est ajouté essentiellement par l'abeille ouvrière durant la conversion du nectar en miel. La détermination de la teneur en proline donne des informations sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications (**Amri et al., 2007**).

Les différents miels analysés ont une teneur en proline qui varie entre 596,70 et 1327,52 mg/kg. Tous les miels analysés possèdent des valeurs au-dessus de celles

recommandés par **Bogdanov *et al.* (1997)** (180mg/kg). Par conséquent, on peut supposer que ces miels sont mures et authentiques.

Les échantillons de miels (M02), (M03), (M05) présentent une différence significative ($p < 0,05$), par contre le miel (M01) et (M04) ne présentent pas une différence.

L'intervalle des valeurs obtenues sont similaire à celui rapporté par **Ouchemoukh. (2012)** (302,33 à 1420,07mg/kg) sur des miels algériens. Ceci peut être dû à la différence de l'origine botanique et à la force de la colonie d'abeilles.

III.2.7- Teneur en 5- hydroxy-3- méthyl-2-furfural (HMF)

L'HMF est un produit de déshydratation de glucides, naturellement présent dans tous les miels à la récolte à l'état de trace ; (1 à 3mg/kg) (**Fallico *et al.*, 2004 ; Makhloufi *et al.*, 2010**). Ce taux augmente avec le chauffage et le vieillissement du miel (**Khalil *et al.*, 2010**).

Les valeurs obtenues pour l'HMF se situent entre 28,84 et 117,76mg/kg. Cet intervalle est similaire à celui obtenu par (**Makhloufi *et al.*, 2007**) (0,5-124mg /kg).

La teneur en HMF de (M01) et (M02) sont inférieurs à 40mg/kg recommander par (**Bogdanov *et al.*, 2004**). Ce qui témoigne que ces miels sont frais et de bonne qualité, qui peut être due aux bonnes conditions de stockage.

Les miels (M03), (M04), (M05) ont une teneur en HMF supérieurs à 40mg/kg, ceci pourrait s'expliquer par le chauffage des miels, la nature et la concentration des sucres présents ou par la température de leurs stockages et la valeur de pH.

L'HMF est un excellent paramètre pour apprécier la qualité du miel. Sa teneur est donc un très bon indice de dégradation (**Yucel et Sultanoglu. 2013**).

III.2.8-Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est également appelé l'activité optique du miel. C'est la capacité des miels à dévier le plan de polarisation. Les miels dits (lévogyres) lorsqu'ils dévient la lumière à gauche, c'est-à-dire issus du nectar, d'une part ; d'autre part, les miels du miel dits (dextrogyres) lorsqu'ils dévient la lumière à droite.

Le pouvoir rotatoire réalisé seulement sur 3 échantillons de miel (M01), (M04), (M05) à cause de la quantité insuffisante des autres échantillons.

Les valeurs de la rotation optique des miels étudiés varient entre -7,14 et -5,07 (Tableau VIII). Le (M04) présente la valeur la plus faible de (-7,14) suivie de (M01) avec une valeur de (-6,28) et enfin le (M05) avec une valeur de (-5,07). La valeur de (M05) est proche de celle trouvée par **Ouchemoukh. (2012)** sur l'échantillon (M22) (-5,88), et les valeurs de l'échantillon (M01), (M04) sont inclus dans l'intervalle trouvé par (**Nanda et al. 2003**) (-9,23 et -6,18).

Ces miels sont donc lévogyres, et d'après les résultats obtenus dans le pH et la conductivité électrique, on confirme qu'ils sont issus de nectar.

Tableau VIII : Pouvoir rotatoire des miels analysés.

Echantillons de miels	Pouvoir rotatoire
M01	-7,14
M04	-6,28
M05	-5,07

III.3-Teneur en antioxydants et activité antioxydante

Les résultats de dosage des antioxydants et d'évaluation des activités antioxydantes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IX : teneur en antioxydants et activités antioxydantes des miels analysées.

Miel	Phénols mg EAG/ 100 g	Flavonoïdes mg EC/100g	ABTS (%)	DPPH (%)	FRAP mg EAG/100g	Pouvoir réducteur mgEAG/100g
M01	32,20 ^e ±1,32	10,74 ^{ab} ±1,23	23,10 ^d ±0,78	65,72 ^b ±1,13	23,85 ^d ±0,73	24,88 ^c ±0,14
M02	43,19 ^d ±2,90	3,56 ^c ±1,04	34,63 ^c ±3,36	74,52 ^a ±3,67	58,69 ^b ±2,35	39,35 ^a ±0,99
M03	100,99 ^a ±1,81	11,45 ^a ±2,64	53,70 ^b ±1,73	30,15 ^c ±1,12	201,47 ^a ±3,58	39,29 ^a ±1,87
M04	72,32 ^c ±2,28	10,79 ^{ab} ±0,41	77,14 ^a ±2,06	74,37 ^a ±1,17	21,37 ^d ±1,24	28,63 ^a ±0,48
M05	89,40 ^b ±3,73	8,54 ^b ±1,73	15,03 ^e ±4,50	66,14 ^b ±0,54	38,85 ^c ±9,11	13,50 ^d ±0,38

III.3.1-Composées phénoliques totaux

Les composés phénoliques sont les composants principaux responsables de l'activité antioxydantes du miel (**Bueno-Costa et al., 2016**). Les taux des composés phénoliques totaux des différents miels analysés varient entre 32,20 et 100,99 mg d'EAG /100g de miel. Ces valeurs présentent une différence hautement significative ($p < 0,01$). Sur la base des taux en ces composés, les échantillons du miel sont classée selon l'ordre croissant : $M01 < M02 < M04 < M05 < M03$. Le miel de TAZMALT enregistre une teneur faible par rapport aux autres miels, tandis que le miel d'AKBOU enregistre la valeur la plus élevée (100,99mg EAG/100g).

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Al-Mamary et al. (2002)** sur les miels de Yémen (56,32-246,21 mg/100 g), et similaires à ceux obtenues par **Al et al. (2009)**, sur les miels de Roumanie (2,00-125,00 mg/100 g) et **Silici et al. (2010)** sur les miels de Turquie (0,24-141,83 mg/100 g).

Il existe une forte corrélation entre les composés phénoliques et les différents paramètres antioxydants (FRAP, DPPH, ABTS, pouvoir réducteur) responsables de l'activité antioxydante, la variation de cette dernière est due principalement à l'origine botanique des miels.

Généralement, une activité antioxydante plus élevée est trouvée dans les échantillons de miel foncé, et les variations dans les activités antioxydantes de miels sont dues à la nature quantitative et qualitative de leurs contenus phénoliques (**Beretta et al., 2005**).

III.3.2-Flavonoïde

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire, qui sont des éléments essentiels pour l'arôme et les propriétés antioxydantes du miel, ils sont reconnus comme piégeurs de radicaux. Le taux des flavonoïdes des différents miels analysés est compris entre 3,56 et 11,45. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Kishore et al. (2011)** qui ont rapporté des teneurs allant de 24,74 à 50,45 mg Eq/100g pour les miels de la Malaisie, et similaire à ceux rapporter par **Ouchemoukh. (2012)** (0,30-35,61mg/100g) sur les miels algériens.

Le miel (M03) est le plus riche en flavonoïdes, et la teneur obtenue présente une différence significative par rapport aux échantillons (M02) et (M05).

Le miel (M02) possède un taux faible en flavonoïdes, et diffère significativement des autres échantillons du miel.

III.3.3- Pouvoir antiradicalaire par ABTS

L'activité antiradicalaire par l'ABTS est une autre méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique ABTS⁺ et le réduire en sa forme neutre ABTS (**Alvarez-Suarez et al., 2010 ; Khalil et al., 2012**).

Les résultats des échantillons du miel analysés varient entre 23,10 et 77,14, ces résultats sont compris dans l'intervalle proposé par **Wilczynska. (2014)** (6 à 79%), et sont différents de ceux obtenu par **Perna et al. (2013)** (59,17±1,69%). Les échantillons de miel présente une différence hautement significative ($p < 0,01$). Cette différence est due probablement à la diversification végétale, donc une composition chimique différente.

III.3.4-Pouvoir antiradicalaire par le DPPH

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules biologiques, en raison de sa stabilité sous forme radicale et la simplicité de l'analyse.

L'activité antiradicalaire des différents miels étudiés varie entre 30,15 et 74,52 %, ces résultats ne sont pas inclus dans l'intervalle trouvé par **Wilczynska. (2014)** (47,2 à 83,4 %).

Les échantillons (M02), (M04), (M01), (M05) présentent des valeurs convergentes, qui sont liées à la région de la récolte qui contient une variation botanique et climatique similaire.

Le miel (M03) présente l'activité antiradicalaire la plus faible, ce qui signifie que ce miel possède une faible activité antioxydante et confirme le faible contenu en phénols. Ce miel présente une différence significative par rapport aux autres miels analysés.

L'activité antioxydante dépend en général, de la composition chimique de la plante comme les : flavonoïdes, phénols, enzymes, acides organiques, acides aminés et les caroténoïdes et évidemment il existe une corrélation entre les composés phénoliques et ses activités antioxydantes (antiradicalaire) (**Flores et al., 2015**).

III.3.5-Test de FRAP

C'est une méthode utilisée pour déterminer et estimer la capacité antioxydante du miel. Le principe consiste à une réduction du fer ferrique en fer ferreux ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) et ceci est possible par la présence ou non des composants du miel capable d'inhiber ce radical libre (**Moniruzzaman et al., 2013**).

Les résultats des échantillons de miel analysés évalués par le test de FRAP montre une capacité de réduction qui varie entre 21,37 mg EAG/100g et 201,47 mg EAG/100 g.

Ces résultats sont similaires à ceux de **Doukani et al. (2014)** (8,3 à 240mg EAG/100g), et sont inférieurs de ceux rapportés par **Moniruzzaman et al. (2014)** et **Perna et al. (2013)** (327,30 à 349,11 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/100\text{g}$).

Le miel (M04) présente le potentiel antioxydant le plus faible, d'où la confirmation de la non richesse en composés antioxydants. L'échantillon (M03) présente une activité antioxydante la plus élevée, qui est due à sa richesse en phénols.

Le (M01) et (M04) présentent une différence significative par rapport aux autres échantillons du miel.

III.3.6- pouvoir réducteur

L'analyse du pouvoir réducteur des échantillons a donné des valeurs comprises entre 13,50 et 39,35. Ces résultats sont inclus dans l'intervalle rapportés par **Sillici et al. (2010)** (12,76 à 80,80 mg EAG /g).

Les résultats obtenus peuvent être dus à la présence d'antioxydants doués d'une activité réductrice tels que les polyphénols, la vitamine C et les caroténoïdes.

L'étude statistique montre l'absence d'une différence significative ($p < 0,05$) entre le pouvoir réducteur des différents échantillons de miel analysés, sauf pour les échantillons (M01) et (M05).

III.4-Activite antibactériennes

L'évaluation de l'activité antibactérienne est réalisée sur cinq échantillons de miel sur trois souches bactériennes, et basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition (Figure 4) de différentes dilutions de miel sur un milieu solide in vitro, ainsi que sur la mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur un milieu liquide. Les résultats obtenus sur un milieu solide sont résumés dans (le tableau X) :

Tableau X : Effet du miel sur les souches bactériennes testées.

Miel	<i>E. Coli</i>			<i>S. aureus</i>			<i>k. pneumonia</i>		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
M01	0	0	0	23	25	24	10	11	10
M02	9	9	9	25	20	22	9	11	9
M03	0	0	0	23	22	26	8	8	8
M04	0	0	0	28	25	22	10	9	9
M05	0	0	0	21	20	20	8	11	11

Ce tableau présente les données concernant l'activité antibactérienne, il en résulte que toutes les souches ont été affectées par les différents miels examinés, leurs diamètres d'inhibitions varient en fonction du miel utilisé et de la souche bactérienne considérée.

Le diamètre des zones d'inhibition varie entre 0 et 9 mm pour *E. coli*, entre 20,33 et 25mm pour *S. aureus* et entre 8 et 10,33mm pour *k. pneumonia*. La détermination de ces zones d'inhibitions permet une estimation du degré de sensibilité de la souche bactérienne contre les extraits testés. Il ressort de cette étude que les trois souches bactériennes ont réagi différemment vis-à-vis des extraits testés.

Il apparaît que *S. aureus* (Gram +) présente une grande sensibilité vis-à-vis les miels analysés, avec un diamètre assez grand pour le (M04) d'une valeur de 28mm. Ainsi que pour *k. pneumonia* (Gram +) qui présente une moindre sensibilité par rapport à celle obtenue dans le cas de *S. aureus*. Ces deux bactéries sont les plus sensibles par comparaison à *E. coli* (Gram-), qui ne présente aucune zone d'inhibition vis-à-vis les miels testés, sauf le cas de miel (M02) qui présente une zone d'inhibitions assez petite de 9 mm. Ceci peut être attribué à la différence de la structure membranaire des trois souches. En

effet, la paroi cellulaire des bactéries à Gram⁺ est constituée d'une seule couche alors que celle des Gram⁻ possède une structure multicouche (Salwa et Maher, 2014).

Ces résultats montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes testées, qui peut être expliqué par son contenu important en enzyme glucose-oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (Al-Habsi et Niranjan, 2012).

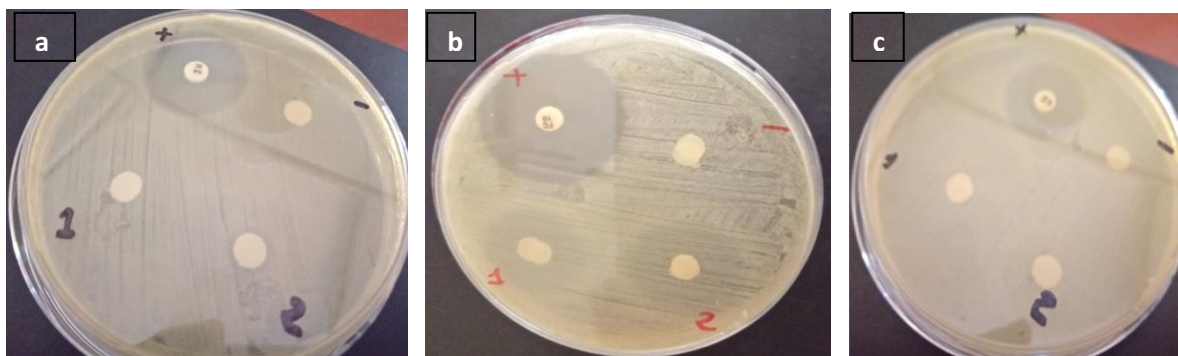


Figure 4 : Le diamètre des zones d'inhibitions des échantillons du miel testé sur les trois souches bactériennes ; **a :** *E. Coli*, **b :** *S.aureus*, **c :** *k. pneumonia*.

La technique de micro-dilution sur plaque permet d'estimer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) avec des intervalles, et leur détermination est basée sur l'inversion de résultat entre deux doses voisines (absence suivi de présence d'un précipité qui correspond à la croissance bactérienne). Elle est exprimée en mg/ml (Annexe 7, Figure 1).

Tableau XI : Les concentrations minimales inhibitrices des différents miels testés.

Souches Miels	M01	M02	M03	M04	M05
<i>E. Coli</i>	CMI>1000	500≥CMI>250	CMI> 1000	500≥CMI>250	250≥CMI>125
<i>S. aureus</i>	CMI > 1000	1000≥CMI>500	CMI> 1000	CMI≤ 62,5	CMI> 1000
<i>k. pneumonia</i>	500≥CMI>250	500≥CMI>250	CMI> 1000	1000 ≥CMI>500	1000 ≥CMI>500

Ce tableau présente la (CMI) des échantillons testés sur les trois souches bactériennes, il montre que M02, M04 possède 500≥CMI>250 vis-à-vis *E. Coli*, contrairement aux autres échantillons (M01) et (M03) qui présentent une CMI >1000. Ces résultats signifient qu'*E. Coli* résiste à différente dilutions testées. Concernant *S. aureus* qui présente une sensibilité

vis-à-vis le miel (M02), (M04) avec des $1000 \geq \text{CMI} > 500$ et $\text{CMI} \leq 62,5$ respectivement. Par contre le (M01), (M03), (M05) présentent une $\text{CMI} > 1000$.

K. pneumonia est la plus sensible aux échantillons de miel testé avec $500 \geq \text{CMI} > 250$ pour (M01) et (M02), et avec $1000 \geq \text{CMI} > 500$ pour le (M04) et (M05).

Les résultats trouvés pour **E. coli** (250mg/ ml) ne sont pas similaire avec ce rapporté par (**Mandal et al., 2011**) (100mg /ml) sur le miel de manuka.

La CMI dans le cas de **S. aureus** est de (62,5mg/ml) ces résultats sont incluse dans l'intervalle trouvé par (**Bueno-Costa et al., 2016**) (10-300), et différente de celui trouvé par (**Mandal et al., 2011**) (126,23-185,70 mg/ml) sur le miel de *Apis Mellifera*.

Le témoin (eau distillée) ne montre aucun effet inhibiteur sur la croissance des trois souches bactériennes.

III.5- Corrélations

III.5.1- Corrélation entre activité antioxydante et les paramètres physico-chimique

L'analyse statistique des résultats obtenus dans cette étude indique l'existence d'une corrélation significative ($p < 0,05$) entre la conductivité électrique et les paramètres antioxydants (DPPH avec $r = 0,71$ FRAP avec $r = 0,91$, pouvoir réducteur avec $r = 0,78$) (Annexe 4, Figure 1, 2, 3). De même, une corrélation existe entre la teneur en protéine et l'activité antioxydante (DPPH avec $r = 0,90$, FRAP avec $r = 0,96$, pouvoir réducteur avec $r = 0,67$) (Annexe 4 figure 4, 5, 6). Le coefficient de corrélation trouvé dans le cas de FRAP est supérieur à celui d'**Alvarez-Suarez et al. (2010)** ($r = 0,34$).

Une corrélation existe entre l'HMF et les paramètres antioxydants (DPPH avec $r = 0,86$, FRAP avec $r = 0,88$, ABTS avec $r = 0,51$) (annexe 4, figure 7, 8,9)

III.5.2- corrélation couleur, antioxydants et activité antioxydantes

La couleur de miel montre une corrélation significative ($p < 0,05$) avec l'activité antioxydante (DPPH avec $r = 0,74$, FRAP avec $r = 0,86$) (annexe 5 figure 1, 2). Ces résultats sont supérieurs à ceux d'**Ouchemoukh. (2012)** ($r = 0,68$), et inférieurs à ceux d'**Alvarez-Suarez et al. (2010)** ($r = 0,94$). La couleur est en corrélation avec la conductivité électrique avec un ($r = 0,84$), cette dernière est corrélée avec le pouvoir réducteur avec un ($r = 0,45$). (Annexe 5, figure 1, 2, 3).

Les composés phénoliques des échantillons de miel présentent une corrélation significative avec l'activité antioxydante (DPPH avec $r = 0,62$, FRAP avec $r = 0,6$). Ces

composés phénoliques sont aussi en corrélation avec la couleur avec un ($r=0,83$) (Annexe 6 figure 1, 2, 3). Ces résultats sont confirmés par **Beretta et al. (2005)**, qui ont démontrés un rapport positif entre la concentration phénolique, la capacité antioxydante et la couleur des miels mono et polyfloraux.

La corrélation positive entre la teneur en antioxydants et l'activité oxydante confirme la forte relation des polyphénols avec le potentiel antioxydant.

III.6-Analyse des composantes principales

Une analyse multivarié (analyse en composantes principales (ACP)) est effectuée sur les résultats des paramètres physico-chimiques, activité antioxydante, activité antibactérienne afin de vérifier si ces composants permettent de classer les miels.

D'après l'analyse de graphe de point factoriel, il existe 4 groupes, le premier groupe (couleur, humidité, HMF, protéine, FRAP, composés phénolique et conductivité électrique). Ces résultats sont confirmés par la matrice de corrélation qui a indiqué une corrélation significative (Annexe 3).

Le deuxième groupe (*E. Coli*, pH, proline, pouvoir réducteur), le troisième (*k. pneumonia*, DPPH, Brix). La matrice de corrélation a confirmé ces résultats.

Le dernier groupe montre une corrélation entre *S. Aureus*, ABTS, flavonoïdes, mais dans la matrice de corrélation en observe la corrélation significative qu'entre *S. Aureus* et ABTS.

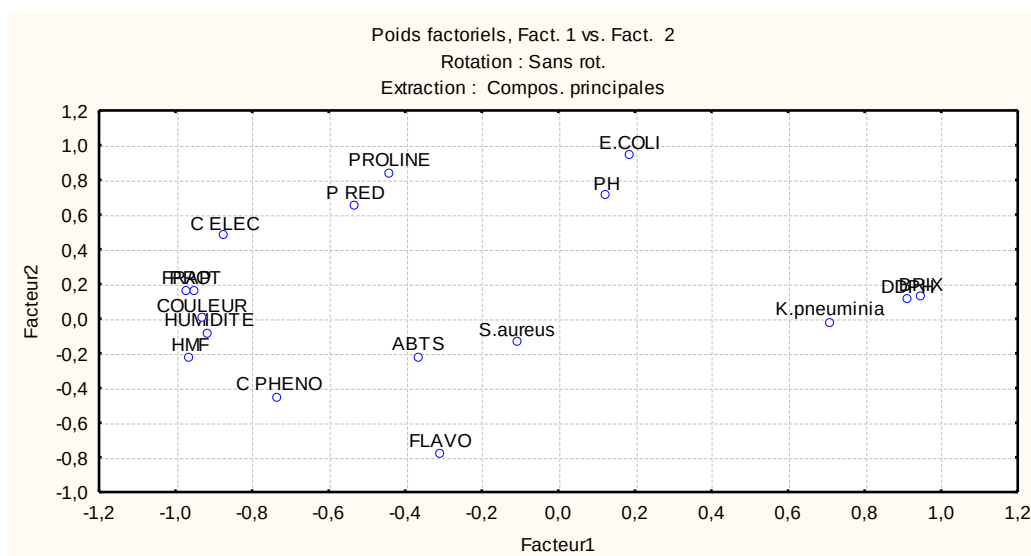


Figure 5 : analyse en composante principale des échantillons de miel.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le miel est un produit naturel extrêmement complexe, d'une richesse qualitative qui regroupe quelque deux cents substances différentes. Cela lui donne une place de tout premier plan dans l'alimentation et la gastronomie, mais aussi un rôle non négligeable en médecine curative ou préventive.

L'Algérie est constituée d'une multitude de reliefs d'où l'existence d'une importante diversité végétale et des conditions climatiques favorables pour les abeilles, ce qui lui donne l'avantage d'avoir un miel de bonne qualité et de différentes vertus soit nutritionnels ou thérapeutique.

Cette étude est élaborée afin de cerner les critères de qualité de cinq échantillons de miel, en se basant sur les résultats des analyses polliniques et quelques paramètres physico-chimique (teneur en eau, pH, couleur et conductivité électrique, etc.....) et des activités antioxydantes, antibactériennes.

Les résultats obtenus ont permis de connaître la composition pollinique des miels et les séparer en deux origines florales, un miel monofloral (M05) de la famille des Fabaceae) et quatre polyfloraux.

Les résultats physico-chimiques obtenus nous permettent de constater que nos miels s'accordent avec les normes établies par le codex alimentarius, et chacun des paramètres analysés contribue à une indication précise sur la qualité du miel. Elles dépendent de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche, les facteurs climatiques, l'origine botanique et l'espèce d'abeille.

Ceux qui déterminent la maturité (teneur en eau qui oscillent entre 13,97% et 23,01%), l'origine florale (conductivité électrique, pH une moyenne respectivement de 0,34 et 3,80, et la fraîcheur (HMF qui oscillent entre 28,84 et 117, 76 mg/kg. les valeurs obtenues du couleur des différents types de miel oscillent entre 0,25 et 0,96 dont le M1 est le plus clair et le M3 est plus foncé .En générale, la couleur et en corrélation avec l'activité antioxydantes.

Les miels analysés montrent des activités antioxydantes importantes. L'activité antiradicalaire des tests d'ABTS et DPPH varient entre 15,03 et 77,14 % et entre 30,15 et

74,52 % respectivement, le pouvoir réducteur et le test de FRAP montre des taux qui oscillent entre 13,50 et 39,35 mg EAG/100g et entre 21,73 et 201,47 mg EAG /100g.

Les résultats de l'activité antibactérienne nous ont permis de constater que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre.

Des études complémentaires peuvent être envisagées afin de

- Créer une banque de données numérisées des grains de pollens de miels Algériens
- Identifier et quantifier les oligosaccharides et réaliser des profils des minéraux des miels algériens.
- Evaluer l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des différentes maladies.
- Etudier d'autres propriétés des miels algériens (effets gastro-protecteur, anti-inflammatoire), ainsi que d'identifier les composés impliqués dans ces activités.

Résumé

Dans le but de déterminer les caractéristiques physico-chimiques du miel, les espèces végétales mellifères ainsi que les activités antioxydante et antibactérienne du miel naturel, une étude a été menée sur cinq échantillons du miel prélevés au hasard puis analysés. L'analyse des paramètres physico-chimiques du miel étudié, montre une teneur en eau de $16,81 \pm 0,87 \%$, un pH acide de $3,80 \pm 0,04$, une conductivité électrique de $0,34 \pm 0,01 \text{ mS/Cm}$, une couleur de $0,72 \pm 0,14$, des valeurs d'HMF et de proline de $59,02 \pm 1,68$ et $901,28 \pm 52,07$ respectivement. Ces résultats s'accordent avec les normes établies par le Codex Alimentarius. La méliissopalynologie a permis de séparer les miels en deux origines florales ; (M05) monoflorale de la famille des Fabaceae, (M01), (M02), (M03) et (M04) polyfloraux. L'activité antioxydante est déterminée par différentes méthodes d'analyses (ABTS, FRAP, DPPH, pouvoir réducteur), les résultats obtenus sont en corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux avec des coefficients de corrélation de $r=0,62$ pour le DPPH, $r=0,6$ pour FRAP, ainsi que d'autres corrélations ont été observées avec d'autres paramètres physico-chimiques (couleur, protéine, CE, HMF). L'activité antibactérienne est testée sur trois souches bactériennes (*E. Coli*, *S. aureus* et *K. Pneumonia*) par deux méthodes, les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne avec des différences d'un échantillon à un autre et d'une souche bactérienne à une autre.

Mots clés : miel, paramètres physico-chimiques, analyse pollinique, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

In order to determine the physicochemical characteristics of honey, vegetal melliferous species, as well as antioxidant and antibacterial activities of natural honey, a study was taken randomly on five samples of honey then analyzed. The analyses of the physicochemical parameters of honey studied showed a water content of $16,81 \pm 0,87 \%$, an acid pH of $3,80 \pm 0,04$, an electric conductivity of $0,34 \pm 0,01 \text{ mS/cm}$, a color of $0,72 \pm 0,14$, and values of HMF and proline of $59,02 \pm 1,68$ and $901,28 \pm 52,07$ respectively. These results agree with the standards established by the Alimentarius Codex. The melissopalynology allowed separating honey in two floral origins, (M05) monofloral of the family of Fabaceae, (M01), (M02), (M03) and (M04) polyflorals. The antioxidant activity is determined by different methods (ABTS, FRAP, DPPH, reduction), the obtained results are in correlation with the total phenolic contents with coefficients of correlation of $r=0,62$ for the DPPH, $r=0,6$ FRAP. As well as other correlations were observed with other physicochemical parameters (color, protein, EC, HMF). The antibacterial activity was tested against three bacterial strains (*E. coli*, *S. aureus* and *K. Pneumonia*) by two methods, and the results obtained clearly showed the impact of natural honey upon microbial sensitivity with differences from sample to another and from bacterial strains to another.

Key words: honey, physicochemical parameters, analyzes pollinic, antioxidant activity, and antibacterial activity.

Table de CHATAWAY

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g
1.5044	13.0	1.4880	19.4
1.5038	13.2	1.4875	19.6
1.5033	13.4	1.4870	19.8
1.5028	13.6	1.4865	20.0
1.5023	13.8	1.4860	20.2
1.5018	14.0	1.4855	20.4
1.5012	14.2	1.4850	20.6
1.5007	14.4	1.4845	20.8
1.5002	14.6	1.4840	21.0
1.4997	14.8	1.4835	21.2
1.4992	15.0	1.4830	21.4
1.4987	15.2	1.4825	21.6
1.4982	15.4	1.4820	21.8
1.4976	15.6	1.4815	22.0
1.4971	15.8	1.4810	22.2
1.4966	16.0	1.4805	22.4
1.4961	16.2	1.4800	22.6
1.4956	16.4	1.4795	22.8
1.4951	16.6	1.4790	23.0
1.4946	16.8	1.4785	23.2
1.4940	17.0	1.4780	23.4
1.4935	17.2	1.4775	23.6
1.4930	17.4	1.4770	23.8
1.4925	17.6	1.4765	24.0
1.4920	17.8	1.4760	24.2
1.4915	18.0	1.4755	24.4
1.4910	18.2	1.4750	24.6
1.4905	18.4	1.4745	24.8
1.4900	18.6	1.4740	25.0
1.4895	18.8		
1.4890	19.0		
1.4885	19.2		

Courbes d'étalonnages

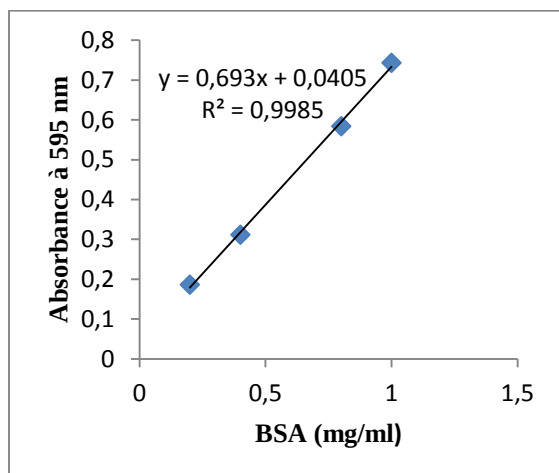


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines

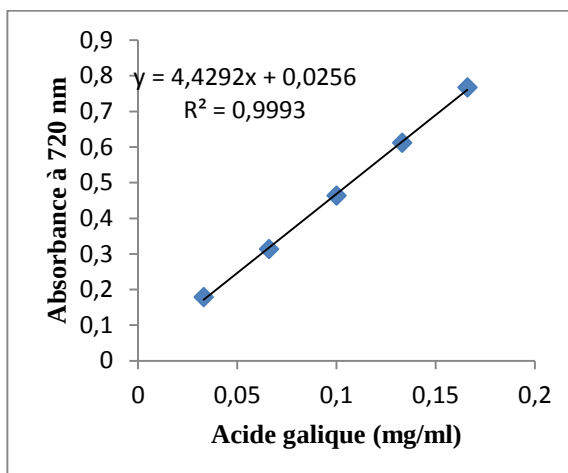


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des phénols totaux

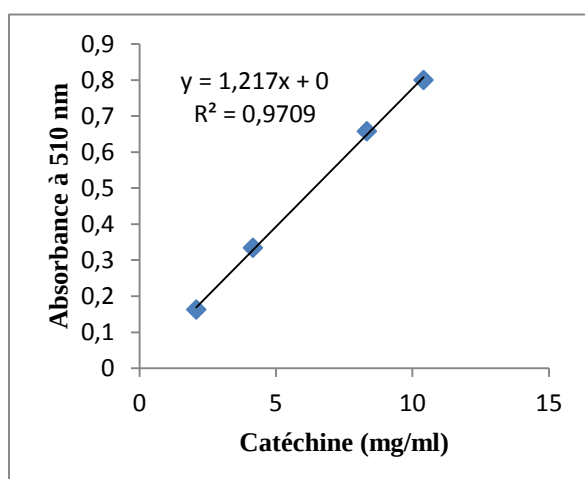


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

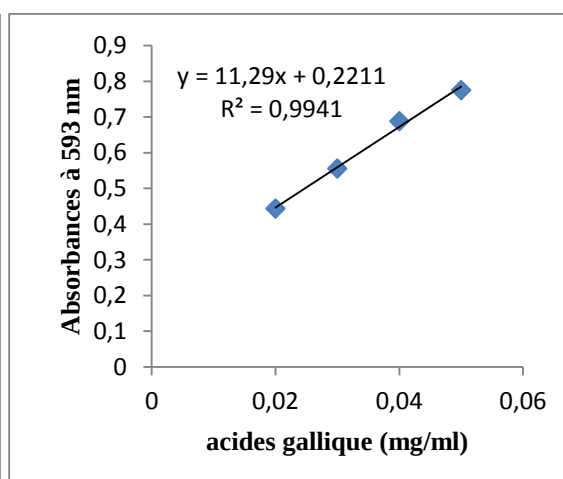


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de test de FRAP

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

	Corrélations (Feuille.sta) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=15 (Observations à VM ignorées)																
Variable	HUMIDITE	BRIX	C ELEC	PROT	DDPH	ABTS	C PHENO	FLAVO	FRAP	PROLINE	P RED	HMF	PH	COULEUR	E COLI	S.aureus	K.pneumonia
HUMIDITE	1,00	-0,96	0,72	0,86	-0,95	0,02	0,70	0,36	0,92	0,36	0,27	0,85	-0,04	0,79	-0,32	-0,01	-0,56
BRIX	-0,96	1,00	-0,75	-0,87	0,96	-0,12	-0,78	-0,37	-0,93	-0,35	-0,29	-0,90	0,13	-0,85	0,33	0,04	0,62
C ELEC	0,72	-0,75	1,00	0,89	-0,71	0,28	0,45	-0,13	0,91	0,78	0,78	0,74	0,15	0,84	0,31	-0,00	-0,60
PROT	0,86	-0,87	0,89	1,00	-0,91	0,34	0,50	0,28	0,97	0,48	0,68	0,87	0,14	0,81	-0,08	0,18	-0,62
DDPH	-0,95	0,96	-0,71	-0,91	1,00	-0,11	-0,62	-0,44	-0,93	-0,27	-0,35	-0,86	-0,04	-0,75	0,37	-0,04	0,54
ABTS	0,02	-0,12	0,28	0,34	-0,11	1,00	0,27	0,33	0,21	-0,13	0,49	0,52	-0,43	0,43	-0,14	0,55	-0,39
C PHENO	0,70	-0,78	0,45	0,50	-0,62	0,27	1,00	0,35	0,60	0,07	-0,08	0,81	-0,71	0,83	-0,46	-0,15	-0,50
FLAVO	0,36	-0,37	-0,13	0,28	-0,44	0,33	0,35	1,00	0,23	-0,60	-0,20	0,46	-0,30	0,15	-0,86	0,40	-0,15
FRAP	0,92	-0,93	0,91	0,97	-0,93	0,21	0,60	0,23	1,00	0,55	0,58	0,88	0,08	0,87	-0,07	0,04	-0,60
PROLINE	0,36	-0,35	0,78	0,48	-0,27	-0,13	0,07	-0,60	0,55	1,00	0,66	0,22	0,41	0,48	0,75	-0,18	-0,31
P RED	0,27	-0,29	0,78	0,68	-0,35	0,49	-0,08	-0,20	0,58	0,66	1,00	0,41	0,43	0,46	0,53	0,34	-0,46
HMF	0,85	-0,90	0,74	0,87	-0,86	0,52	0,81	0,46	0,88	0,22	0,41	1,00	-0,34	0,93	-0,37	0,16	-0,67
PH	-0,04	0,13	0,15	0,14	-0,04	-0,43	-0,71	-0,30	0,08	0,41	0,43	-0,34	1,00	-0,36	0,50	0,07	0,13
COULEUR	0,79	-0,85	0,84	0,81	-0,75	0,43	0,83	0,15	0,87	0,48	0,46	0,93	-0,36	1,00	-0,08	-0,01	-0,63
E.COLI	-0,32	0,33	0,31	-0,08	0,37	-0,14	-0,46	-0,86	-0,07	0,75	0,53	-0,37	0,50	-0,08	1,00	-0,16	0,09
S.aureus	-0,01	0,04	-0,00	0,18	-0,04	0,55	-0,15	0,40	0,04	-0,18	0,34	0,16	0,07	-0,01	-0,16	1,00	-0,21
K.pneumonia	-0,56	0,62	-0,60	-0,62	0,54	-0,39	-0,50	-0,15	-0,60	-0,31	-0,46	-0,67	0,13	-0,63	0,09	-0,21	1,00

	Corrélations (Feuille sta) Corrélations significatives marquées à p < ,01000 N=15 (Observations à VM ignorées)																
Variable	HUMIDITE	BRIX	C ELEC	PROT	DDPH	ABTS	C PHENO	FLAVO	FRAP	PROLINE	P RED	HMF	PH	COULEUR	E COLI	S aureus	K pneumonia
HUMIDITE	1,00	-0,96	0,72	0,86	-0,95	0,02	0,70	0,36	0,92	0,36	0,27	0,85	-0,04	0,79	-0,32	-0,01	-0,56
BRIX	-0,96	1,00	-0,75	-0,87	0,96	-0,12	-0,78	-0,37	-0,93	-0,35	-0,29	-0,90	0,13	-0,85	0,33	0,04	0,62
C ELEC	0,72	-0,75	1,00	0,89	-0,71	0,28	0,45	-0,13	0,91	0,78	0,78	0,74	0,15	0,84	0,31	-0,00	-0,60
PROT	0,86	-0,87	0,89	1,00	-0,91	0,34	0,50	0,28	0,97	0,48	0,68	0,87	0,14	0,81	-0,08	0,18	-0,62
DDPH	-0,95	0,96	-0,71	-0,91	1,00	-0,11	-0,62	-0,44	-0,93	-0,27	-0,35	-0,86	-0,04	-0,75	0,37	-0,04	0,54
ABTS	0,02	-0,12	0,28	0,34	-0,11	1,00	0,27	0,33	0,21	-0,13	0,49	0,52	-0,43	0,43	-0,14	0,55	-0,39
C PHENO	0,70	-0,78	0,45	0,50	-0,62	0,27	1,00	0,35	0,60	0,07	-0,08	0,81	-0,71	0,83	-0,46	-0,15	-0,50
FLAVO	0,36	-0,37	-0,13	0,28	-0,44	0,33	0,35	1,00	0,23	-0,60	-0,20	0,46	-0,30	0,15	-0,86	0,40	-0,15
FRAP	0,92	-0,93	0,91	0,97	-0,93	0,21	0,60	0,23	1,00	0,55	0,58	0,88	0,08	0,87	-0,07	0,04	-0,60
PROLINE	0,36	-0,35	0,78	0,48	-0,27	-0,13	0,07	-0,60	0,55	1,00	0,66	0,22	0,41	0,48	0,75	-0,18	-0,31
P RED	0,27	-0,29	0,78	0,68	-0,35	0,49	-0,08	-0,20	0,58	0,66	1,00	0,41	0,43	0,46	0,53	0,34	-0,46
HMF	0,85	-0,90	0,74	0,87	-0,86	0,52	0,81	0,46	0,88	0,22	0,41	1,00	-0,34	0,93	-0,37	0,16	-0,67
PH	-0,04	0,13	0,15	0,14	-0,04	-0,43	-0,71	-0,30	0,08	0,41	0,43	-0,34	1,00	-0,36	0,50	0,07	0,13
COULEUR	0,79	-0,85	0,84	0,81	-0,75	0,43	0,83	0,15	0,87	0,48	0,46	0,93	-0,36	1,00	-0,08	-0,01	-0,63
E COLI	-0,32	0,33	0,31	-0,08	0,37	-0,14	-0,46	-0,86	-0,07	0,75	0,53	-0,37	0,50	-0,08	1,00	-0,16	0,09
S.aureus	-0,01	0,04	-0,00	0,18	-0,04	0,55	-0,15	0,40	0,04	-0,18	0,34	0,16	0,07	-0,01	-0,16	1,00	-0,21
K.pneumonia	-0,56	0,62	-0,60	-0,62	0,54	-0,39	-0,50	-0,15	-0,60	-0,31	-0,46	-0,67	0,13	-0,63	0,09	-0,21	1,00

	Corrélations (Feuille.sta) Corrélations significatives marquées à p < ,00100 N=15 (Observations à VM ignorées)																
Variable	HUMIDITE	BRIX	C.ELEC	PROT	DDPH	ABTS	C.PHENO	FLAVO	FRAP	PROLINE	P.RED	HMF	PH	COULEUR	E.COLI	S.aureus	K.pneumonia
HUMIDITE	1,00	-0,96	0,72	0,86	-0,95	0,02	0,70	0,36	0,92	0,36	0,27	0,85	-0,04	0,79	-0,32	-0,01	-0,56
BRIX	-0,96	1,00	-0,75	-0,87	0,96	-0,12	-0,78	-0,37	-0,93	-0,35	-0,29	-0,90	0,13	-0,85	0,33	0,04	0,62
C.ELEC	0,72	-0,75	1,00	0,89	-0,71	0,28	0,45	-0,13	0,91	0,78	0,78	0,74	0,15	0,84	0,31	-0,00	-0,60
PROT	0,86	-0,87	0,89	1,00	-0,91	0,34	0,50	0,28	0,97	0,48	0,68	0,87	0,14	0,81	-0,08	0,18	-0,62
DDPH	-0,95	0,96	-0,71	-0,91	1,00	-0,11	-0,62	-0,44	-0,93	-0,27	-0,35	-0,86	-0,04	-0,75	0,37	-0,04	0,54
ABTS	0,02	-0,12	0,28	0,34	-0,11	1,00	0,27	0,33	0,21	-0,13	0,49	0,52	-0,43	0,43	-0,14	0,55	-0,39
C.PHENO	0,70	-0,78	0,45	0,50	-0,62	0,27	1,00	0,35	0,60	0,07	-0,08	0,81	-0,71	0,83	-0,46	-0,15	-0,50
FLAVO	0,36	-0,37	-0,13	0,28	-0,44	0,33	0,35	1,00	0,23	-0,60	-0,20	0,46	-0,30	0,15	-0,86	0,40	-0,15
FRAP	0,92	-0,93	0,91	0,97	-0,93	0,21	0,60	0,23	1,00	0,55	0,58	0,88	0,08	0,87	-0,07	0,04	-0,60
PROLINE	0,36	-0,35	0,78	0,48	-0,27	-0,13	0,07	-0,60	0,55	1,00	0,66	0,22	0,41	0,48	0,75	-0,18	-0,31
P.RED	0,27	-0,29	0,78	0,68	-0,35	0,49	-0,08	-0,20	0,58	0,66	1,00	0,41	0,43	0,46	0,53	0,34	-0,46
HMF	0,85	-0,90	0,74	0,87	-0,86	0,52	0,81	0,46	0,88	0,22	0,41	1,00	-0,34	0,93	-0,37	0,16	-0,67
PH	-0,04	0,13	0,15	0,14	-0,04	-0,43	-0,71	-0,30	0,08	0,41	0,43	-0,34	1,00	-0,36	0,50	0,07	0,13
COULEUR	0,79	-0,85	0,84	0,81	-0,75	0,43	0,83	0,15	0,87	0,48	0,46	0,93	-0,36	1,00	-0,08	-0,01	-0,63
E.COLI	-0,32	0,33	0,31	-0,08	0,37	-0,14	-0,46	-0,86	-0,07	0,75	0,53	-0,37	0,50	-0,08	1,00	-0,16	0,09
S.aureus	-0,01	0,04	-0,00	0,18	-0,04	0,55	-0,15	0,40	0,04	-0,18	0,34	0,16	0,07	-0,01	-0,16	1,00	-0,21
K.pneumonia	-0,56	0,62	-0,60	-0,62	0,54	-0,39	-0,50	-0,15	-0,60	-0,31	-0,46	-0,67	0,13	-0,63	0,09	-0,21	1,00

Corrélations paramètres physico-chimiques et activités antioxydantes

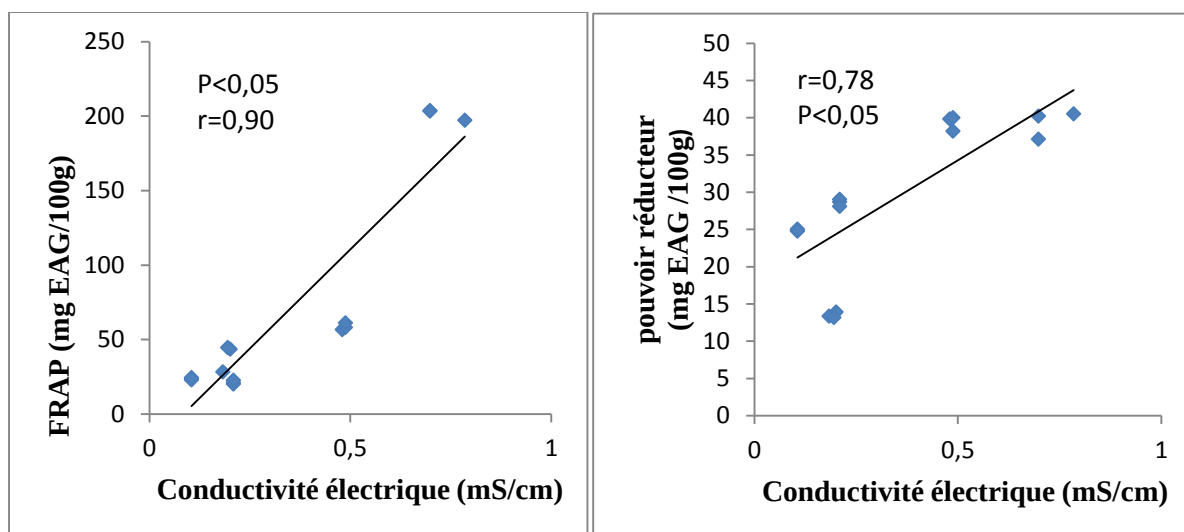


Figure 1 : Corrélacion entre conductivité électrique FRAP

Figure 2 : Corrélacion entre conductivité électrique pouvoir réducteur

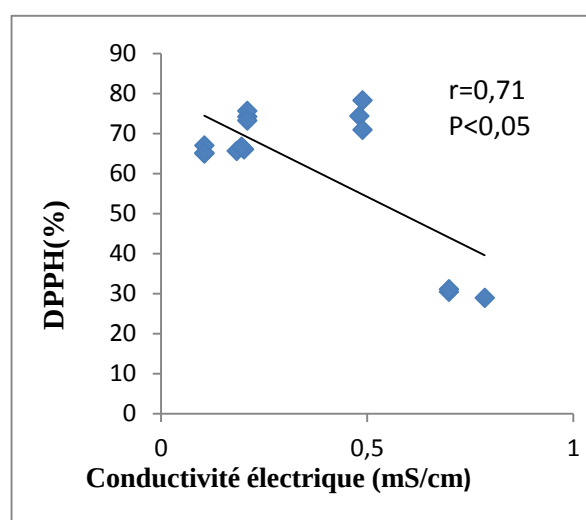


Figure 3 : Corrélacion entre conductivité électrique DPPH

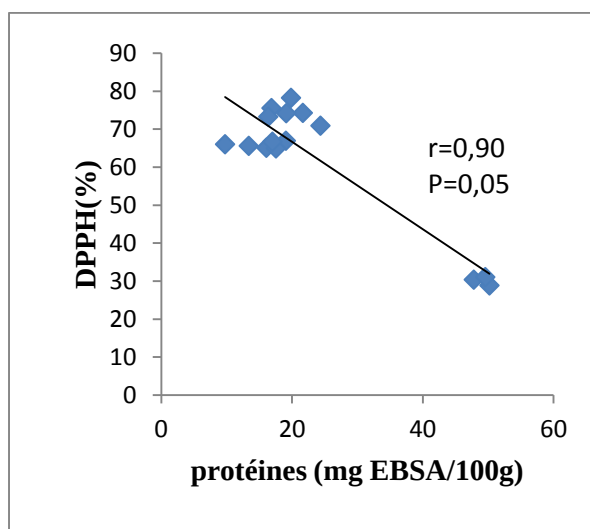


Figure 4 : Corrélation entre protéines et DPPH

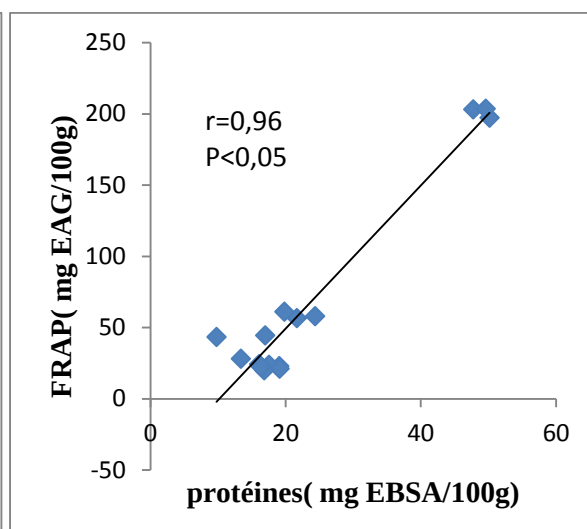


Figure 5 : Corrélation entre protéines et FRAP

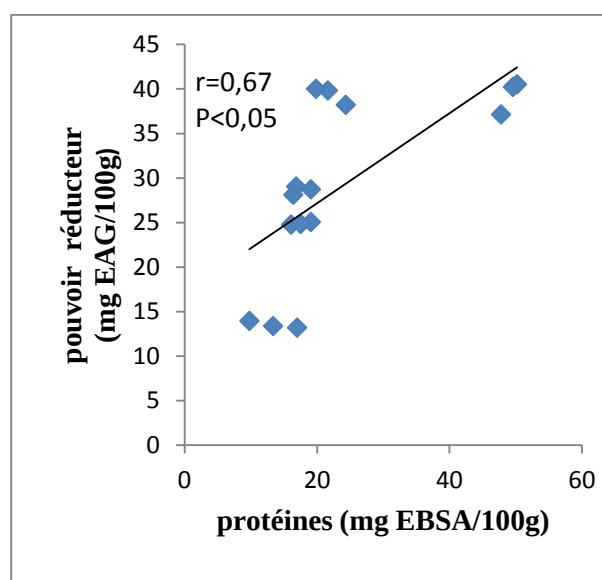


Figure 6 : Corrélation entre protéines et pouvoir réducteur

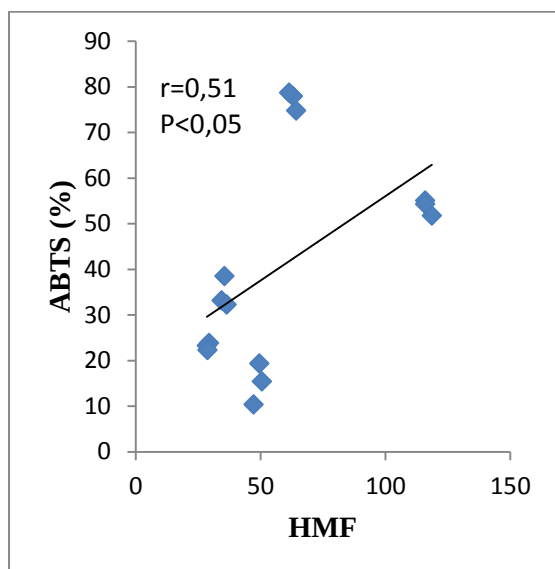


Figure 7 : Corrélation entre HMF et ABTS

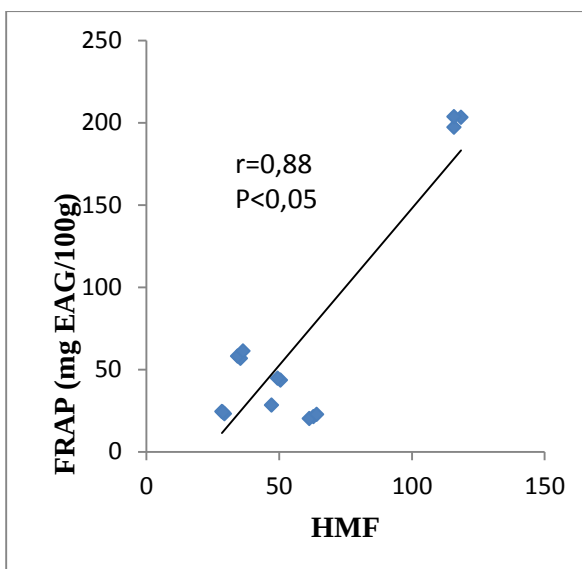


Figure 8 : Corrélation entre HMF et FRAP

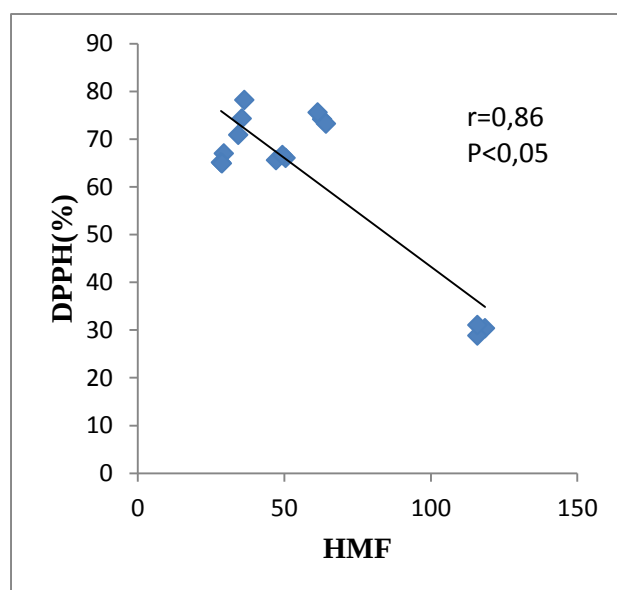
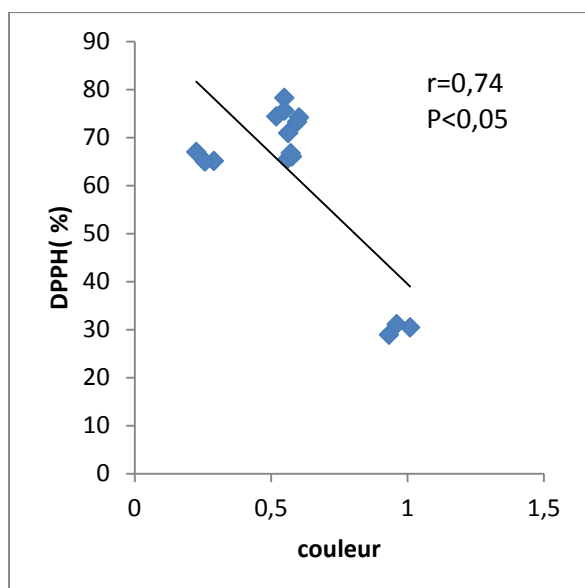
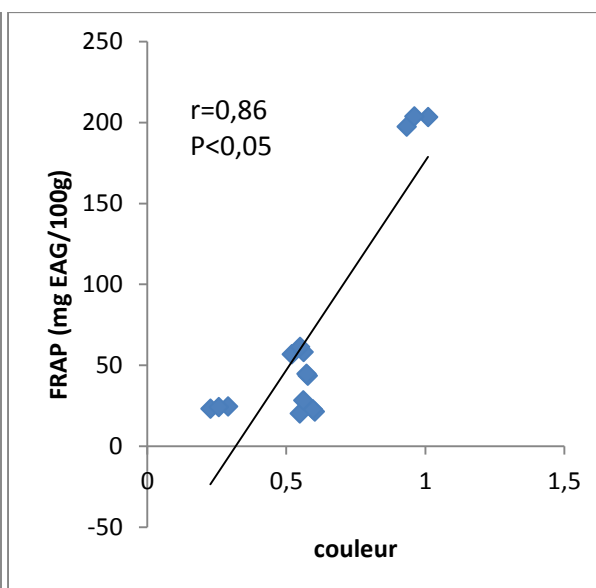
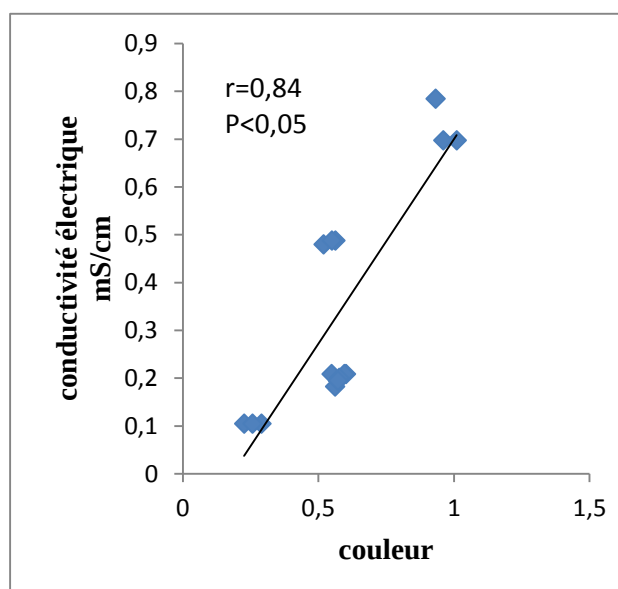


Figure 9 : Corrélation entre HMF et DPPH

Corrélation couleur et paramètres physico-chimiques, activité antioxydantes**Figure1** : Corrélation entre couleur et DPPH**Figure 2** : Corrélation entre couleur et FRAP**Figure 3** : Corrélation entre couleur et conductivité électrique

Corrélations antioxydants et activités antioxydants

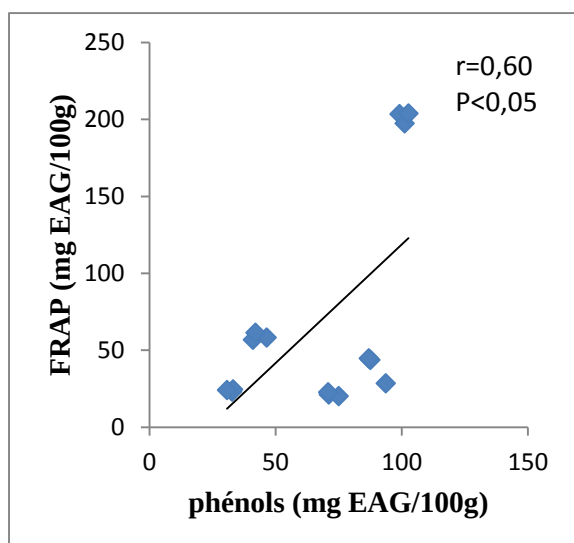
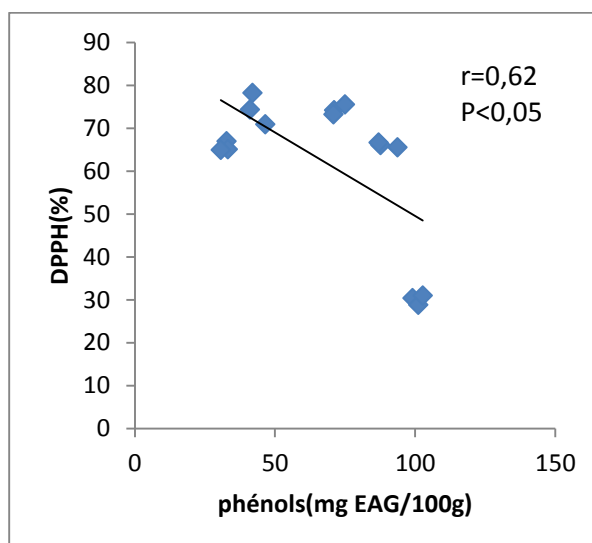
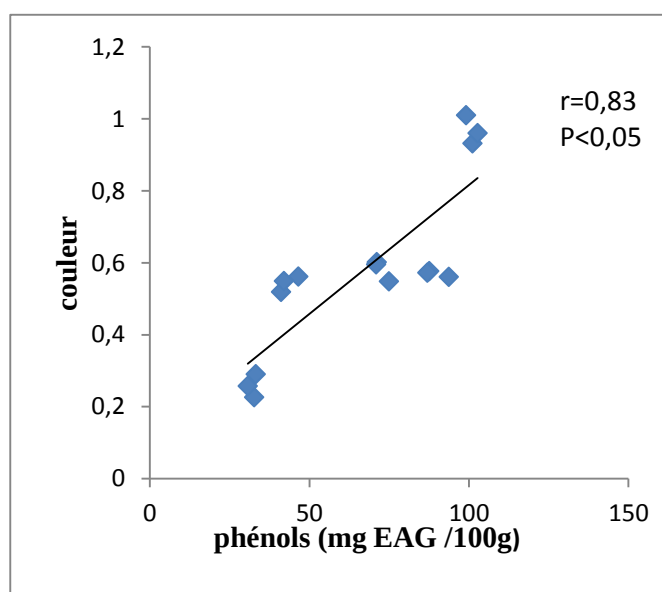
*Figure 1* : Corrélation entre phénols et FRAP*Figure 2* : Corrélation entre phénols et DPPH*Figure 3* : Corrélation entre phénols et couleur

Tableau VI : séries de dilution de gradient 2 de chaque solution de miel.

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

a-composition de la gélose à base de Muller-Hinton

La gélose de Muller-Hinton (19g de la gélose dissoute dans 500ml d'eau distillé chauffée et mélangée pendant 20 min sur une plaque agitatrice) riche en extrait de viande, amidon et l'agar, la MH a une meilleur diffusion et beaucoup plus rapide comparant à la gélose nutritive.



Figure 1 : les microplaques utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des miels analysés.

Réactifs et solutions utilisés dans les analyses du miel

Réactif	Protocole
Bradford	-0,05g de bleu de comassi -25ml de l'éthanol -50ml de H ₃ PO ₄ -l'eau distillé pour avoir une quantité de 500ml
Solution de FRAP	-300Mm d'acétate de sodium -10Mm de 2TPTZ dans 400 Mm de Hcl -20Mm de Fecl ₃

ANNEXES

A

- ✚ **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: 863-867.
- ✚ **Al-Habsi, N.A., Niranjan, K. (2012).** Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of manuka honey. *Food chemistry* 135:1448-1454.
- ✚ **Al-Khalifa, A.S. et Al-Arify, I.A. (1999).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry*, 67(1): 21-25.
- ✚ **Al-mamary, M., Al-meery, A. et Alhabori, M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22:1041-1047.
- ✚ **Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M. et Tacchini, M. (1989).** les composés phénoliques : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par famille .*apidologie*, 20(2) : 115-125.
- ✚ **Amr, E., Edris, Murkovic, M., Siegmund, B. (2007).** Application of headspace-solid-phase microextraction and HPLC for the analysis of the aroma volatile components of treacle and determination of its content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF).*science direct food chemistry* 104, 1310-1314.
- ✚ **Antony, S.M., Han, I.Y., Rieck, J.R. et Dawson, P.L. (2000).** Antioxidative effect of Maillard reaction products formed from honey at different reaction times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3985-3989.
- ✚ **Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. et Battino, M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- ✚ **Alvarez, L.M. (2010).** Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, P 93.

B

- ✚ **Badawy, O., Shasi, S., Tharwat, E. et Kamal, M. (2004).** Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. *Rcv. sci. tech. off.int. epiz.* 23(3): 1011-1022 P 1018.

- ✚ **Baltrusaityte, V., venskutonis, P.R., ceksteryte, V. (2007).** Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts Original Research article *.food chemistry*, volume 101, issue 2, 2007, P 502-514.
- ✚ **Bath, P.K. et Singh, N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey *.food chemistry*, 67:389-397.
- ✚ **Belhaj, O., Oumato, J. et Zrira, S. (2015).** Etude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Marocan science Agronomy and Veterinary*, 3(3) :71-75.
- ✚ **Benaziza-Bouchema, D., Schweitzer, P. (2010).** Caractérisation des principaux miels des region du Nord de l'Algérie *.Cah Agric*, vol.19, N°6.
- ✚ **Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. et Facino, R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 553: 185-191.
- ✚ **Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. et Golob, T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105 (2): 822-828.
- ✚ **Bogdanov, S. (1997).** Antibacterial substances in honey. *Swiss Bee Research Centre*, P 10.
- ✚ **Bogdanov, S. (1999).** Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 90 : 108-125 .
- ✚ **Bogdanov, S., Ruoff, K. Et Persano, O.L. (2004).** Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys. A review. *Apidologie*, 35, 4–17.
- ✚ **Bousetta, A., Collin, S. et Dufour, J.P. (1992).** Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic headspace GC-MS system. *Journal of Apicultural Research*, 31(2): 96-109.
- ✚ **Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Wendt Bohmer, B., Chaves, F.C., Da silva, W., Zanusso, J.T. et Dutra, I. (2016).** Antibacterial and antioxidant activity of honey from the state of Rio Grande do sul, Brazil. *LWT-Food science and Technology*, 65:333-340.
- ✚ **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

- ✚ **Brudzynski, K., Abubaker, K. et Miotto, D. (2012).** Unraveling a mechanism of honey antibacterial action: polyphenol/H₂O₂-induced oxidative effect on bacterial cell growth and on DNA degradation. *Food chemistry*, 133:329-336.

C

- ✚ **Carvalho, C.A. (2009).** Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process. *Anais de academia Brasileira de Ciências*, v.81, N°1, P143-149.
- ✚ **Chefrour, A., Draiaia, R., Tahar, A., Ait Kaki, Y., Bennadja, S., Et Battesti, M.J. (2009).** Physicochemical Characteristics and Pollen Spectrum of Some Northeast Algerian Honeys. *Vol 9 N° 5. ISSN : 1584-5374*.
- ✚ **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015).** Methods for Dilution antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: approved Standards-10th Edition document M07-A10.
- ✚ **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015).** Performance Standards for antimicrobial Disk Susceptibility Tests: approved Standards-12th Edition document M02-A12.
- ✚ **Codex Alimentarius commission (2001).** Codex standard 12, *Revised Codex Standard for honey* : 1-7.
- ✚ **Commission Européenne. (2002).** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10, 47-52. 38.
- ✚ **Cortopassi-Laurino, M. et Gelli, D.S. (1991).** Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil. *Apidologie*, 22, 61-73.
- ✚ **Couquet, Y., Desmolière, A. et Rigal, M.L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 22-25.

D

- ✚ **De-Rodriguez, G.P., Ferrer, B.S., Ferrer, et Rodriguez, B. (2004).** Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84: 599-502.
- ✚ **Desmoulière, A. (2013).** Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes. *Actualités pharmaceutiques*, 531: 17.
- ✚ **Desmoulière, A. et Bonté, A. (2013).** Le miel, quel intérêt en cicatrisation. Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes. *Actualités pharmaceutiques*, N° 531.

- + **Doukani, k., Tabak, S., Derriche, A. et Hacini, Z. (2014).** Etude physico-chimique et phytochimique de quelques types de miels algériens. *Ecologie-environnement*, 10 :1112-5888.
- + **Downey, G., Hussey, K., kelly, J.D., Walshe, T.F. et Martin, P.G. (2005).** Preliminary contribution to the characteristion of artisanal honey produced on the island of ireland by palynological and physic-chemical data .*food chemistry*, 91:347-354.

F

- + **Fallico, B., Zappala, M., Arena, E. et Verzera, A. (2004).** Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food chemistry*, 85:305-313.
- + **Flores, M.R., Escuredo, O. et Seijo, M. C. (2015).** Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of quercus pyrenaica honeydew honeys. *Food Chemistry*, 166: 101-106.

H

- + **Hermosin, I., Chicon, R.M., et Cabezudo, M.D. (2003).** Free amino-acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83: 263-268.
- + **Hoyet, C. (2005).** Le miel : de la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, pharmacie, Université Henripoincaré-Nancy-I, P.87.

I

- + **Ibrahim khalil, M.D., Moniruzzaman, M., Boukraa, L., Benhanifia ., Asiful, I., Nazmul, I., Sulaiman, S.A. et Huagan, S. (2012).** Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Journal molecules*, 17: 11199-11215.
- + **Irlande, D. (2010).** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées.1-25.
- + **Islam, A., khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A. et Gam, S.H. (2012).** Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year.*BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12:177.

K

- + **Karabournioti, S., Zervalaki, P. (2001).** les effets du chauffage sur le HMF et l'invertase des miels. *Apiacta*,36 (4).
- + **Kašonienė, V., Venskutonis, P.R., Čeksterytė, V. (2010).** Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honys from Lithuania *LWT Food Science and Technology*, Volume 43, Issue 5, June 2010, P 801-807.

- + **Kishore, R.K., Sukari Halim, A., Nurul Syazan, M.S. et Sirajudeen, K. (2011).** Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition Research*, 31: 322-325.
- + **Küçük, M., Kolaylı, S., Karaolu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C. et Candan, F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types of Anatolia. *Food Chemistry*, 100:526-534.

L

- + **Laaidi, K., Laaidi, M. et Besancenot, J.-P. (1997).** Pollens, pollinoses et météorologie. *Météorologie* 20: 41-56.
- + **Li, C., et Lin, E. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction method of Areca catechu seed. *African journal of biotechnology* Vol.9 (46), P7831-7836.
- + **Loubreau-Callen, D., Clement, M.C. et Marmion, V. (1999).** Les miels in « techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire ». P 1-20.
- + **Louveaux, J., Maurizio, A. et Vorwohl, G. (1978).** Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59: 139-157.

M

- + **Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli D'albore, G., Choukri, A., Samra, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physicochemical methods. *Apidologie* 41:509-521.
- + **Malika, N., Faïd, M. et El Adlouni, C. (2005).** Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal of Agriculture & Biology*, Vol. 7, N°5, 773–776.
- + **Mateo, R., Bosch-Reig, F. (1998).** Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis analysis of electricconductivity, color, water content, sugar and pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2): 393–400.
- + **Mandal, D.M., Mandal, S. (2011).** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(2): 154-160.
- + **Meda, A., Lamien, C.E., Marco, R. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol.91,N°3,P.571-577.

- ✚ **Missio da silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C. et Fett, R. (2016).** Honey chemical composition, stability and authenticity *.food chemistry*, 196:309-323.*cultural and food chemistry* 46:393-400.
- ✚ **Molan, P.C. Et Russel, K. (1988).** Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *Journal of Apicultural Research*, 27(1), 62-67.
- ✚ **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity songklanakarin.*journal of science technology*,26(2):211-219.
- ✚ **Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. et Gan, S.H. (2013).** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysain honeys :a comparison with mauka honey.*Chemistry central journal* ,7:138.
- ✚ **Morse, R., Lisk, D.J. (1980).** Elemental analysis of honeys from several nations. *Am.Bee.J.*522-523.

N

- ✚ **Nanda, V., sarkar, B.C., Sharma, H.k. et Bawa, A.S. (2003).** Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in northern india, *journal of food composition and analysis*, 16:613-619.
- ✚ **Naithani, V., Nair, S. et Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxydant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation phenolic content. *Food Research International*, 39: 176-181.

O

- ✚ **Ouchemoukh, S., Louaileche, H. et schweitzer, P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some algrian honeys.*food chemistry* ,18:52-58.
- ✚ **Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miel algériens. Thèse doctorat, Biochimie. Université abderrahmane Mira de béjaia, pp 162 .

P

- ✚ **Pesenti, M.E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J., Tegoni, M., Cambillau, C. (2008).** Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change *.Journal of Molecular Biology*, Volume 380, issu 1 ,P :158-169 .
- ✚ **Piazza, M.G., Accorti, M., Persano, O.L. (1991).** Electrial conductivity, ash, color and Specific rotatory power in Italian unifoloral honeys *.Apicoltura*; 7:51-63.

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

R

- ✚ **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. Et Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- ✚ **Rossant, A., et desmoulier. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. thèse de doctorat .pharmacie .limoges .université de limoges. P 39-40.

S

- ✚ **Salwa, H.A. et Maher, A. (2014).** Antibacterial Potential and Physicochemical Properties. *Global Advanced Research Journal*, 3 (3) : 049-058.
- ✚ **Sanz, M.L., Gonzalez, M., De Lorenzo, C., Sanz, J. et Martinez-Castro, I. (2005).** A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey *food chemistry*, 91:313-317.
- ✚ **Serrano, S., Villarejo, M., Espejo, R., Jordal, M. L. (2007).** Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *Int.J.Food Sci. Technol.* 42: 76-79.
- ✚ **Mandal, S., Mandal, M., Pal, N.K., Taormina, S. k., Niemira B.A., Beuchat, L.R. (2001).** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int J Food Microbiol*; 69: 217-225.
- ✚ **Silici, S., Sagdic, O. et Ekici, L. (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, 121: 238-243.
- ✚ **Silva, L.R., Videira, R., Monteiro, A.P., Valentao, P. et Andrade, P.B. (2009).** Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral content. *Microchemical journal*, 93: 73-77.
- ✚ **Sultanbawa, Y., Cozzolino, D., Fuller, S., Cusack, A., Currie, M. et Smyth, H. (2015).** Infrared spectroscopy as a rapid tool to detect methylglyoxal and antibacterial activity in Australian honeys. *Food Chemistry*, 172: 207-212.

T

- ✚ **Terrab, A., Diez, M.J. et Heredia, F.J. (2002).** Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79, 373–379.
- ✚ **Thrasyvoulou, A., Mankis, J. (1995).** Some physico-chemical and microscopic characteristics of Greek honeys. *Apidologie*. 26:441-452.
- ✚ **Taormina, P.J., Niemira B.A. et Beuchat, L.R. (2010).** Inhibitory activity of honey against food-borne pathogens influenced by presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International of food Microbiology*, 69: 217-225.
- ✚ **Terrab, A. et Heredia, F.J. (2004).** Characterization of avocado (*Persea americana* mill) honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 88: 537–542.

V

- ✚ **Vanhanen, L.P., Emmertz, A., Savage G. P. (2011).** Mineral analysis of monofloral New Zealand honey. *Food Chemistry*, Volume 128, Issue 1, P 236-240.

W

- ✚ **Wilczynska, A. (2014).** Effect of filtration on color, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT- food Science and technology*, 57:767-774.

Y

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

Z

- ✚ **Zerrouk, H.S., Fallico, B.G., Arena, E.A., Gabriele, F.B. et Larbi, A.B. (2011)** .Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, Vol. 4, N°. 4, 243-248.
- ✚ **Google earth, (2017).** <https://earth.google.com/web/>

*REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE*