

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE
LA VIE



DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES
ET AGROECOLOGIE



Laboratoire de Recherche sur les Plantes
Aromatiques et Médicinales

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

En Sciences de la Nature et de la vie

Option : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Caractérisation et activité antimicrobienne de quelques miels
originaires de la région centre algérienne.

Présenté par :

Melle AYAT DOUNIA

Mme BOUABDALLAH SAMIA

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Ayadi R	MCA	univ. Blida1
Promotrice :	Mme Allal L	Pr	univ. Blida1
Co promotrice :	Mme Ben amor S.	Doctorante	univ. Blida1
Exanimatrice :	Mme Kadri F.	MCA	univ. Blida1

Année universitaire : 2020/2021

Sommaire

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Résumés

Introduction..... 02

Chapitre I : Données générales

I.L'Apiculture..... 04

 I.1.L'abeille..... 04

 I.1.1. Systématique..... 04

 I.1.2. Morphologie de l'abeille..... 06

 I.1.3. Les castes d'abeille.....08

 I.1.4. Fabrication du miel par les abeilles.....09

II. Définition du miel..... 10

III. Types de miel..... 10

 III.1. Les miels monofloraux..... 11

 III.2. Les miels polyfloraux..... 11

IV. Classification du miel..... 11

 IV.1. Miel de fleur (nectar)..... 11

 IV.2. Miel de miellat..... 11

 IV.3 Autres origines du miel.....12

V. La composition chimique du miel..... 12

 V.1.Eau.....12

 V.2.Glucides..... 13

V.3 5-Hydroxy-2-méthylfurfural (HMF).....	13
V.4 Acides.....	13
V.5 Protides.....	13
V.6 Sels minéraux.....	14
V.7 Vitamines.....	14
V.8 Enzymes.....	14
V.9 Colloïdes.....	14
V.10 Substances aromatiques et composés phénoliques.....	15
VI. Qualité du miel.....	15
VI.1. Facteurs essentiels de composition et de qualité.....	15
VI.2. Couleur.....	16
VI.3. Cristallisation.....	16
VII. Composés phénoliques.....	16
VII.1. Généralités biochimiques.....	17
VII.2. Classification.....	17
VII.2.1. Acides phénoliques.....	17
VII.2.2. Flavonoïdes.....	18
VII.2.3. Tannins et Lignines.....	18
VIII. Composition microbiologique.....	18
VIII.1. Les micro-organismes.....	18
IX. Propriétés biologiques.....	19
IX.1. Propriétés antioxydantes.....	19
IX.2. Propriétés antimicrobiennes.....	19
IX. 2.1. Facteurs impliqués.....	20
IX.3. Propriétés thérapeutiques.....	21
IX.3.1. Action du miel sur le système respiratoire.....	21
IX.3.2. L'effet du miel dans l'ophtalmologie.....	22
IX.3.3. L'effet du miel sur le diabète.....	22
IX.3.4. Propriétés cicatrisantes.....	22

IX.4. Propriété nutritionnelles.....	23
--------------------------------------	----

Chapre2 : Matériels et méthodes

I.Objectifs de l'étude.....	25
II. Matériel biologique.....	25
II.1. Les échantillons de miel.....	25
II.2. Les Souches bactériennes.....	26
a) <i>Escherichia coli</i>	26
b) <i>Staphylococcus aureus</i>	26
III. Matériel non biologique.....	26
III.1. Les appareils utilisés.....	26
III.2. Les réactifs utilisés.....	27
IV. Méthodes d'analyse.....	27
IV.1. Analyses physico chimiques	27
IV.1.1 La teneur en eau.....	27
IV.1.2. PH	28
IV.1.3. Conductivité électrique.....	29
IV. 2. L'activité antioxydante.....	29
IV.2.1 Dosage des polyphénols totaux	29
IV.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	30
IV.2.3. Test DPPH.....	31
IV.3. L'activité antibactérienne.....	32
V. Analyses statistiques.....	33

Chapitre 3 : Résultats et discussions

I. Résultats des analyses physicochimiques.....	35
I.1. La teneur en eau.....	35

I.2. Les mesure de PH.....	37
I.3. La conductivité électrique.....	38
II. Résultats de l'activité antioxydante.....	39
II.1. Les polyphénols totaux.....	39
II.2. Les flavonoïdes totaux.....	40
II.3. Le test DPPH.....	41
III. Résultats des analyses statistiques	42
III.1. Matrice de corrélation des paramètres étudiés.....	42
IV : Résultats de l'activité antimicrobienne.....	43

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures :

Figure I.1 Morphologie de l'abeille.....	08
Figure II.1 : Photos des échantillons de miels étudiés	26
Figure II. 2: Les étapes de dosages des polyphénols totaux.....	30
Figure II.3 : Les différentes concentrations de dosages de flavonoïdes.....	31
Figure II.4: Mesure de l'absorbance des solutions.....	32
Figure II.5 : L'ensemencement des souches bactériennes sur le milieu de culture	33
Figure III.1 : Résultats de la teneur en eau des échantillons.....	36
Figure III.2 : Résultats du PH des échantillons étudiés.....	37
Figure III.3 : Résultats de la conductivité électrique.....	38
Figure III.4 : Résultats des dosages des polyphénols des échantillons étudiés.....	40
Figure III.5 : Résultats des dosages des flavonoïdes des échantillons étudiés.....	41
Figure III.6 : Résultats du test de DPPH.....	42
Figure III.7 : Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de <i>Escherichia coli</i> aux différentes concentrations des miels étudiés.....	45
Figure III.8 : Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> aux différentes concentrations des miels étudiés.....	45
Figure III.9 : Diamètre de la zone d'inhibition de la souche <i>S.aureus</i> à une concentration de 100% de miel d'eucalyptus.....	46

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Présentation des échantillons de miels étudiés.....	25
Tableau III.1: Résultats des analyses physicochimiques étudiés.....	35
Tableau III.2 : Les résultats obtenus de l'activité antioxydante.....	39
Tableau III.3 : Matrice de corrélation entre les différentes variables.....	42
Tableau III.4 : L'antibiogramme de deux souches étudiées.....	43
Tableau III.5 :	
Tableau III.6: Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i>	44

Liste des Annexes

Annexe1 : Un réfractomètre

Annexe 2 : Tableau de Chataway

Annexe3 : pH mètre

Annexe4 : Conductimètre

Caractérisation et activité antimicrobienne de quelques miels originaires de la région centre algérienne.

Résumé :

L'évaluation de la qualité de cinq échantillons de miel récoltés dans des régions du centre de l'Algérie a été réalisée à travers l'analyse de quelques paramètres physico-chimiques (la teneur en eau, pH, et la conductivité électrique), de leur activité antioxydante et leurs effets antimicrobiens sur deux souches bactériennes d'*Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*.

L'analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons de miel étudié, montre une teneur en eau variant entre $14,2 \pm 0$ % et $17,2 \pm 0,066$ %, un pH acide enregistré chez tous les échantillons allant de $4,01 \pm 0,04$ à $6,21 \pm 0,18$, et une conductivité électrique comprise entre $0,265 \pm 0,001$ et $0,635 \pm 0,003$ (mS/Cm).

La concentration des phénols totaux des miels est de $331,90 \pm 30,21$ à $568,804 \pm 21,950$ (mg GAE/100 g), alors que la concentration des flavonoïdes varie entre $30,471 \pm 2,53$ et $107,805 \pm 7,72$ (mg QE/100 g).

L'activité antibactérienne des miels purs à 100% et dilués à 75%, 50% et 25% a été évaluée par la technique de diffusion sur gélose en calculant les diamètres des zones d'inhibition. Les résultats enregistrés ont montré que les deux souches *S. aureus* et *E.coli* sont très sensibles aux miels d' Eucalyptus, de Thym et de Chardon marie avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 39 mm. Les miels de Jujubier, et le miel multi floral de forêt ont un effet très faible sur les deux souches avec une zone d'inhibition de 10mm.

Mots clés : Miel, activité antimicrobienne, activité antioxydante, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Analyses physicochimiques.

Characterization and antimicrobial activity of a few honeys originating in the central Algerian region.

Abstract

The evaluation of the quality of five honey samples from central Algeria region was carried through the analysis of some physicochemical parameters (water content, pH, and electrical conductivity), the antioxidant activity and their antimicrobial effects on two bacterial strains of *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*.

Physico-chemical parameters analysis of the studied honey samples showed a water content varying between $14.2 \pm 0\%$ and $17.2 \pm 0.066\%$, an acidic pH recorded in all the samples ranging from 4.01 ± 0.04 To 6.21 ± 0.18 , and an electrical conductivity between varying between 0.265 ± 0.003 and 0.635 ± 0.008 (mS / cm).

The concentration of total phenols in honey ranged from 331.90 ± 30.21 to 568.804 ± 21.950 (mg GAE / 100 g), while the concentration of flavonoids varied from 30.471 ± 2.53 to 107.805 ± 7.72 (mg QE / 100 g).

The antibacterial activity of 100% pure and diluted 75%, 50%, 25% honey was evaluated by the diffusion technique on agar with calculating the inhibition diameters. Results showed that both strains *S. aureus* and *E.coli* were very sensitive for Eucalyptus, Thyme and Milk thistle honeys with a diameter of up to 39 mm. Jujube and multi-floral honeys had a very weak effect on both strains (inhibition zone = 10mm).

Keywords: Honey, antimicrobial activity, antioxidant activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Physicochemical analyzes.

الملخص :

يتم تقييم جودة عينات العسل الخمس من وسط الجزائر من خلال تحليل بعض المعايير الفيزيائية والكيميائية (محتوى الماء، ودرجة الحموضة ، والتوصيل الكهربائي) ونشاط مضادات الأكسدة وتأثيراتها المضادة للميكروبات على سلالتين بكتيريتين من الإشريكية القولونية .، من *Staphylococcus aureus*.

أظهر تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية لعينات العسل المدروسة محتوى مائي يتراوح بين 0 ± 14.2 % و 17.2 ± 0.066 % ، درجة حموضة حمضية مسجلة في جميع العينات تتراوح من 4.01 ± 0.04 إلى 6.21 ± 0.18 ، وموصلية كهربائية بين 0.265 ± 0.003 و 0.635 ± 0.008 (ملي ثانية / سم)

يتراوح تركيز إجمالي الفينولات في العسل من 30.21 ± 331.90 إلى 21.950 ± 568.804 (مجم / 100 GAE / جم) ، بينما يتراوح تركيز مركبات الفلافونويد من 2.53 ± 30.471 إلى ما بين 7.72 ± 107.805 (مجم كيو إي / 100جم). عتمد عملنا على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لعسل نقي 100 % ومخفف 75 % ، 50 % ، 25 % بتقنية الانتشار على أجار عن طريق حساب أقطار مناطق hinibution. أظهرت النتائج المسجلة أن سلالتى *S. aureus* و *E.coli* حساستان جداً لعسل الكينا والزعتر والشوك التي يصل قطرها إلى 39 مم .للعناب والعسل متعدد الأزهار تأثير ضعيف جداً على كلا السلالتين (منطقة التثبيط = 10 مم).

كلمات المفتاحية : العسل ، النشاط المضاد للميكروبات ، النشاط المضاد للأكسدة ، الإشريكية القولونية ، المكورات العنقودية الذهبية ، التحاليل الفيزيائية والكيميائية.

Introduction

De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel depuis des millénaires par de nombreuses civilisations afin d'élucider ses propriétés nourrissantes, thérapeutiques, cicatrisantes, désinfectantes et/ou antimicrobiennes (Lequet, 2010). Au début du vingtième siècle, les biens curatifs du miel ont été destitués par l'emploi des antibiotiques. Cependant, récemment le développement de la résistance à ces antibiotiques a conduit à un accroissement d'intérêt dans les propriétés curatives du miel (Baltrusaityte et *al.*, 2007). En plus de son efficacité dans le traitement des brûlures et des plaies, plusieurs expérimentations ont montré que le miel détient la capacité de contrôler rentablement et irrésistiblement un grand nombre de micro-organismes. Les composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes) ainsi que les composés non-phénoliques tels l'acide ascorbique, les acides organiques et les protéines, y compris certaines enzymes telles que la glucose oxydase et la catalase peuvent contribuer à l'activité antioxydante du miel. Divers tests sont appliqués pour déterminer l'activité antioxydante du miel (Alvarez-Suarez et *al.*, 2009) Tous les types de miel ont un pouvoir antimicrobien, bien que certains soient plus actifs que d'autres (Badawy et *al.*, 2004).

Malgré sa complexité, la composition qualitative du miel est aujourd'hui bien connue bien que les proportions peuvent par contre varier. Par ailleurs, la composition quantitative de ce produit d'origine végétale est soumise à de nombreux facteurs qu'il est impossible de maîtriser, tels que la nature de la flore butinée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie, etc (Bendahou et Hasnat, 2002 ; Philippe, 1999).

Certaines études ont montré que les composés du miel sont responsables de l'activité antibactérienne sont les composés phénoliques, notamment les tanins et les flavonoïdes, les inhibines non peroxydes tels que des lysozymes et les substances volatiles et aromatiques du miel (Brudzynski, 2006). Toutefois, l'activité antibactérienne du miel est principalement due à sa forte teneur en sucres. Son hyper-osmolarité contribue à extraire l'eau contenue dans les œdèmes mais également dans les bactéries, ce qui a pour conséquence leur déshydratation et leur lyse (Bessas, 2008). Bien qu'ils soient dilués, les miels restent actifs face aux bactéries. Ceci est dû à la production de peroxyde d'hydrogène en présence d'eau

grâce à l'activation d'une enzyme, la glucose-oxydase. Ainsi, le peroxyde d'hydrogène formé constitue le composant principal agent responsable de l'activité antiseptique et antibactérienne du miel. De plus, le pH acide du miel situé entre 3,0 et 4,5 lui confère une acidité assez élevée capable de provoquer l'inhibition de plusieurs types de bactéries (Brudzynski,2006 ; Sies et *al.*, 1996).

Le présent travail a pour but d'évaluer et valoriser différents types du miel récolté au centre de l'Algérie de différentes origines géographiques et botaniques.

En premier lieu, nous avons fait une revue générale sur le miel, sa classification et sa composition chimique. En second lieu, quelques propriétés biologiques (propriétés antioxydantes, antimicrobienne et thérapeutiques) ont été rapportées. Dans la partie expérimentale, nous avons étudié quelques analyses physicochimiques de nos échantillons, par la suite le dosage des composés phénoliques et flavonoïdes afin d'évaluer leurs pouvoirs antioxydants et enfin l'étude de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de deux souches pathogènes pour l'homme de deux genres différents ; *Echerichia. Coli* et *staphylococcus aureus*.

Enfin, une présentation générale des résultats de la recherche et leurs comparaisons avec des travaux précédents, sont donnés.

Chapitre I :

Données générales

I.L'Apiculture

L'Apiculture est l'élevage des abeilles domestiques, d'une part pour l'exploitation des produits qu'elles élaborent (miel, gelée royale, pollen, cire) et d'autre part pour la pollinisation des cultures. L'apiculture concerne l'élevage de l'abeille à miel domestique (*Apis mellifera*). Cette activité est pratiquée depuis la plus haute antiquité et encore largement répandue, l'apiculture est originaire du proche-Orient. Il y a plusieurs millénaires, les premiers élevaient des abeilles et faisaient déjà le commerce du miel et de la cire le long de la côte orientale de l'Afrique sont les Egyptiens (BADREN, 2016).

I.1.L'abeille

C'est un insecte appartenant à l'ordre des Hyménoptères, elle est apparue il y a 45 millions d'années avant l'homme, certains paléontologues découvrirent leurs fossiles dans les ambres de la Baltique depuis plus de 60 millions d'années (WINSTON, 1993). Les mieux connus et les plus utilisés en apiculture sont : *Apis mellifera* comportant plusieurs races qui peuplent actuellement l'Europe, l'Afrique, l'Asie occidentale, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Australie et la Nouvelle Zélande (SCHMIDT, 2013). L'espèce *Apis mellifera* comporte une vingtaine de races (ou sous-espèces) appartenant à des groupes correspondant à des aires géographiques. Par exemple, *Apis mellifera mellifera*, également appelée abeille noire ou commune, fait partie du groupe de Méditerranée occidentale. Il s'agit de l'abeille la plus exploitée pour l'apiculture en France. Viennent ensuite l'abeille jaune ou italienne (*Apis mellifera ligustica*), la Caucasiennne (*Apis mellifera caucasica*), la Carnolienne (*Apis mellifera carnica*) et la Buckfast (issue du croisement de l'abeille commune et de l'abeille italienne) (www.itsap.asso.fr).

I.1.1.Systématique

Les abeilles sont des insectes qui font partie de l'ordre des Hyménoptères et de la superfamille des Apoidea. Cette dernière comprend 6 familles, 130 genres et plus de 20.000 espèces vivant majoritairement en solitaire, sauf pour une famille, celle des Apidés. Les quatre grandes espèces les plus connues sont

- a. *Apis florea*, « abeille naine » (9-10mm). Elle vit en Inde, en Malaisie ainsi que sur les îles de Java et de Bornéo, en Indonésie.
- b. *Apis dorsata*, « abeille géante » (jusqu'à 25mm). Elle occupe un large territoire de l'Asie sud-orientale (Inde, sud de la Chine, Philippines, archipel indonésien).
- c. *Apis cerana* (10-11mm). Elle vit en Asie méridionale et orientale.
- d. *Apis mellifera* originaire de l'Afrique, elle aurait atteint l'Europe après la dernière glaciation et aurait été introduite par l'homme sur d'autres continents, comme l'Amérique et l'Australie (Schmidt, 2013).



Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embranchement : Mandibulata

Classe : Hexapoda = Insecta

Super Ordre : Hymenopteroidea

Ordre : Hymenoptera (Hyménoptères)

Sous Ordre : Aculeata

Genre : Apis

Espèce : *Apis mellifera* (Latreille, 1804)

I.1.2.Morphologie de l'abeille

Le corps de l'abeille, se divise en trois tagmes : la tête, le thorax et l'abdomen. On y trouve le système circulatoire, le système nerveux, le système respiratoire et le système digestif, un ensemble complexe qui assure leurs fonctions vitales (SCHMIDT, 2013).

– La tête : En forme de « capsule ovoïde », la tête comprend les yeux, les antennes et le système buccal. Elle est reliée au thorax par un ensemble de muscles au niveau du cou qui lui donne de la mobilité. La tête abrite aussi les glandes hypopharyngiennes, labiales et mandibulaires dont les fonctions sont diverses.

-Les yeux :les abeilles ont deux types d'yeux : les yeux composés (deux grands yeux noirs composés de milliers de facettes qui leur donnent une vision éloignée à l'extérieur de la ruche) et les ocelles (trois petits yeux positionnés en forme de triangle sur le centre de la tête qui leur permettent de voir dans le noir, donc à l'intérieur de la ruche).

-Les antennes : les abeilles possèdent deux antennes « hypersensibles » qui sont en fait des organes sensoriels primordiaux. Elles comportent différentes sensilles (organes sensoriels des insectes) qui leur permettent de toucher, de goûter, de sentir, de capter les vibrations et de communiquer. Leur rôle est tellement important que l'amputation d'une seule antenne peut entraîner la mort de l'insecte.

-La trompe et les mandibules : le système buccal, que l'on caractérise de « broyeurlécheur », est composé entre autres de deux mandibules et de la trompe. Les mandibules permettent à l'abeille de manipuler, de malaxer et de mastiquer la cire, le pollen et la propolis qu'elle récolte.

-La trompe: est composée d'un ensemble de structures dont la langue qui y coulisse vers l'extérieur, et permet à l'abeille d'aspirer le nectar du fond de la corolle de la fleur, de se nourrir de miel et de s'abreuver d'eau. Cette petite langue, dispose d'une pilosité et est munie à l'extrémité d'une petite cuillère spongieuse qui facilite l'aspiration du nectar. C'est aussi grâce à leur langue que les abeilles peuvent échanger de la nourriture entre elles

→ Le thorax : Partie centrale du corps de l'abeille, le thorax est composé de trois sections. Il est relié à l'abdomen par un segment étroit nommé le « pétiote ». La fonction principale du thorax est la locomotion, car c'est à cet endroit que se trouvent les principaux appendices locomoteurs (pattes locomotrices et ailes).

-Les pattes :Chacune des sections du thorax est dotée d'une paire de pattes qui ont différentes fonction. Les pattes antérieures ont pour tâche de nettoyer les antennes et les yeux, alors que les pattes médianes toilettent les flancs et le ventre. Les pattes médianes font aussi office de transitaires au moment ou les abeilles s'affairent à amasser les pelotes de pollen. Enfin, les pattes postérieures, aidées par les médianes, servent à déposer le pollen et la propolis dans les corbeilles situées dans les pattes postérieures. Elles permettent aussi de récolter les écailles de cire qui sont produites sous leur abdomen. Toutes sont munies à l'extrémité de griffes et de petites ventouses, qui permettent aux abeilles d'adhérer aux surfaces lisses, mais également de « goûter » à l'aide des tarse.

-Les ailes L'abeille possède également deux paires d'ailes membraneuses qui sont fixées sur le thorax et qui fonctionnent à l'aide d'un système complexe. Ce sont des muscles thoraciques puissants qui, activés par le système nerveux, permettent une grande variété de mouvements. Les ailes antérieures sont plus grandes et plus développées que les ailes postérieures. Elles fonctionnent toujours conjointement. Lorsque l'abeille prend son envol, les deux paires d'ailes se fixent ensemble à l'aide d'un système d'accrochage. Ce système est composé d'une vingtaine de petits crochets positionnés sur l'aile postérieure qui viennent se fixer au rebord de l'aile antérieure. Cette fixation permet aux deux ailes de se solidariser pendant le vol en une seule surface portante et ainsi de réduire les phénomènes de turbulence et de traînée (Schmidt, 2013). Dès l'arrêt du vol, les ailes « se décrochent » les ailes servent également d'outils de thermorégulation, c'est à dire que les abeilles font battre leurs ailes pour contrôler la température à l'intérieur de la ruche et pour abaisser le taux d'humidité du miel.

→ L'abdomen : Cette dernière grande partie du corps est composée de sept segments abdominaux reliés entre eux par une membrane inter segmentaire. On y trouve une série de systèmes complexes qui comprend, entre autres, le système respiratoire, le système reproducteur et le système digestif. Situé dans la première

partie de l'abdomen, le système digestif joue un rôle important dans la fabrication du miel, car on y retrouve le pharynx, l'œsophage et le jabot. Le pharynx permet le pompage de la nourriture liquide, donc du nectar et de l'eau. L'œsophage relie le pharynx au jabot. Le jabot, la partie la plus importante dans la fabrication du miel, sert à transporter l'eau et à entreposer le nectar pendant le vol de retour. Il s'agit d'une poche extensible où se produisent la digestion et l'absorption des éléments nutritifs contenus dans la nourriture récoltée par les abeilles. L'abdomen abrite également à son extrémité le système de défense des abeilles le dard (ou aiguillon). L'appareil vulnérant est une forme d'épine munie de soies barbelées qui coulissent de l'intérieur vers l'extérieur du corps grâce à une pièce nommée « gorgéret » (Schmidt, 2013).

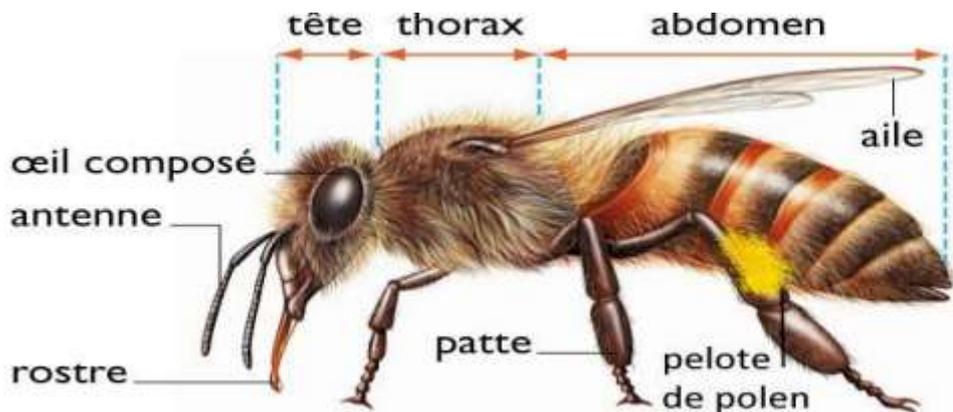


Figure I.1 Morphologie de l'abeille (Analyse comparative de la composition en principes actifs et activité antibactérienne de quelques miels, (Belgherbi, 2020).

I.1.3. Les castes d'abeille

Dans une ruche nous trouvons trois types d'individus. La reine unique individu qui pond des œufs et assure ainsi la permanence de la société ; les ouvrières qui assurent les multiples travaux de la société ; les faux bourdons qui sont des mâles qui participent essentiellement à la reproduction.

- La reine est la même de toutes les abeilles de la colonie. Elle se distingue par des pattes plus longues, ainsi que par un abdomen et un thorax plus développés que ceux des ouvrières. La colonie se reproduisant par essaimage, la reine doit être apte à s'envoler avec le premier essaim, dit primaire (Schmidt, 2013).
- Le faux bourdon légèrement plus gros que les femelles, le faux bourdon est beaucoup plus trapu. Il est reconnaissable à ses deux gros yeux composés et à l'extrémité carrée de son abdomen. Chez le faux bourdon, les yeux composés resserrés en haut de la tête, projettent les ocelles vers l'avant. Cette particularité lui offre une vision très panoramique, atout qu'il utilise à profit pour voler vers les lieux de rassemblement et s'accoupler avec les reines vierges.
- L'ouvrière les ouvrières sont des abeilles les plus petites et les plus nombreuses de la colonie. Elles se distinguent par les corbeilles à pollen qu'elles portent sur leurs pattes postérieures. Sur la face interne des pattes, des rangées de poils rigides servent à broser le pollen sur le reste du corps et à la transférer sur les pattes postérieures. En frottant ses pattes postérieures l'une contre l'autre, l'abeille introduit le pollen dans les corbeilles à pollen à l'aide d'une articulation adaptée à cette fonction. Elle rapporte les pelotes au nid, où le pollen sert à nourrir les larves ou est stocké pour un usage ultérieur (Schmidt, 2013).

I.1.4.Fabrication du miel par les abeilles

Une fois les abeilles habitent déjà la ruche, elles peuvent produire les miels dans une échéance de 3 à 5 mois (après leur installation). Une fois dépassée cette période les miels peuvent être recueillis par les producteurs et la cire servira pour loger les larves de la ruche. Des larves grandissent, elles nourrissent d'autres jeunes abeilles sorties des alvéoles.

- Transformation du nectar : Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes. Le rayon d'action moyen se situe entre 500 m et 2 km, elle prélève sur les fleurs le nectar, sécrète par des glandes dites nectarifères, présenté sur des nombreuses plantes. Le changement de la solution sucrée en miel commence déjà lors du voyage, au cours du quel elle est accumulée dans le jabot de l'abeille. C'est dans son tube digestif que s'amorce la longue

transformation, des enzymes agissent sur le nectar. Le saccharose sous l'action de l'invertase, se transforme en glucose, fructose, maltose et autres sucres.

➤ L'emmagasinage : Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. A son retour, la butineuse régurgite, la passe aux ouvrières, qui elles-mêmes la communique à d'autres et ainsi de suite. D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucres gastriques et de substances salivaires : invertase, diastase, et gluco-oxydase. D'autres sucres qui n'ont pas existé au départ sont synthétisés simultanément. La goutte épaisse et déversée ensuite dans une alvéole, d'où l'eau du miel s'évapore.

➤ Maturation : La solution sucrée transformée (contenant 50% d'eau) va subir une nouvelle concentration par évaporation, qui se fait sous double influence :

- D'abord de la chaleur régnant dans la ruche qui est d'environ 36 °C.

- Ensuite de la ventilation par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes.

Dans la ruche, le miel se garde bien, car il est très concentré en sucre. Mais on dit que les abeilles, pour plus de sécurité, injectent dans chaque cellule une gouttelette de venin. Et celui-ci est un produit conservateur quand tout ce travail sera terminé, la cellule pleine du miel sera fermée par un opercule de cire (DONADIEU, 1984).

II. Définition du miel

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de 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 (CODEX, 2001).

III.Types de miel

De nombreuses sortes de miel sont visibles sur les étals de marché. Alors que les goûts évoluent, voici les plus connus des consommateurs.

III.1. Les miels monofloraux

Cette catégorie de miel a un goût particulier qui évoque la fleur dont chacun est issu. Le miel d'acacia, par exemple, est un miel blond et liquide au goût délicat qui ne dénature pas le thé et qui, en plus de favoriser le transit intestinal, n'est pas contre-indiqué chez les personnes diabétiques. (Pascal, 2009)

III.2. Les miels polyfloraux

Ces miels sont élaborés par les abeilles à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent de manière plus ou moins précise leur origine géographique. Celle-ci correspond soit à l'aire de production (région, département, massifs...), soit à un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigues, maquis, forêts...) (Anonyme, 2018).

IV.Classification du miel

Selon Gupta et al. (2014), Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar ou de miellat recueillis sur les plantes. Donc d'après leurs origines botaniques, les miels peuvent être divisés en deux grandes catégories de miels : miel de fleurs et miel de miellat.

IV.1.Miel de fleur (nectar)

Le nectar, qui est en générale la source principale du miel, et le liquide sucré constitué principalement de glucose, de fructose et de saccharose. Il est secrété par les glandes dites nectarifères ; présente sur de nombreuses plantes. Les nectaires sont situés le plus souvent dans les fleurs, mais peuvent aussi se trouver à la base de certaines fleurs (Stanway, 2013).

IV.2. Miel de miellat

Le miellat est une sécrétion issue de la plante forestière (comme le sapin) ou une sécrétion se trouvant sur celle-ci et provenant des excréments de certains insectes suceurs de sève comme les pucerons. Le miellat est un liquide épais et visqueux, il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et en sucres complexes. Le miellat produit un miel plutôt sombre et moins humide que le miel de nectar (Aupy et *al.*, 1994)

IV.3 Autres origines du miel

Il existe aussi du « miel de sucre »; miel produit par des abeilles nourries à l'aide de sucres et quelquefois de fruits, de cannes à sucre, etc (SCHWEITZER, 2004).

V. La composition chimique du miel

La composition chimique du miel dépend de différents facteurs ; race des abeilles, les espèces végétales, l'état de la colonie, etc. Le miel contient, selon Michel Gonnet :

- 17 % d'eau (limite légale de 21 %, sauf exception : miel de callune, 23 %)
- 31 % de glucose
- 38 % de lévulose
- 7,5 % de maltose
- 1,5 % de saccharose (jusqu'à 10 % et même davantage dans le miel de lavande)
- Une dizaine d'autres sucres »

Il est évident qu'en réalité cette composition est beaucoup plus complexe et d'ailleurs on est loin d'en connaître tous les constituants. En 1962, White, Riethoff, Subers et Kushnir ont tenté de donner la composition moyenne du miel en analysant 490 échantillons en provenance de tous les États-Unis. Ils ont pu déterminer la proportion des principaux constituants du miel.

Les caractéristiques légales de la composition d'un miel destiné à la consommation humaine sont les suivants :

V.1.Eau

La teneur en eau varie entre 14% et 25% selon les miels. L'humidité du miel favorisant sa fermentation, nous verrons que pour que un miel de fleurs se conserve plus de 2 ans, il ne faut pas que sa teneur en eau dépasse 18%. Le législateur a fixé une limite à 20% d'humidité pour la majorité des miels.

V.2.Glucides

Selon les miels, les glucides représentent 90 à 99% de la matière sèche. Les principaux sucres constitutifs du miel sont le fructose et glucose. De nombreux autres sucres sont également présents dans le miel, en plus faible quantité. Certains sont d'origine purement végétale (ils entrent dans la composition du nectar ou du miellat) : le glucose, le fructose, le saccharose, le kestose, le mélézitose et le raffinose. D'autres, tels que le maltose, l'isomaltose, l'erlose et le dextrantriose, apparaissent seulement comme des produits secondaires après transformation par les enzymes de l'abeille.

V.3 5-Hydroxy-2-méthylfurfural (HMF)

L'HMF est un composé organique dérivé de la déshydratation du fructose. Ni les nectars ou miellats, ni les miels frais n'en contiennent. Cette molécule apparaît au cours du processus de vieillissement naturel du miel. Ce processus est accéléré si les miels sont chauffés ou s'ils sont très acides. L'analyse de la quantité d'HMF est donc une excellente méthode pour apprécier la qualité du miel : son vieillissement et son chauffage. - En général et à l'exception du miel destiné à l'industrie, le seuil maximal est de 40 mg/kg.

V.4 Acides

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

acides identifiés dans le miel sont : l'acide gluconique (constituant acide majoritaire, issu du glucose), les acides butyriques, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide proglutamique, l'acide malique et l'acide citrique.

V.5 Protides

Les miels convenablement récoltés sont pauvres en protéines, la source de protéine dans la ruche étant le pollen. Quelques traces de pollen sont cependant inévitables et participent d'ailleurs à son identification florale. 6 Cours HIDAOA 4ème année Seul le miel de bruyère *Calluna* contient une protéine particulière, responsable de l'évolution de sa viscosité au cours du temps.

V.6 Sels minéraux

La teneur en sels minéraux d'un miel est en général faible, avec d'importantes variations : les miels foncés en contiennent plus que miels clairs.

V.7 Vitamines

Le miel contient une quantité infime de vitamines, probablement issues des quelques graines de pollen qu'il renferme. Le miel de menthe (*Mentha aquatica*) a la particularité de contenir de la vitamine C (ou acide ascorbique).

V.8 Enzymes

Les enzymes contenues dans le miel sont de deux origines : végétale et animale. Le nectar contient des enzymes produites par des nectaires de la plante. Les abeilles y ajoutent des enzymes provenant de leurs glandes salivaires. Deux enzymes sont étudiées particulièrement : l'invertase, qui provoque la scission du saccharose en fructose et en glucose, et l'amylase (couramment appelée diastase), qui provoque la dégradation de l'amidon en dextrine puis en maltose. On trouve également une catalase, une phosphatase et une glucose-oxydase. Cette dernière transforme le glucose en acide gluconique, principale acide du miel (comme nous l'avons vu dans le paragraphe sur la maturation du miel). L'activité enzymatique du miel est utilisée comme indicateur de chauffage du miel. D'un point de vue légal, un miel ne doit, en effet, pas être chauffé au point que ses enzymes naturelles soient

détruites ou considérablement inactivées. Or cette destruction est proportionnelle au temps et à la température de chauffage. Légalement, l'indice diastasique d'un miel doit être supérieur à 8, à l'exception des miels destinés à l'industrie. Pour les miels ayant une faible teneur naturelle en enzymes (par exemple les miels d'agrumes) et une teneur en HMF inférieure à 15 mg/kg, l'indice diastasique doit être supérieur à 3.

V.9 Colloïdes

La teneur en colloïdes varie entre 0,1 et 1%. Ils sont constitués principalement par des protéines, des substances cireuses, des pigments, des pentosanes et diverses autres substances.

V.10 Substances aromatiques et composés phénoliques

Les substances aromatiques sont, comme leur nom l'indique, à l'origine de l'arôme du miel. Seules quelques unes ont été identifiées, notamment l'antranilate de méthyle, le diacétyl, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone et l'isobutyraldéhyde. Les composés phénoliques sont retrouvés principalement dans la propolis, car ils proviennent souvent des sécrétions de bourgeons et autres exsudats des plantes. Quelques études en parlent cependant en tant que composants du miel. On en distingue trois familles : les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les flavonoïdes. Leur composition dans le miel varie elle aussi avec l'origine florale. Certains phénols participent à l'arôme au même titre que les substances terpéniques (caractéristiques de la lavande ou du sapin) ou d'autres composés à noyau aromatique d'origine naturelle, tel les acides phénylacétique et benzoïque (abondants dans certains miels). Certains composés phénoliques sont impliqués dans les qualités organoleptiques du miel. Les substances phénoliques interviennent également sur la couleur du miel : la couleur jaune, par exemple, est liée aux flavonoïdes. Ces substances phénoliques possèdent certaines activités biologiques intéressantes : germicide, bactériostatique et anti-inflammatoire.

VI. La qualité du miel

un miel de qualité doit être un produit sain, extrait dans de bonnes conditions d'hygiène conditionné correctement qui a conservé toutes ses propriétés d'origine et

qui les conservera le plus longtemps possible , l ne doit pas contenir de polluants divers , antibiotique , pesticides , métaux lourds ou autres produits de notre civilisation industrielle .

VI.1 Facteurs essentiels de composition et de qualité

Le miel vendu en tant que tel ne doit pas contenir d'ingrédients alimentaires, y compris des additifs alimentaires et seul du miel pourra y être ajouté. Le miel ne doit pas avoir de matière, de goût, d'arôme ou de contamination inacceptable provenant de matières étrangères absorbées durant sa transformation et son entreposage. Le miel ne doit pas avoir commencé à fermenter ou être effervescent. Ni le pollen ni les constituants propres au miel ne pourront être éliminés sauf si cette procédure est inévitable lors de l'élimination des matières inorganiques ou organiques étrangères. - Le miel ne doit pas être chauffé ou transformé à un point tel que sa composition essentielle soit changée et/ou que sa qualité s'en trouve altérée. - Aucun traitement chimique ou biochimique ne doit être utilisé pour influencer la cristallisation du miel (CODEX STANDARD, 1981).

VI.2 Couleur

La coloration du miel peut se mesurer, soit au moyen des colorimètres de (Pfund color Grader), ou le colorimètre LOVIBOND. L'échelle de référence la plus utilisée est celle de Pfund; elle introduit une notation chiffrée. Cette échelle couvre toute les gammes de couleurs du miel, c'est le seul examen sensoriel qui est dans le cadre de la législation sur les miels, fasse l'objet d'une codification précise (GONNET et VACHE, 1985). - Ne disposant pas de cet instrument, la perception sensorielle des couleurs par l'appréciation visuelle est donc très subjective.

VI.3 Cristallisation

La cristallisation est un critère de l'analyse sensorielle des miels du domaine de l'apparence mais aussi du domaine tactile. Le visuel permet de porter une appréciation sur la cohésion de la structure cristalline d'un miel. La cristallisation peut être entière ou fractionnée. Les cristaux qui forment la trame peuvent être épais ou fins .

VII.Composés phénoliques

Les polyphénols possèdent une grande variété de structures allant de composés contenant un simple noyau phénolique (acide phénoliques) à des composés polymériques complexes comme les tanins (polymères de catéchine et épicatechine présentant plusieurs dizaines d'unités). Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. En outre, in vitro, un grand nombre de polyphénol sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses (KHAN, 2010). Ces activités sont attribuées à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (HO·) et superoxyde (O₂⁻) (Nkhili, 2009).

VII.1 Généralité biochimiques

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal, On les trouve dans les plantes. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (NKHILI, 2009). Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C₆), le degré de modification de ce squelette)oxydation, hydroxylation...(et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipide, protéines, autres métabolites). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés : les acides phénoliques et les flavonoides. Les formes complexe sont issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autre, les tanins et les lignines (Benard, 2009)

VII.2.Classification

On distingue trois principales classes:

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques)
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines, Plus rares, les coumarines, les stilbènes (NKHILI, 2009).

VII.2.1.Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

-Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.

-Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (NKHILI, 2009) .

VII.2.2.Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux, tous les flavonoïdes (plus de 4000) possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (PORTET, 2007). BARBONI, (2006) indique que les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanols, les flavan-3-ols .

VII.2.3. Tannins et Lignines

Les tannins sont des polyphénols polaires de haut poids moléculaire (>3000 Da) d'origine végétale existant dans presque toutes les parties de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Ils sont divisés en 2 groupes : tannins hydrolysables (qui donne après hydrolyse soit de l'acide gallique soit de l'acide ellagique(et tannins condensés ou catéchiques (constitués de la condensation des dérivés flavane). Des tannins peuvent également être constitués par condensation d'unités quinone (HADJ SALEM, 2009).

VIII. Composition microbiologique

VIII.1. Les micro-organismes

Un certain nombre de micro-organismes ont été répertoriés dans le miel. Cette présence s'explique par une contamination via le pollen, le contenu digestif des abeilles, la poussière, l'air, les fleurs... On va donc trouver dans la ruche, sur les abeilles adultes, des bactéries et des levures tels que *Bacillus*, *Micrococcus*, *Saccharomyces*, *Streptomyces*, et *Enterobacteriaceae*. Ces microorganismes se retrouveront ensuite dans le miel.

L'autre source de contamination du miel est constituée par l'homme, les équipements, les récipients, ainsi que l'atmosphère lors de la récolte et du conditionnement (Snowdon et al., 1996).

Heureusement, la plupart de ces micro-organismes ne peuvent pas se développer ou se reproduire dans le miel, car celui-ci possède une activité antibactérienne. En effet, lorsque l'on inocule différentes bactéries dans le miel stérilisé à 20°C, les bactéries ne résistent pas plus d'une quinzaine de jours. Seules les spores produites par les micro-organismes peuvent survivre jusqu'à 4 mois après. Cependant si le miel est mis en présence d'eau, la croissance bactérienne est possible (Snowdon et al., 1996).

IX. Propriétés biologiques

Le miel est non seulement un aliment mais on peut le considérer comme un médicament car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antimicrobiennes, antioxydantes et thérapeutiques). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales.

IX.1. Propriétés antioxydantes

Les antioxydants jouent un rôle important dans la préservation des aliments et la santé humaine, par désactivation et stabilisation des agents d'oxydation (Gorjanovic et al., 2013). Ces derniers sont responsables de nombreuses maladies telles que le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les différents processus d'inflammation (Bourassa et Tardif., 2006). Le miel est utilisé comme source naturelle d'antioxydants qui sont efficaces pour la réduction des risques de ces maladies (Meda et al., 2005). Les composés responsables de l'activité antioxydante du miel sont : les flavonoïdes (chrysin, pinocembrine, pinobanksine, quercétine,

kaempférol...), les acides phénoliques (cafféique, coumatric, éllagique et chlorogénique) (Sarmonto silva et al., 2015), l'acide ascorbique, la catalase, la peroxydase et les caroténoïdes (Alvary-Surez et al., 2010 ; Ouchmoukh, 2012). Cependant, cette activité est variable d'un miel à l'autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants (Beretta et al., 2005 ; Anjos et al., 2015).

IX.2. Propriétés antimicrobiennes

Les hommes ont depuis toujours utilisé le miel non seulement comme nourriture, mais aussi pour ces propriétés antiseptiques, comme médicament, comme substance servant à la conservation des fruits et graines (Altman, 2010). Grace à sa haute concentration en sucre, sa richesse en diastases et en essences aromatiques, ces notions de valeur antiseptiques ont été confirmées scientifiquement ces dernières années (Mao Shing, 2011). En effet, l'activité antimicrobienne a été longuement traitée par plusieurs auteurs (Goerdts et al., 2013 ; Patel et al., 2013 ; Mcloone et al., 2015) .

IX. 2.1. Facteurs impliqués

A) L'effet osmotique

Le miel est saturé en sucre, sa teneur en eau n'est que de 15 à 21%. Les fortes interactions entre le sucre et l'eau ne laissent pas assez de molécules d'eau libres pour permettre le développement des microorganismes (Patel et al., 2013). Quelques levures arrivent à vivre dans le miel ayant une forte teneur en eau. Aucune fermentation n'est possible si le teneur en eau est inférieure à 17.1% (Gupta et al., 2014). La plupart des bactéries sont incapables de pousser si l'activité d'eau est inférieure à 0.94, ce qui est le cas dans le miel non dilué (Snowdon et Cliver, 1996 ; Chepulis, 2008).

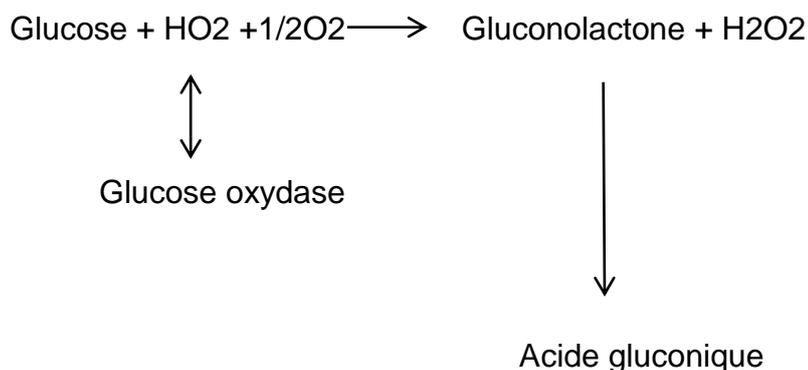
B) L'acidité

Une des caractéristiques du miel est son acidité avec un ph compris entre 3.2 et 4.5. Ce ph est suffisant pour inhiber de nombreux germes pathogènes, qui ont besoin d'un ph entre et 7.4 (Barbosa et Kalaaji, 2014 ; Majtanova et al., 2015) .

C) Le peroxyde d'hydrogène (Inhibine)

La principale activité antimicrobienne du miel est liée à la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène, la glucose oxydase et une enzyme qui est secrétée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles lors de la transformation du nectar ou du miellat en miel.

-L'enzyme au contact du glucose produit la réaction suivante :



Le peroxyde d'hydrogène ainsi produit sert d'agent stérilisant, cette activité antimicrobienne du miel est nommée « inhibine ». La catalase est une enzyme qui se retrouve dans quelques bactéries, dans le plasma et peut être libéré par les leucocytes mortes. Cette enzyme peut décomposer le H₂O₂. Cependant la concentration en cette inhibition dépend de l'activité de ces enzymes (glucose oxydase et catalase), et aussi de l'influence de la chaleur et de la lumière qui altèrent la glucose-oxydase (Chepulis, 2008 ; Altman, 2010).

D) Autres facteurs phytochimiques

Une activité antimicrobienne a été retrouvée même lorsque le glucose oxydase est neutralisé par la catalase, ou la chaleur. Ceci suppose la présence d'autres molécules capables d'inhiber la croissance bactérienne. Il existe selon Balanos de la terro et *al.* (2015), des inhibines non peroxydes qui contribuent à l'activité antimicrobienne du miel, il y a le lysozyme, les acides phénolique, les flavonoïdes et les substances aromatiques, on utilise le terme UMF (« unique Manuka Factor ») pour définir la capacité antimicrobienne non peroxyde. Contrairement à le glucose oxydase qui a une activité peroxyde, UMF qui n'a pas d'activité peroxyde est résistant à la lumière, la chaleur, les rayons gamma et ne nécessite ni dilution ni oxygène (Packer et *al.*, 2012 ; Majtan et *al.*, 2012).

IX.3. Propriétés thérapeutiques

Le miel est non seulement considéré comme une substance sucrée, savoureuse, mais également comme une partie de la médecine traditionnelle. Il a été rapporté qu'il est efficace contre les désordres gastro-intestinaux, la guérison des blessures et des brûlures, et pour produire une protection gastrique contre les lésions gastriques aiguës et chroniques intestinales par l'opposition à toute fermentation intestinale démesurée (Mitrrea et Painter, 2007 ; Schmidt et *al.*, 2013 ; Aldrich et Rymearson, 2015).

IX.3.1. Action du miel sur le système respiratoire

Le miel est bénéfique au niveau du système respiratoire. Dans nos pays où les variations de températures sont fréquentes, les rhinites, le coryza, les irritations de la gorge, les infections bronchiques sont courantes. Le miel apporte ses propriétés antibactériennes (Meda et *al.*, 2004).

IX.3.2. L'effet du miel dans l'ophtalmologie

Le miel est traditionnellement employé pour réduire et traiter des cataractes, conjonctivites et autres atteintes de la cornée. Il est alors directement appliqué dans l'œil, notamment en Inde et en Amérique centrale avec le miel de certaines espèces d'abeille (Melipona et Trigona). Certains cas relatent même le traitement de certaines kératites et ulcères de la cornée par l'application de miel pure ou en pommades (Majtanova et *al.*, 2015).

IX.3.3. L'effet du miel sur le diabète

Paradoxalement, dans le diabète, le miel n'est pas à supprimer, malgré sa teneur en sucre. En effet, des études ont révélé que le taux d'insuline était moins élevé lors de la consommation du miel que pour un produit équivalent au niveau caloriques. D'autre part le taux de sucre dans le sang serait plus bas qu'après absorption de la même quantité de sucre. Le miel est composé essentiellement de glucose et de fructose, des personnes consommant ces derniers engendrent des glycémies (taux de sucre dans le sang) moins élevées selon plusieurs chercheurs qui ont montré que la glycémie varie en fonction de la teneur en fructose dans le miel.

Cela peut s'expliquer par le fait qu'il est moins bien absorbé par l'intestin (Mohamed et *al.*, 2014).

IX.3.4. Propriétés cicatrisantes

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 (activité antimicrobienne). Cette action est à la base du traitement des plaies ou des destructions tissulaires (brûlures) par le miel. Ainsi, cette pression entraîne une résorption de l'œdème péri lésionnel (élimination des tissus nécrotiques) et un appel local de macrophages qui favoriseraient le nettoyage des plaies. Il y a en plus une augmentation secondaire des fibroblastes nouvellement synthétisés producteurs de collagène qui favoriserait une cicatrice de bonne qualité (Chepulis, 2008 ; Stewart et *al.*, 2014).

IX.4. Propriétés nutritionnelles

Le miel a été utilisé pendant des centaines d'années comme un aliment glucidique à haute valeur énergétique assimilable par l'organisme par sa haute teneur en glucose et fructose, ses qualités nutritionnelles le rendent bénéfique aussi bien pour les personnes en bonne santé que pour les sujets malades. En effet, il améliore les performances physiques en augmentant l'endurance, en favorisant la récupération et en facilitant les efforts prolongés, notamment pour les sportifs. La qualité de la composition du miel en vitamines et oligo-éléments permet de charger l'organisme lorsque le besoin se fait sentir.

Enfin chez les jeunes, la consommation du miel, améliore la fixation du calcium sur les os et prévient l'anémie. Les infections circulatoires, le cœur et le foie seraient améliorés par l'absorption de miel en cours de convalescence et notamment les miels foncés qui ont la caractéristique d'être bénéfiques pour les anémies. Malgré tout, le miel seul ne pourra combler des carences importantes mais contribuera à les minimiser (Chepulis, 2008 ; Kumar, 2008 ; Singh, 2013).

Chapitre II : Matériels et méthodes

I-Objectif expérimental

Les objectifs de ce travail sont répartis en trois volets :

- La comparaison des échantillons de miel récoltés au centre d'Algérie de différentes origines botaniques du point de vue de leurs caractéristiques physico-chimiques.
- La détermination de la quantité en polyphénols totaux en flavonoïdes, afin d'expliquer leur activité antioxydante (activité antiradicalaire).
- L'étude de leur activité antibactérienne vis-à-vis de deux souches de deux colorations Gram différents.

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de recherches sur les plantes médicinales et aromatiques au département de Biotechnologies, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Saad Dahlab Blida 1.

II. Matériel biologique

II.1. Les échantillons de miel étudiés

Le choix de notre matériel biologique a porté sur cinq échantillons de miel récoltés dans la période 2019-2020, provenant de trois régions au centre d'Algérie. (Tableau II.1).

Tableau II.1 : Présentation des échantillons de miel étudiés

Type de miel	Région / localisation	Types de Milieu et Environnement des ruchers	Date de récolte
Eucalyptus (E1)	Blida (Chiffa)	Naturel : <i>Eucalyptus globulus</i>	Juillet 2020
Jujubier (E2)	Blida (Chiffa)	Naturel : <i>Zizyphus lotus</i>	Juillet 2020
Thym (E3)	Blida (Chiffa)	Naturel : <i>Thymus</i>	Septembre 2020
Chardon marie (E4)	Djelfa(Mesaad)	Naturel : <i>Silybummarianum</i>	Juillet 2019
Miel de forêt (multi floral) (E5)	Chlef (Beni Haoua)	Naturel : <i>Erica arborea, Fagus sylvatica</i>	Novembre 2019



A

B

C

D

E

Figure II.1 : photos des échantillons de miels étudiés (Originale, 2021)

A : miel d'eucalyptus

D : miel de chardon marie

B : miel de jujubier

E : miel de forêt (multi floral)

C : miel de thym

II.2. Les Souches bactériennes

a) *Escherichia coli* E.COLI (ATCC 25922) : Sont des bacilles Gram négatif, hôtes de L'intestin de l'homme et des animaux et très abondants dans les matières fécales. Ils Sont responsables d'intoxications, d'infections spontanées des voies urinaires et D'infections nosocomiales.

b) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) : Sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux, Cocci à gram positif aéro-anaérobie. Ce sont des agents de toxi-infections et d'infections nosocomiales.

III. Matériel non biologique

III.1. Les appareils utilisés

- pH mètre .
- Réfractomètre.
- Agitateur.
- Plaque chauffante.
- Spectromètre.
- Balance.
- Etuve.

- Autoclave.
- Hotte microbiologique.

III.2. Les réactifs utilisés

- DPPH.
- Folin-Ciocalteu.
- AlCl₃ (chlorure d'aluminium).
- Carbonate de sodium.
- Acide galique.
- Acide ascorbique.
- Quercétine.
- Méthanol.
- NaOH.
- Gelose nutritive.
- Mueller hilton.
- Eau physiologique.

IV. Méthodes d'analyse

IV.1. Les analyses physico-chimiques

Quatre paramètres physico-chimiques ont été déterminés : la teneur en eau, le pH, l'acidité libre et la conductivité électrique.

IV.1.1. La teneur en eau

La teneur en eau du miel est le critère de qualité qui détermine la capacité du miel à rester stable et à résister à une éventuelle détérioration (fermentation, cristallisation). La teneur en eau des échantillons de miel est déterminée par la mesure optique de l'indice de réfraction à 20°C (AOAC, 1995).

Si le miel est granuleux chauffer pendant trente minutes à 60°C. Il est indispensable d'agiter le récipient de temps à autre. Mélanger soigneusement et laisser refroidir rapidement dès que l'échantillon se liquéfie.

- Indice de réfraction (IR) :

Pour effectuer l'analyse de l'Indice de réfraction, on a utilisé un réfractomètre (Annexe 1) à 20°C, étalonné avec une goutte d'eau distillée. Ensuite une goutte de

miel est mise à l'aide d'une spatule sur le prisme du réfractomètre. La lecture de l'IR se fait lors de la stabilisation de la valeur affichée.

Convertir les résultats obtenus en pourcentage d'eau conformément aux indications du tableau de Chataway (Annexe 2).

Si la détermination est faite à une température différente de 20°C, corriger les résultats grâce aux coefficients de correction de température.

➤ Indice de réfraction :

$T^{\circ} > 20^{\circ}\text{C}$: ajouter 0.00023 par °C. $T^{\circ} < 20^{\circ}\text{C}$: soustraire 0.00023 par °C.

IV.1.2. Détermination du PH

La mesure du potentiel hydrogène d'une solution de miel se fait à l'aide d'un pH mètre (Annexe3)

• Les étapes de calcul du pH :

- Étalonnage de l'appareil : L'étalonnage de pH mètre s'effectue dès sa première utilisation. On considère une valeur de la température égale à celle de la solution d'étude (en pratique celle de laboratoire). On utilise des solutions tampons de pH 4 et pH 7. Plonger la sonde dans la solution de calibration PH 4 et attendre la stabilisation de la mesure. Recommencer l'opération avec la solution de calibration PH 7.
- Pour la mesure du pH de nos échantillons, les étapes suivantes doivent être réalisées :
 - Peser dans un petit bécher 3.33g du miel le dissoudre dans 25ml d'eau distillé.
 - Rincer l'électrode à l'eau distillée puis sécher là avec du papier joseph.
 - Placer la solution de miel a analysé sous agitation magnétique.
 - Plonger l'électrode propre et sèche dans la solution à analyser.
 - Attendre la stabilisation de la valeur du pH. (AOAC, 1990).
- La valeur du pH est directement lue sur l'écran de l'appareil.

IV.1.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique est un phénomène physique qui consiste à laisser passer librement les charges électriques dans un corps, Elle présente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel. Plus ces teneurs sont élevées, plus la conductivité électrique est importante.

Elle est déterminée par une conductivité mètre (Annexe 4) à 20°C d'une solution du miel à 20% (1V/5V), la lecture est faite directement après l'immersion de la cellule dans la solution. Les résultats sont exprimés en milliSimens/Cm (Benaziza et Schweitzer, 2010).

•Mode opératoire :

- Peser dans un petit bécher 5g du miel, le dissoudre dans un 25ml d'eau distillée.
 - Bien mélanger jusqu'à homogénéisation.
 - Placer la solution au bain marie régler à 20°C.
 - Plonger l'électrode du conductimètre dans la solution (lorsque la température est à 20°C±0.5°C).
 - Effectuer la lecture de la valeur qui s'affiche à l'écran.
- La conductivité du miel est mesurée en siemens par cm : s.cm⁻¹ conventionnellement la conductivité est donnée en 10⁻⁴ S.cm⁻¹. (VORWOHL, 1964).

IV.2. L'activité antioxydante

IV.2.1. Dosage des polyphénols totaux

- La teneur en phénols est déterminée selon la méthode de (VELIOGLU et al (1998). Cette dernière est basée sur la réaction colorée des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui est utilisée pour déterminer les phénols totaux dans l'échantillon. Lors de la réaction avec des phénols, le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit à un oxyde de couleur bleue. La coloration bleue produite possède un maximum d'absorbance à 725 nm (CHAABI et al., 2008 ; SARIC et al., 2012).

- 500 mg du miel dans 5ml d'eau distillée a été mélangé avec le réactif de Folin-Ciocalteu (2,5ml) et incubé pendant 5 minute à 22°C, puis la solution de carbonate de sodium (3,75 dans 50ml d'eau distillée) est ajoutée.
- après 2H à 22°C, l'absorbance a été mesuré à 725 nm.
- la gamme d'étalonnage d'acide gallique permet de déterminer la quantité des phénols totaux, les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique / g du miel (Saba et *al.*, 2011).



Figure II. 2: les étapes de dosages de polyphénols totaux (Originale, 2021)

IV.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon DJERIDANE et al (2006). Cette méthode est basée sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium avec un maximum d'absorption à 430 nm. La quercétine est utilisée pour la courbe d'étalonnage.

0,4g du miel a été dilué dans 1ml d'eau distillée est mélangé avec 5 ml de chlorure d'aluminium (2%) dilué dans 100ml méthanol. L'échantillon est incubé pendant 2h à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS, avec une gamme d'étalonnage de quercétine permet de déterminer la quantité des flavonoïdes totaux, les résultats sont exprimés en mg

d'équivalent quercétine/ g du miel (Saba et *al.*,2011).



**Figure II.3 : Les différentes concentrations de dosages des flavonoïdes
(Originale, 2021)**

IV.2.3. Test DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le Radical DPPH.

En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres Stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sien de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée, qui absorbe aux environs de 517nm. La réaction des radicaux DPPH avec un agent antioxydant entraine une décoloration de la solution (Marek Kus et *al.*, 2014 ; Shahidi et *al.*, 2015).

L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée selon Marek Kus et al. (2014). 1ml de la solution méthanolique de DPPH est mélangé avec 2 ml d'extrait de miel. Le Mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 20mn. L'absorbance est mesurée à 517 nm, un témoin est réalisé en parallèle, il est composé de 1 ml de la solution de DPPH et de 0.1 ml de méthanol.

La décroissance de l'absorbance est mesurée après 60 mn et le % IP (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule suivante :

- %IP = [(AT-AE)/AT*100]
- AT : Absorbance du témoin.
 - AE : Absorbance des échantillons.



Figure II.4: Mesure de l'absorbance des solutions de miels (Originelle, 2021)

IV.3. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des échantillons du miel étudiés vis-à-vis deux souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*).est déterminée selon la méthode décrite par Baydar et al.,(2004). Ce test est effectué par la méthode de diffusion de disque où les disques sont imbibés de chaque échantillon de différentes concentrations de miel (100%, 75%, 50%, 25%).

Des suspensions bactériennes d'une densité optique de 0,5 Mc Ferland (10^5 UFC/ml) doivent être préparées à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures). Préparer ensuite une dilution de 10^{-5} à partir des souches mères de 10^5 UFC/ml obtenus après standardisation, et un volume 1ml de chaque souche sera ensemencé par inondation dans les boites de pétri coulées de milieu gélosé Muller Hinton à une épaisseur de 4mm (figure II.5). L'excès est récupéré à l'aide d'une micropipette, et les boites sont mises à sécher pendant 15 minutes.

Les boites de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 3H pour une pré diffusion.

Après 24 à 48 heures d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition sera mesuré en mm et noté (Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible).

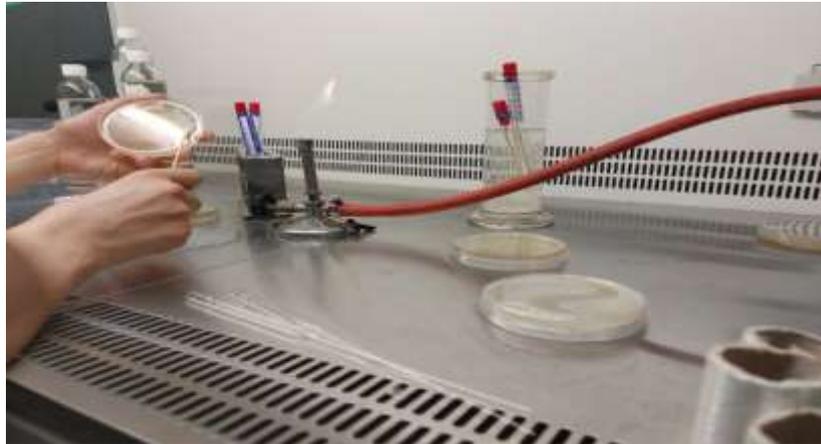


Figure II.5 : L'ensemencement des souches bactériennes sur le milieu de culture
(Originale, 2021)

V. Les analyses statistiques

L'analyse des données obtenues a été réalisée par le logiciel statistique GraphPad Prism version (8.0.1). Le test de corrélation de Pearson a été utilisé entre les variables des paramètres physicochimiques des miels étudiés. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Chapitre III : résultats et discussions

Dans cette partie, nous avons présenté les résultats des analyses des paramètres physicochimiques, antioxydante et antibactérienne des cinq types de miels étudiés.

I. Résultats des analyses physicochimiques

Les résultats des paramètres physicochimiques étudiés (La teneur en eau, pH, et la conductivité électrique) sont consignés dans le tableau III.1

Tableau III.1: Résultats des analyses physicochimiques des miels étudiés

Paramètre	PH	Teneur en eau (%)	Conductivité électrique (Ms-cm ⁻¹)
Eucalyptus	3,29666667	15,4	0,63566667
Jujubier	6,21333333	14,6	0,44433333
Thym	4,84666667	14,2	0,306
Chardon marie	4,01333333	14,6	0,26533333
Multi floral	4,17	17,2	0,35866667

I.1. La teneur en eau

L'eau est le second composant le plus abondant du miel après les sucres (Mehryar et *al.*, 2013). La teneur en eau influe sur la couleur de miel, sa viscosité, sa saveur, sa densité et sur son indice de réfraction, c'est le paramètre physicochimique le plus important pour l'étude de la conservation et la stabilité des nourritures en général (Cano et *al.*, 2001).

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la teneur en eau des échantillons étudiés varie entre 14,2±0 % et 17,2 ± 0,066 % (Tableau III.1, Figure III.1). La valeur de la teneur en eau la plus élevée est celle du miel multi floral (17,2±0,066%). Le jujubier et le chardon marie ont une teneur en eau similaire (14,6 %). En effet, cet intervalle est conforme aux normes internationales préconisées par le Codex Alimentaire (2001), indiquant ainsi un bon degré de maturité et une bonne conservation. Ces résultats sont similaires à ceux cités par Habib et *al.* (2014) (13,63 à 20,60 %), Makhoulfi et *al.* (2010) (13,9 à 20,2 %) et Haouam (2016) qui a trouvé des valeurs comprises entre 13,16 à 17,32% dans 30 échantillons de miels des régions arides du Nord Est algérien.

L'humidité va également modifier une série de propriétés du miel. Ainsi, un miel très sec devient très visqueux, filant et difficile à extraire et à filtrer, surtout en-dessous de 16 %. La vitesse de cristallisation d'un tel miel sera également ralentie. Une faible teneur en eau constitue une partie importante du système qui protège le miel contre l'attaque des microorganismes (Tysset et *al.*, 1980). Cependant, la teneur en humidité dépend de la température et de l'humidité relative en relation avec l'origine géographique du miel (Crane, 1979 cité par El Sohaimy, 2015).

Un miel trop humide aura contrairement aussi une vitesse de cristallisation ralentie. Un miel trop sec (< 16,5 %) perd de ses qualités organoleptiques car, assez pâteux, il va nécessiter de la part du dégustateur un apport en eau sous forme de salive, c'est pourquoi il n'y a pas intérêt à pousser trop loin la déshumidification d'un miel (Bruneau, 2008).

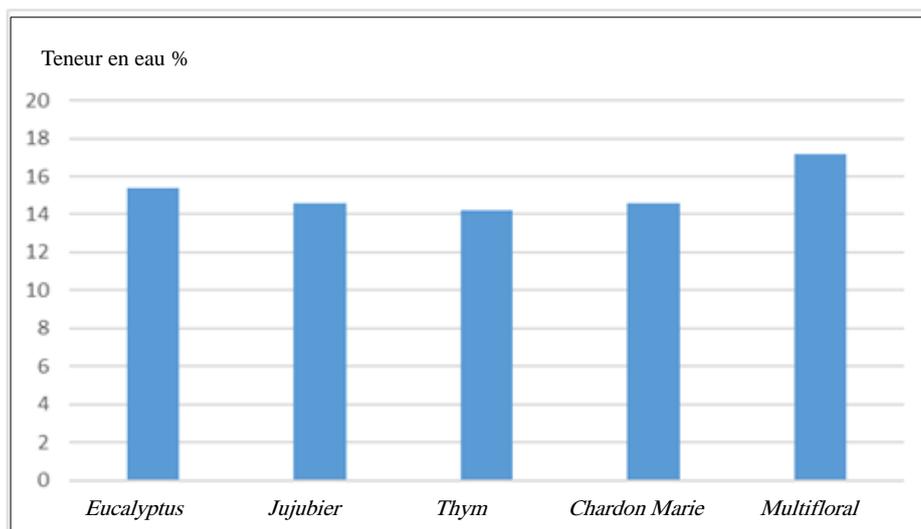


Figure III.1 : Résultats de la teneur en eau des échantillons de miels étudiés.

I.2. Le PH

Le pH représente un bon critère de qualité et qui figure dans les normes internationales. Il peut être utile dans la détermination de l'origine botanique du miel. IBRAHIM et *al* (2012), indiquent que le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne. Le pH du miel est important au cours du processus d'extraction, car il

affecte la texture, la stabilité et la durée de vie. Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (Malika et *al.*, 2005).

D'après la figure III.2, les valeurs de PH des miels analysés sont de 6,21 pour le miel de jujubier, 4,84 pour le miel de thym, 4,01 pour le miel de chardon marie, 4,17 pour le miel de forêt et 4,29 pour le miel d'eucalyptus. Ces résultats sont un peu plus élevés par rapport ceux de Achour et Khali, (2014) ont trouvé un PH de 3,66 du miel d'eucalyptus ; 3.58 pour le miel de chardon marie et 3.88 pour le miel d'eucalyptus (Yahia Mahammed, 2015 ; Belhaj et *al.*, 2015).

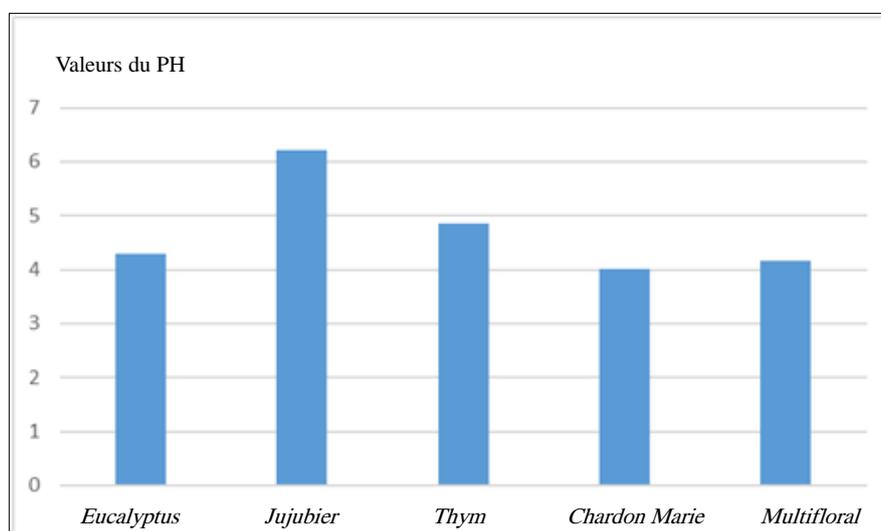


Figure III.2 : Valeurs du PH des échantillons de miels étudiés.

I.3. La conductivité électrique

Les résultats obtenus de la conductivité électrique des miels étudiés sont compris entre 0,265 à 0,635 mS/cm avec une moyenne de $0,402 \pm 0,114$ mS/cm.

Les miels de montagne et d'agrumes ont une conductivité électrique (CE) qui varie entre 0.11mS/cm et 0.33 mS/cm, Yahia Mahammed, (2015). Pour Belhaj et *al.*,(2015), les miels de forêt et d'eucalyptus montrent une CE qui varie entre 0.19 mS/cm et 0.37 mS/cm.

Yadata (2014) a trouvé que la conductivité du miel plus foncé est légèrement plus grande que le miel clair, ce qui indique que le miel plus foncé a plus de contenu minéral.

Une étude réalisée par Bogdanov et ses collaborateurs (2007) cité par Solayman et ses collaborateurs (2016), ont révélé des corrélations positives significatives entre la CE et la plupart des éléments minéraux (à l'exception de Pb et Cr) sur la base d'un examen de 95 échantillons de miel provenant de Suisse.

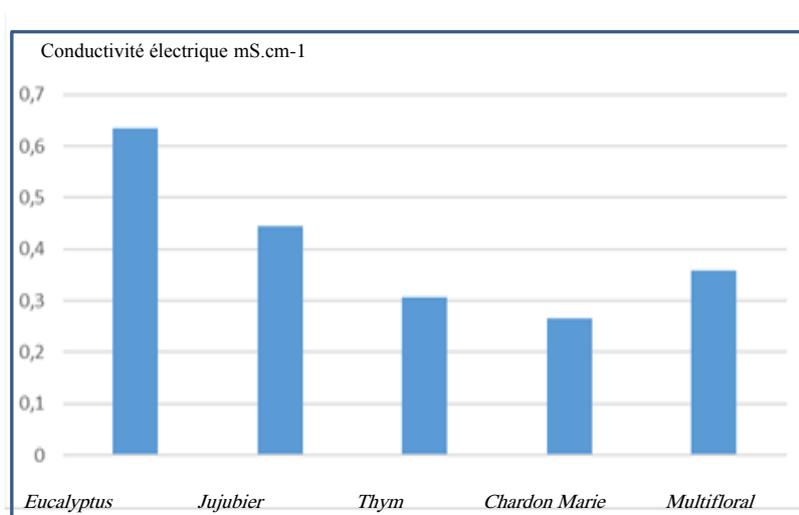


Figure III.3 : Résultats de la conductivité électrique des miels étudiés.

II. Résultats de l'activité antioxydante

Les résultats obtenus sur l'activité anti oxydante des miels étudiés sont consignés dans le tableau III.2

Tableau III.2 : Résultats de l'activité antioxydante des miels étudiés.

Echantillon	Teneur en polyphénols [mg GAE.kg-1]	Teneurs en flavonoïdes [mg REE.kg-1]	DPPH (IC 50) [mg.mL-1]
Eucalyptus	331,705	30,471	4,298
Jujubier	440,24	75,601	3,633
Thym	534,145	105,650667	3,472
Chardon marie	479,265	93,0353333	3,618
Multi floral	562,8	107,805	3,043

III.1. Les polyphénols totaux

Nos résultats montrent d'après la figure 03, des teneurs en polyphénols totaux des échantillons allant de $568,8043 \pm 21,950$ à $331,90 \pm 30,21$ mg EqAG/100g. Ces résultats sont élevés par rapport à ceux obtenus par Can et *al.* (2015) sur des miels de Turquie ($105,46-16,02$ mg EAAG/100g).

D'après Alvarez-Suarez et *al.* (2010) ; Sarmento Silva et *al.* (2013) et Boussaid et *al.* (2014), la variation des teneurs en polyphénols totaux pourrait être dû à la localisation géographique des différentes sources florales, étant donné que la source principale de ces composés est le nectar et les sécrétions végétales.

Meda et *al.* (2005) ont noté que les miels de miellat ont des concentrations plus élevées en ces composés par rapport aux autres types des miels.

Les miels foncés, opaques et non traités, présentent des teneurs élevées en ces substances phénoliques (Belasa et *al.*, 2007 et Wilczynsk, 2014). Ceci a été confirmé par notre étude où la teneur la plus élevée en polyphénols a été enregistrée pour le miel le plus foncé « multi floral », et la teneur la plus faible a été notée chez le miel le plus clair d' eucalyptus.

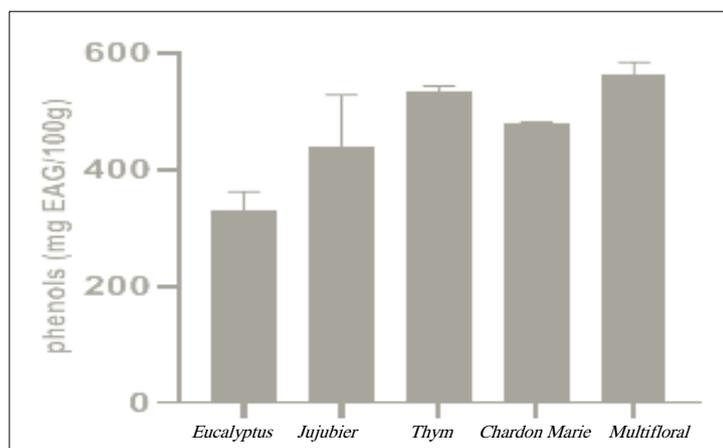


Figure III.4 : Résultats des dosages des polyphénols des miels étudiés.

II.2. Les flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont reconnus par leurs hautes activités pharmacologiques comme piègeurs des radicaux. L'intérêt pour ces substances a été stimulé par les avantages

potentiels pour la santé découlant de leurs activités antioxydantes, antiradicalaires contre les maladies coronariennes et le cancer et anti-inflammatoire (Habib et *al.*, 2014)

Le taux des flavonoïdes des miels analysés varie entre $107,805 \pm 7,727$ mg QE/100 g et $30,471 \pm 2,53$ mg QE/100 g (tableau III.2). Ces résultats ne correspondent pas à ceux obtenue par Habib et *al.* (2014). Ces derniers ont obtenu des teneurs très élevées en flavonoïdes qui varient entre 109,49 et 12,76mg/100g.

Ouchmoukh (2012) a identifié dans des miels polyfloraux 16 flavonoïdes qui appartiennent à 4 classes différentes : la classe des flavones (galangine, apignénine, chrysin et lutéoline), la classe des flavonols, les flavonones (isosakuranetine, pinobanksine, pinocembrine) et les isoflavones (génisteine et diadzéne). Selon Escuredo et *al.* (2012), la galangine et la pinocembrine ont des effets antimicrobiens.

D'après Meda et *al.* (2005) et Alvarez-Suarez et *al.* (2010), la couleur intense des miels foncés est en relation avec la teneur en flavonoïdes, ce qui a été constaté dans notre étude.

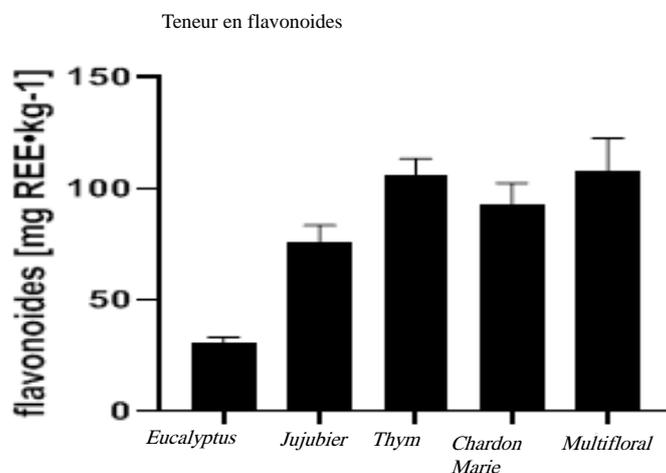


Figure III.5 : Résultats des dosages des flavonoïdes des miels étudiés

II.3.Le test DPPH

Le radical DPPH est largement utilisé pour la détermination du potentiel antioxydant des composés antioxydants. Ce radical, semi-stable, peut réagir avec

ces composés ; la réaction représente le transfert d'hydrogène ou d'électron de l'antioxydant vers le DPPH.

Nos résultats ont montré une forte activité antioxydante chez tous les échantillons de miels étudiés.

L'activité antioxydante varie en fonction de la teneur en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbiques caroténoïdes, les sucres, acides aminés...etc).

Une étude a établi que les miels portugais et ceux de la Slovaquie de couleur foncée ont des activités antioxydantes plus élevées que celles des miels de couleur claire (Estevinho et *al.*, 2008).

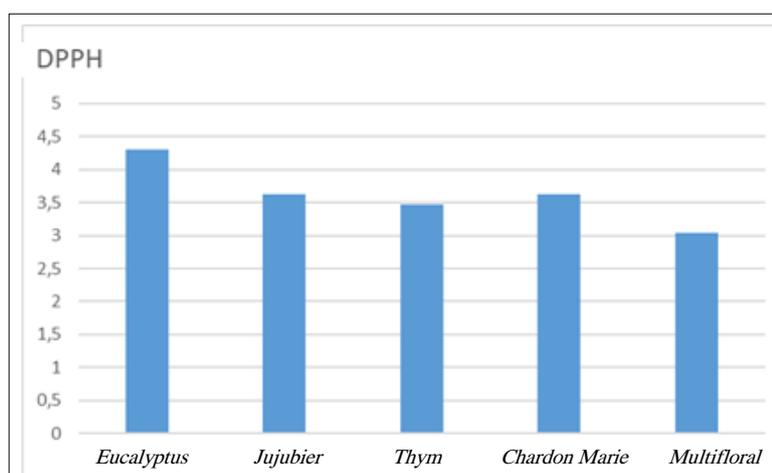


Figure III.6 : Résultats du test de DPPH

III. Résultats des analyses statistiques

III.1. Matrice de corrélation des paramètres étudiés:

Les résultats de l'analyse statistique bivariée des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante des miels étudiés, sont mentionnés dans le tableau III.3. Une corrélation positive (R de Pearson) a été enregistrée entre les paramètres suivants : les polyphénols totaux et flavonoïdes ($r=0,9679$), entre polyphénols totaux et le test de DPPH ($r=0,9247$), entre flavonoïdes et le test de DPPH ($r=0,8667$) et entre la conductivité électrique et le teneur en flavonoïdes totaux ($r=0,8503$). Aucune corrélation n'a été enregistrée entre les autres paramètres.

Tableau III.3 : Matrice de corrélation entre les différentes variables

Variable	ph	Teneur en eau	Conductivité électrique	polyphénols	flavonoïdes	DPPH
PH	-	0,1408	0,0621	0,06607	0,104	0,1080
Teneur en eau	0,1408	-	0,0255	0,05954	0,0095	0,1646
Conductivité électrique	0,0621	0,0255	-	0,7167	0,8503	0,5602
Polyphénols	0,06607	0,05954	0,7167	-	0,9679	0,9249
Flavonoïdes	0,104	0,0095	0,8503	0,9679	-	0,8667
DPPH	0,1080	0,1646	0,5602	0,9249	0,8667	-

IV : Résultats de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition de différentes dilutions des différents échantillons de miel. Ces mesures permettent de déterminer l'activité antimicrobienne du miel in vitro. Les résultats des antibiogrammes sont résumés dans le tableau III.4.

Tableau III.4 : L'antibiogramme de deux souches étudiées

Antibiotique	Pénicilline	Gentamicine	Streptomycine	Vancomycine
<i>E. coli</i>	12 mm	14 mm	9 mm	12 mm
<i>S.aureus</i>	09 mm	15 mm	17 mm	20 mm

Mutai *et al.*, (2002) ont donné une échelle d'estimation antibactérienne qui permet de classer les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm.
- Fortement inhibitrice : $21 \text{mm} \leq D \leq 29$ mm.
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{mm} \leq D \leq 16$ mm.
- Non inhibitrice : $D \leq 10$ mm.

Tableau III.5 : Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de *Escherichia coli* aux différentes concentrations des miels étudiés.

Concentration	100%	75%	50%	25%
Eucalyptus	39mm	37mm	31mm	28mm
Jujubier	9mm	8mm	8mm	8mm
Thym	13mm	10mm	9mm	8mm
Chardon marie	9mm	8mm	8mm	8mm
Multi floral(miel de forêt)	10mm	9mm	8mm	8mm

Tableau III.6: Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de *Staphylococcus aureus* aux différentes concentrations des miels étudiés

Concentration %	100%	75%	50%	25%
Eucalyptus	38mm	36mm	31mm	29mm
Jujubier	15mm	12mm	10mm	8mm
Thym	35mm	33mm	31mm	29mm
Chardon marie	39mm	35mm	31mm	29mm
Multi floral(miel de forêt)	18mm	14mm	10mm	8mm

Les miels purs d'Eucalyptus ont induit une activité anti bactérienne élevée avec des diamètres des zones d'inhibitions allant de 39mm à 28mm avec une forte inhibition à tous les concentrations.

Les miels purs de thym et multi floral donnent une activité faible vis-à-vis des deux souches avec des zones d'inhibitions allant de 18mm à 8mm et sont inactifs à des concentrations allant de 75%, 50%, 25%, 12.5%.

Selon Murat et al, (2007), le miel de *Lavandula officinalis* induit la plus faible activité antibactérienne avec des zones d'inhibitions inférieurs à 10 mm avec le miel pur et les concentrations 75% et 50%, mais une absence totale d'inhibition aux concentrations plus basse 25% et 12.5%

Nos résultats paraissent similaires à ceux des études de Sib (2007) qui a testé l'activité antibactérienne des miels sur deux types de *Staphylocoques* (*S. aureus* sauvage et *S. aureus* ATCC 25923), avec des zones d'inhibition allant de 29.34 mm à 34 mm.

La souche *Staphylococcus aureus* est très fortement sensible aux miels : miel de chardon marie (Benbareka et al., 2019) et au miel d'eucalyptus et de thym Belgherbi ,2020). D'après les mêmes auteurs, cette bactérie est résistante au miel de jujubier et au miel de forêt.

La souche *E.coli* est très fortement sensible aux miels de l'eucalyptus (Feddaoui, et al., 2013)

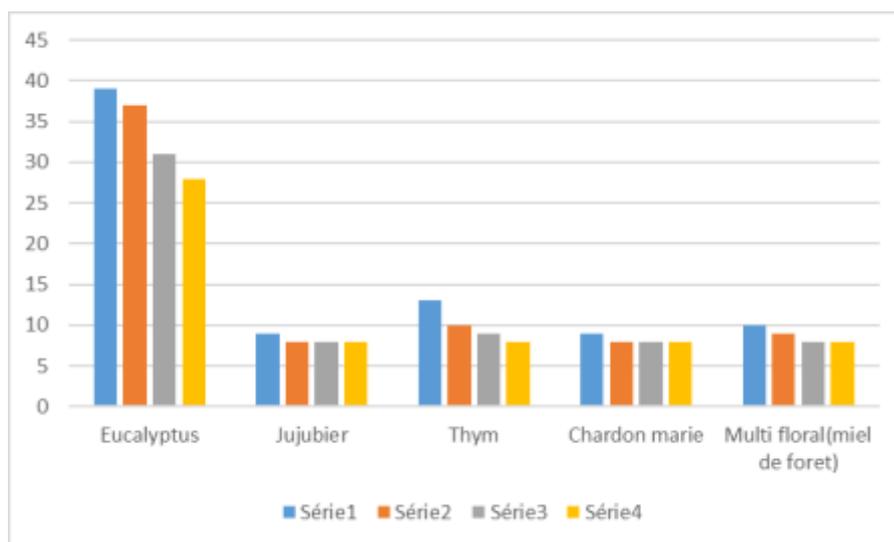


Figure III.7 :Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de *Escherichia coli* sous l'effet des concentrations des miels étudiés

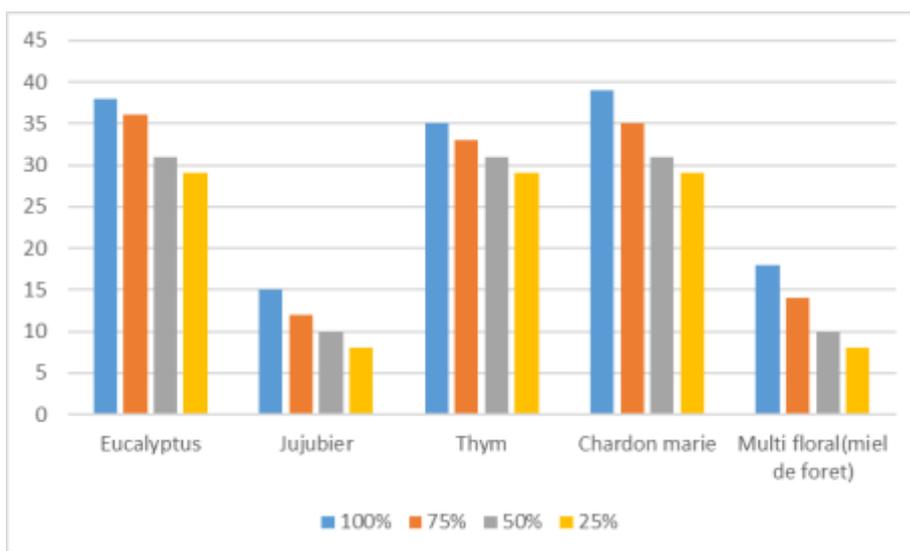


Figure III.8 : Diamètres des zones d'inhibition en mm de la souche de *Staphylococcus aureus* sous l'effet des concentrations des miels étudiés.

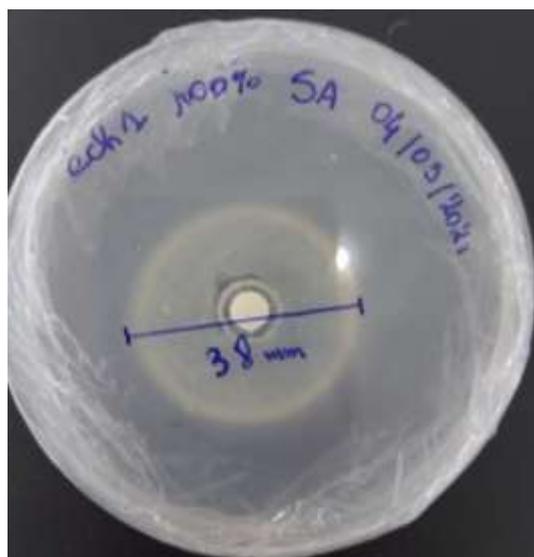


Figure III.9 : Diamètre de la zone d'inhibition de *S. aureus* à une concentration de 100% de miel d'eucalyptus



Conclusion

Ce travail a permis la caractérisation physico-chimique : la teneur en eau, pH, l'acidité libre et enfin conductivité électrique de cinq variétés de miel centre d'Alger et leur activité antioxydant et l'effet antibactérien vis-à-vis d'une souche bactérienne à Gram négatif dont et *Escherichia coli* et une autre à Gram positif *Staphylococcus aureus*.

L'analyse des paramètres physico-chimiques est un bon critère de qualité du miel, ces analyses des échantillons du miel étudié, montre une teneur en eau varie entre $14,2\pm 0$ % et $17,2\pm 0,066$ %, un pH acide enregistré chez tous les échantillons allant de $4,01\pm 0,04$ à $6,21\pm 0,18$, et une conductivité électrique comprise entre $0,265\pm 0,001$ et $0,635\pm 0,003$ (mS/Cm).

La concentration des phénols totaux du miel est de $331,90\pm 30,21$ à $568,804\pm 21,950$ (mg GAE/100 g), alors que la concentration des flavonoïdes allant de $30,471\pm 2,53$ à entre $107,805\pm 7,72$ (mg QE/100 g).

Les miels étudiés sont dotés d'une large activité antibactérienne sur les 2 souches testées avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre. Tous Les miels étaient efficaces sur *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les miels d'eucalyptus, thym, de chardon marie montrent une très bonne activité antibactérienne contre *S. aureus* à toutes les concentrations utilisées, excepté celui de jujubier qui avait une action nulle à toute les concentrations. Le mode d'action du miel comme agent antibactérien n'est pas bien élucidé. Cependant, il est actuellement reconnu que le caractère inhibiteur du miel est lié à ses propriétés physico-chimiques, ainsi qu'à la présence de plusieurs autres composants antimicrobiens appelés inhibines.

Liste des références

- 1) ALVAREZ-SUREZ J. M., TULIPANI. S, DIAZ D., ESTEVEZ Y., ROMANDINI S., GIAMPUH, F. & 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*.
- 2) AMIRAT A. 2014. Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de *Thymus algeriensis* de la région de Tlemcen. Master en biologie. Université Abou-Bekr Belkaid –Tlemcen.
- 3) ANCHLING F., 2005 - Raconte-moi le miel. L'abeille de France. APISERVICES, Galerie Apicole Virtuelle.
- 4) BADREN M.A.,2016- La situation de l'apiculture en Algérie et les perspectives de développement.
- 5) BARBONI T., 2006 - Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes EGE et de risques d'incendie. Thèse de doctorat, Univ. Bretagne.
- 6) BELGHERBI SIDOUMMOU D. 2020. Analyse comparative de la composition en principes actifs et activité antibactérienne de quelques miels. Master En Sciences de la nature et de la vie, Universite Saad Dahlab-Blida 1.
- 7) BELHAJ O, OUMATO J, ZRIRA S., 2015. Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains.
- 8) BENAMARA N. 2015, Evaluation de l'activité antioxydante de quelques échantillons de miel algériens, master en biologie Sciences Alimentaires, Université A. MIRA – Bejaia.
- 9) BENARD C., 2009 - Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de doctorat, Univ. France.
- 10) BENARD C., 2009 - Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de doctorat, Univ. France.
- 11) BENAZIZA B.D. et SCHWEITZER P., 2010 - Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie ; Cahiers Agriculture.

- 12) BENBAREKA O ,HAFSAOUI I. Etude de l'activité anti bactériennes de miel récolté de territoire algérien, Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en pharmacie. Université Saad Dahlab-Blida 1.
- 13) BLASA, M., CANDIRACCI, M., ACCORSI, A., PIACENTINI, M.P.& PIATTI, E. (2007). Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food Chemistry*.
- 14) BOGDANOV S., 1999. Stockage, cristallisation et liquéfaction des miels. Centre suisse de recherche apicole.
- 15) BOUSSAID, A., CHOUAIBI, M., REZIG, L., HELLAL, R., DONSI, F., FERRARI, G. & HAMDI, S. 2014. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*.
- 16) Bruneau E, 2008 : Humidité du miel, attention, abeilles & Cie.
- 17) BRUNETON J., 1999 - Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Paris.
- 18)CANO CB, FELSNER M.R, MATOS JR, BRUNS R.E, WHATANABE H.M AND ALMEIDA-MURADIAN L.B., 2001. Comparison of Methods for Determining Moisture Content of *Citrus* and *Eucalyptus* Brazilian Honeys by Refractometry, *Journal of Food and Analysis*.
- 19) CHAABI M., 2008 - Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr.(Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat, Univ.Louis Pasteur.
- 20) CHOUIA Amel 2014, Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain Zaâtout, magistère en Biologie, Université Mohamed Khider- Biskra
- 21)-CODEX ALIMENTARIUS., 2001 - Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires.
- 22)-CODEX STANDARD, 1981- Codex Alimentarius commission Standards.www.Codexalimentarius.net.
- 23) Commission du Codex Alimentarius. ALINORM. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.
- 24) DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI B., BOUTASSOUNA D., STOCKER P. and VIDAL N., 2006 - Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chem*.

- 25) DONADIEU Y.,1978 - Les Produits De La Ruche. Thérapeutiques naturelles. Edit, Maloine S. A, Paris.
- 26) ESCUREDO O., SILVA L.R.,VALENTAO P., SEIJO M.C.& ANDRADE P.B. 2012. Assessing *Rubus* honey value: Pollen and phenolic compounds content. *Food Chemistry*.
- 27) Estevinho, L., Pereira, A. L., Moreira, L., Dias, L. G. & Pereira, E. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*.
- 28) GAMET-PAYRASTRE L., MANENTI S., GRATACAP M.P., TULLIEZ J., CHAP H. and PAYRASTRE B., 1999 - Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*.
- 29) GONNET M. et VACHE G.,1985- Le gout de miel.Ed.UNAF, Paris.
- 30)HABIB, H. M., AL MAQBALI, F. T., KAMAL, H., SOUK, U. D. & IBRAHIM, W. H. (2014). Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honey from arid regions.*Food Chemistry*.
- 31) HADJ SALEM J., 2009 - Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat, Univ. France.
- 32) HAOUAM L, TAHAR A, DAILLY H,LAHRICHI A, CHAQROUNE A AND ABDENNOUR C. 2016. Physicochemical properties and major elements contents of Algerian honeys from semi-arid regions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*.
- 33) HARBORNE B., 1989 - Methods in plant biochemistry, plant phenolics. Academic press, London, UK.
- 34) IBRAHIM KHALIL MD. , MONIRUZZAMAN M., BOUKRAÂ L., BENHANIFIA M., ASIFUL ISLAM NAZMUL ISLAM MD., SITI AMRAH S AND SIEW HUA GAN. 2012. Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey Molecules, Jean-Prost P, (1987). Apiculture. Ed. Tec. Et Doc, 6ème édition.
- 35) KHAN M.K., 2010 - Polyphénols d'Agrumes flavanones : extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme glucuronides et étude physicochimique de leur interaction avec le sérum albumine. Thèse de doctorat, Univ. Marrakech.
- 36) LAOUAR H. 2017.- Analyses polliniques et physico-chimiques des miels du Nord Est algérien, DOCTORAT EN SCIENCES, Universite Badji Mokhtar – Annaba

- 37) MALIKA N., FAID M. and EL ADLOUNI C., 2005 - Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal Of Agriculture & Biology*.
- 38) MAREK KUS, P., CONGIU, F., TEPER, D., SROKA, Z., JERKOVIC, I. & TUBEROSO, C. I. G. 2014 - Antioxidant activity , color, characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six unifloral honey types. *LWT- Food Science and Technology*.
- 39) MEDA, A., LAMIEN, C. E., ROMITO, M., MILLOGO, J. & NACOULMA, O. G. 2005 - Determination of total phenolic, flavonoid and proline in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*.
- 40) MEHRYAR M., ESMAILI M. AND HASSANZADEH A. 2013. Evaluation of Some Physicochemical and Rheological Properties of Iranian honeys and the Effect of Temperature on its Viscosity. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*.
- 41) NKHILI EZ., 2009 - Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat, Univ. Marrakech, 320 p.
- 42) OUCHMOUKH S. 2012.- Caractérisation physicochimiques, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités anti oxydantes de miels algériens . Thèse de Doctorat. Université Abderrahmane Mira, 162 p.
- 43) PORTET B., 2007- Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *Berbicense*. Thèse de Doctorat, Univ. Toulouse, 270 p.
- 44) SABA Z.H., YUSOFF K.M., MAKPOL S. and YUSOFF M.A. Y., 2011- Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Journal molecules*.
- 45) Sarmiento Silva, T. M., Dos Santos, F. P., Evangelista-Rodrigues, A. E., Sarmiento da Silva, E.M., Sarmiento da Silva, G., Santo de Navais, J., Assis Ribeiro dos Santo, F. & Camara, C. A. 2015. Phenolic compounds, melissopalynological physicochemical analysis and antioxydant activity of jondiara (*Melipona Subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- 46) SCHMIDT A.V., 2013- Miel..
- 47) SCHWEITZER P., 2005 - Laboratoire d'Analyses et d'Écologie Apicole.

- 48) SOLAYMAN MD., ASIFUL ISLAM MD., PAUL S., ALI Y., MD., KHALIL I., ALAM N., AND HUA GAN S, 2016. Physicochemical Properties, Minerals, Trace Elements, and Heavy Metals in Honey of Different Origins,
- 49) TYSSET C, ROUSSEAU M AND DURAN C 1980. Microbism and whole someness of commercial honey. *Apiacta*,.
- 50) VELIOGLU, Y. S., MAZZA, G., GAO, L. and OOMAH, B. D., 1998 – Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*,.
- 51) VORWOHL G, 1964 - :Die Beziehung zwischen der elektrischen leitfähigkeit der honige und ihrer trachtmassigen herkunft . Ann de Abeille.
- 52) WINSTON M.L., 1993 - La biologie de l'abeille .Ed.Frison-Roche.Paris..
- 53) YAHIA MAHAMMED S, YAHIA MAHAMMED W., 2015. Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla, Djendel, Bathia , Bourached et Miliana. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Université Djilali Bounaama khemis miliana
- 54) YAICHE ACHOUR H et KHALI M., 2014. Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. Université Saad Dahlab, Blida 1. Afrique SCIENCE 10(2) (2014) 127 136.



Annexes



Annexe1 : Un réfractomètre(Originale, 2021)

Annexe 2 : Tableau 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		



Annexe 3 : pH mètre(Originale, 2021)



Annexe 4 : Conductimètre(Originale, 2021)