

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Mouloud Mammeri

جامعة مولود معمري

FACULTÉ DE MÉDECINE

كلية الطب

TIZI-OUZOU

تيزي وزو

Département de pharmacie



ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ ⵜⴰⵖⴰⵏⵜ ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N° D'ORDRE : /FM/DP/2020

Présentée et soutenue publiquement le : 28 JUIN 2020

En vue de l'obtention du diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

THÈME

**ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE
DU MIEL**

Réalisé par : BOURBIA Mohamed, HAMITOUCHE Lina & LITAMINE Lynda

Encadrées par : D^r IBOUKHOULEF Sabrina

Co-promotrice : D^r DJEBBAR Louiza

Membres du jury :

Dr. HADHOUM	N. MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Présidente du jury
Dr. IBOUKHOULEF	S. MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Promotrice
Dr. DAHMOUNE	A. MAHU	Faculté de Médecine UMMTO	Examinatrice
Dr. DJEBBAR	L. Résidente	Faculté de Médecine UMMTO	Co-Promotrice

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2019/2020

Dédicaces

Avec l'expression de ma profonde reconnaissance, je dédie ce modeste projet de fin d'études :

Avant tout à mes chers parents Hamitouche Abdelkader et Aouchar Djamilia qui ont tout sacrifié pour mon bien-être et qui ont su m'encourager et me motiver tout le long de mon cursus étudiantin, quoi que je dise je ne saurais les remercier comme il se doit.

Ainsi que mes deux frères qui m'ont toujours soutenue et poussée à aller de l'avant.

Sans oublier tous mes proches qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Une spéciale dédicace à mes amis et camarades avec qui j'ai partagé des moments pleins d'émotions et des souvenirs inoubliables.

LMA

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents qui m'ont doté d'une éducation digne, pour leur amour, leur soutien, leur encouragement et surtout leur patience, que dieu les garde et les protège.

A ma sœur Lilia, mes frères Amine, Khelifa et Toufik mes piliers qui sans eux je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui. Ils n'ont pas cessé de me conseiller, de m'orienter et de m'apporter leur amour.

A ma tante Aldjia et sa fille Ouiza qui ont toujours été là pour moi.

A madame Kedjem Farida la pharmacienne qui m'a ouvert les portes de son officine, une personne modeste et gentille digne de mon respect et mon estime.

A mes amies zahia, Dyhia, Karima, Zina, Sonia en leur souhaitant succès bonheur.

Lynda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À mes parents pour leur amour, leur confiance et leur soutien
tout au long de ces années.*

*À mon défunt grand père, puisse Dieu l'accueillir dans son
vaste paradis.*

À ma grand-mère, mes oncles et mes tantes.

À mes deux frères et À tous mes amis et proches.

Mohamed

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nos remerciements les plus sincères s'adressent tout d'abord à notre promotrice Dr Iboukhoulef Maitre Assistante en Hydro-bromatologie pour son soutien, son sérieux, sa disponibilité, ses orientations judicieuses et sa gentillesse.

Nous remercions également Dr Djebar notre co-promotrice résidente en microbiologie qui a été d'une précieuse aide pour l'élaboration de notre étude, on tient à lui exprimer notre reconnaissance pour sa contribution scientifique et pour tout le temps qu'elle a consacré pour nous.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à madame Slimani, ingénieur du laboratoire d'Hydro-bromatologie qui nous a accompagné tout le long de notre travail au niveau du laboratoire d'Hydro-bromatologie, ainsi qu'au Pr Mamou qui nous a ouvert les portes de son laboratoire de chimie analytique afin de pouvoir finaliser notre étude.

Nous voudrions remercier la présidente de jury : Dr HADHOUM et l'examinatrice Dr DAHMOUNE pour le temps qu'elles ont consacré pour évaluer notre travail.

Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse d'exercice.

Table des matières

LISTE DES ABRÉVIATIONS
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
LISTE DES ANNEXES

INTRODUCTION.....	1
OBJECTIFS.....	2

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LE MIEL

1. Historique.....	3
2. Définition.....	3
2.1. Miel de nectar.....	4
2.2. Miel de miellat.....	4
3. Types de miel.....	4
3.1. Miels monofloraux.....	4
3.2. Miels polyfloraux.....	5
4. Fabrication du miel par les abeilles.....	5
4.1. Butinage.....	5
4.2. Processus de transformation.....	7
5. Composition chimique du miel.....	7
5.1. Sucres.....	7
5.2. L'eau.....	8
5.3. Protides.....	8
5.4. Acides organiques.....	8
5.5. Sel minéraux	8
5.6. Vitamines.....	8
5.7. Essences aromatiques.....	8
5.8. Diastases des sucres.....	9
5.9. Grains de pollen.....	9
5.10. Facteurs antibiotiques.....	9
6. Conservation du miel.....	9
6.1. L'eau.....	9
6.2. Rôle des enzymes.....	10
6.3. L'hydroxyméthylfurfural.....	10
6.4. Fermentation et Pasteurisation.....	10
6.5. Date limite d'utilisation optimale	11

CHAPITRE II : CONTROLE QUALITÉ DU MIEL

1. Caractéristiques organoleptiques du miel.....	12
1.1. Couleur.....	12
1.2. Odeur.....	12

1.3. Gout et arômes.....	12
1.4. Cristallisation.....	14
2. Caractéristiques physiques.....	14
2.1. Densité ou poids spécifique.....	14
2.2. Fluidité et viscosité.....	14
2.3. pH et acidité.....	14
2.4. Indice de réfraction.....	15
2.5. Pouvoir rotatoire.....	15
2.6. Conductivité thermique.....	15
2.7. Conductivité électrique.....	15
2.8. Activité de l'eau.....	16
2.9. Hygroscopie.....	16
3. Caractéristiques chimiques.....	16
3.1. Hydroxyméthylfurfural (HMF).....	16
3.2. Teneur en eau	17
3.3. Activité diastasique (ou enzymatique)	17
3.4. Teneur en glycérol (glycérine)	18
3.5. Méliissopalynologie.....	18
3.6. Dosage des protéines	18
3.7. Dosage des sucres.....	19
3.8. Teneur en cendre	19

CHAPITRE III : PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU MIEL

1. Propriétés anti-oxydantes.....	20
2. Propriétés antibactériennes.....	21
2.1. Système peroxyde d'hydrogène (inhibine).....	21
2.2. Effet osmotique	22
2.3. Acidité.....	22
2.4. Viscosité.....	22
2.5. Facteurs phytochimiques.....	22
2.6. Défensine-1	22
3. Propriétés cicatrisantes	23

3.1. ph.....	23
3.2. Hydratation	23
3.3. Sucres.....	23
4. Propriétés nutritionnelles.....	24
5. Action contre les maladies cardiovasculaires.....	24
6. Propriétés digestives.....	24
7. Propriétés respiratoires.....	25
8. Propriétés sédatives et calmantes.....	25
9. Stimulation du système immunitaire et de la croissance cellulaire.....	25
10. Effet métabolique.....	25
11. Propriétés anticancéreuses.....	26
12. Propriétés spécifiques à chaque miel.....	26

PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	28
1. Type de l'étude.....	28
2. Lieu de l'étude.....	28
3. Durée de l'étude.....	28
4. Déroulement de l'étude.....	28
5. Échantillonnage.....	28
6. Matériels utilisés pour l'analyse physico-chimique.....	30
7. Matériels utilisés pour l'analyse bactériologique.....	33
8. Caractérisation physico-chimique.....	34
9. Evaluation de l'activité antibactérienne du miel.....	47
RÉSULTATS.....	55
1. Résultats de l'analyse physico-chimique.....	55
2. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel....	61
DISCUSSION.....	73
CONCLUSION.....	84

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

% : Pour cent

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

AgCl : Chlorure d'argent

aw : Activité hydrique (Water activity)

BBT : Bleu de BromoThymol

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

C₁₂H₂₂O₁₁ : Saccharose

C₆H₁₂O₆ : Glucose

cal.cm⁻¹.s⁻¹.°C⁻¹: Calorie par Centimètre par seconde et par Degré Celsius

CARI : Le Centre Apicole de Recherche et d'Information

CE : Conductivité électrique

cm : Centimètre

cm² : Centimètre carré

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CO₂ : dioxyde de carbone

Cu : cuivre

d : densité

DLUO : Date Limite D'utilisation Optimale

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E1 : Échantillon de miel 1

E2 : Échantillon de miel 2

E3 : Échantillon de miel 3

Fe : Fer

FFP2 : Pièce Faciale Filtrante

g/cm³ : Gramme par centimètre cube

g/kg : Gramme par kilogramme

h : Heure

HDL : High Density Lipoprotein

Hg : Mercure

HMF : Hydroxyméthylfurfural
I : Intermédiaire
IL-6 : Interleukine-6
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique (Français)
K : Potassium
kDa : Kilodalton
LDL : Low Density Lipoprotein
Log : Logarithme
méq/Kg : Milliéquivalent par kilogramme
mg/kg : Milligramme par kilogramme
MH : Mueller-Hinton
min : Minute
ml : Millilitre
Mn : Manganèse
mS/cm : MilliSiemens par centimètre
N : Normalité
nm : Nanomètre
p /v : Poids par volume
p : Pression de vapeur d'eau de l'aliment
p0 : Pression de vapeur d'eau de l'eau pure
pH : Potentiel Hydrogène
qsp : Quantité suffisante pour
R : Résistant
S : Sensible
TNF- α : Tumor necrosis factors alpha
UFC : Colony Forming Unit
UV : Ultraviolet
Zn : Zinc

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Propriétés et indications thérapeutiques plus spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux (DONADIEU, 1984).....	27
Tableau II : Présentation des échantillons de miel étudiés.....	29
Tableau III : Verrerie et consommable utilisés lors de l'analyse physico-chimique.....	30
Tableau IV : Appareils utilisés lors de l'analyse physico-chimique.....	31
Tableau V : Réactifs utilisés et leurs préparations.....	32
Tableau VI : Instruments utilisés lors de l'analyse bactériologique	33
Tableau VII : Milieux utilisés lors de l'analyse bactériologique	33
Tableau VIII : Appareils utilisés lors de l'analyse bactériologique	34
Tableau IX : Réaction d'inversion du Saccharose et les poids moléculaires correspondants..	44
Tableau X: Composition des solutions aqueuses de miel.....	45
Tableau XI : Résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons de miel.....	55
Tableau XII: Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.....	61
Tableau XIII : Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité du <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.....	62
Tableau XIV : Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.....	63
Tableau XV : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel...	65
Tableau XVI : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité du <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.....	66

Tableau XVII : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.....	67
Tableau XVIII : Résultats des CMI (mg/ml) pour les souches bactériennes testées.....	69
Tableau XIX : Résultats des CMB (mg/ml) pour les souches bactériennes testées.....	71
Tableau XX: Récapitulatif des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par l'aromatogramme..	78
Tableau XXI: Récapitulatif des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par la méthode de diffusion par puits.....	79
Tableau XXII : Évaluation de l'effet antibactérien intrinsèque des échantillons de miel avec le ratio CMB/CMI.....	82

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Anatomie interne de l'abeille.....	6
Figure 2 : Roue des odeurs et des arômes des miels.....	13
Figure 3 : Les trois échantillons de miel.....	29
Figure 4 : Réfractomètre à miel (Chincan FG116).....	35
Figure 5 : pH-mètre (Mettler Toledo)	36
Figure 6 : Conductimètre (Inolab cond 720 wtw series)	37
Figure 7 : Virage du jaune au vert foncé (Dosage par le NaOH)	38
Figure 8 : Pesée de 10 g de miel	41
Figure 9 : Agitation du mélange	41
Figure 10 : Filtration du mélange après repos.....	41
Figure 11 : Le mélange est porté à ébullition.....	42
Figure 12: Formation de l'oxyde cuivreux.....	42
Figure 13: Filtration sous vide.....	43
Figure 14 : Virage vers le rose (dosage Permanganimétrique).....	43
Figure 15: Solutions aqueuses du miel (solution échantillon, solution de référence)	46
Figure 16 : Spectrophotomètre UV-VISIBLE.....	46
Figure 17 : Dilutions des échantillons de miel.....	48
Figure 18 : Standardisation de la suspension bactérienne grâce au densitomètre.....	48
Figure 19 : Ensemencement de la suspension bactérienne.	49
Figure 20 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme.....	50
Figure 21 : Dépôt des disques et des dilutions de miel.....	50
Figure 22 : Réalisation des puits.....	51
Figure 23 : Préparation de la gamme de dilutions	52
Figure 24 : Suspensions bactériennes standardisées.....	53
Figure 25 : Réalisation des CMB.....	54
Figure 26 : Représentation graphique du taux d'humidité de chaque échantillon de miel analysé.....	55
Figure 27 : Représentation graphique de la valeur du degré Brix de chaque échantillon de miel analysé.....	56
Figure 28 : Représentation graphique de la densité de chaque échantillon de miel analysé...	56

Figure 29 : Représentation graphique de la valeur de pH de chaque échantillon de miel analysé.....	57
Figure 30 : Représentation graphique des résultats de conductivité électrique de chaque échantillon de miel analysé.....	58
Figure 31 : Représentation graphique de l'acidité libre des différents échantillons de miel..	58
Figure 32 : Taux de sucres réducteurs des différents échantillons de miel.....	59
Figure 33 : Taux de saccharose des différents échantillons de miel.....	60
Figure 34 : Représentation graphique du taux d'HMF des différents échantillons de miel...	60
Figure 35 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis d' <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922).....	62
Figure 36 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	63
Figure 37 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853).....	64
Figure 38 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) par méthode de diffusion en puits.....	66
Figure 39 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) par méthode de diffusion en puits.....	67
Figure 40 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) par méthode de diffusion en puits.....	68
Figure 41 : Résultat de la CMI (128mg/ml) pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (lecture par comparaison au témoin +).....	70
Figure 42 : Résultat de la CMI (128mg/ml) pour <i>Staphylocoque aureus</i> (lecture par comparaison au témoin +).....	70

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Composants du réfractomètre Chincan FG 11.

Annexe II : pH-mètre.

Annexe III : Conductimètre.

Annexe IV : Table de conversion des sucres en mg.

Annexe V : Table de correspondance des sucres invertis.

Annexe VI : Action de l'invertase sur le saccharose.

Annexe VII : Formation de l'hydroxyméthylfurfural.

Annexe VIII : Résultats des antibiogrammes des souches bactériennes testées.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La connaissance et l'utilisation du miel par l'homme remonte aux temps les plus reculés de son histoire et fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité.

Le miel constitue une source abondante de matières sucrées, c'est un assemblage complexe, fruit de l'interaction entre les fleurs butinées, le sol et les systèmes métaboliques liés à la singularité génétique des abeilles [1].

Au cours des cinquante dernières années, l'impact des maladies infectieuses n'a cessé de croître dans le monde. Cela revient généralement aux phénomènes de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels dont le miel en fait partie de par ses propriétés thérapeutiques et antibactériennes.

La production de miel en Algérie reste très basse par rapport aux potentiels mellifères que le pays possède, en effet la diversité végétale et les conditions climatiques favorables pour les abeilles ainsi que les ressources naturelles très variées des zones rurales du littoral pourraient si elles sont bien exploitées propulser la production nationale du miel.

Dans le présent travail, on va s'intéresser à l'activité antibactérienne de trois échantillons de miel récoltés dans différentes régions d'Algérie sur certains germes de référence (ATCC).

Notre étude sera scindée en deux parties :

- Une partie théorique comprenant trois chapitres où nous présenterons les connaissances bibliographiques actuelles sur le miel, en particulier l'aspect contrôle qualité ainsi que les principales propriétés biologiques du miel.

- Une partie expérimentale, qui quant à elle, comprendra le choix de l'échantillonnage effectué ainsi que les méthodes utilisées pour les analyses physico-chimiques et l'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel, puis nous présenterons les différents résultats obtenus et leur discussion par rapport aux références issues de la synthèse bibliographique.

Notre étude finira par une conclusion générale résumant les résultats obtenus en donnant les principales perspectives.

OBJECTIFS

OBJECTIFS

Le présent travail a pour principal objectif la recherche de nouvelles alternatives, naturelles et disponibles en Algérie, aux agents antimicrobiens de synthèse.

Pour atteindre cet objectif on a choisi d'étudier trois échantillons de miel de différentes régions du pays sur deux volets :

- Analyse physico-chimique pour vérifier la conformité de nos échantillons.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des trois échantillons de miel vis-à-vis de certains micro-organismes de référence.

PREMIÈRE PARTIE :
PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE I :
GÉNÉRALITÉS SUR LE MIEL

1. Historique

La plus ancienne représentation des relations Homme- Abeille date de la période du Néolithique : elle concerne une peinture rupestre datant de 7 000 ans avant Jésus- Christ, trouvée sur les parois d'une grotte espagnole de la région de Valence, et montrant une Silhouette humaine pratiquant la récolte du miel à l'aide d'un panier.

En Egypte, l'abeille était exploitée dès 2 400 ans avant Jésus-Christ. Le miel était alors largement utilisé comme édulcorant, il entrait aussi dans la composition de médicaments et dans celle des parfums préparés dans les temples.

Le papyrus égyptien du XVI^e siècle avant notre ère, a permis de découvrir une quantité de préparations à base de miel guérissant toutes les blessures, maladies du tube digestif, des reins, des yeux, etc.

Dans la Grèce antique, les athlètes ne pénétraient jamais dans une arène ou dans un stade sans qu'ils aient préalablement absorbé du miel.

Les Romains étaient persuadés que le miel faisait partie des aliments qu'appréciaient les morts et ainsi, ils les embaumaient fréquemment dans le miel. Le miel était également employé pour ses propriétés médicinales. Ainsi, Dioscoride recommande de l'utiliser cuit avec du sel gemme pulvérisé afin de guérir les plaies, les douleurs d'oreilles et autres maux, Galien le préconise pour combattre l'inflammation des tissus et Pline décrit ses nombreux effets bénéfiques.

Le fait qu'Hippocrate ait largement contribué à préconiser l'utilisation du miel en alimentation et en médecine n'est pas le fruit du hasard, car il connaissait bien ses vertus bénéfiques en diététique, et certaines de ses propriétés thérapeutiques, en particulier le fait que, cuit avec du chou, il s'avérait excellent pour traiter la colique et la dysenterie, qu'il facilitait la cicatrisation des plaies, le préconisait contre les ulcères et les hémorroïdes, associé au mélilot, etc. [1].

2. Définition

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[2].

2.1. Le miel de nectar

C'est le miel qui provient des nectars de plantes, il est obtenu essentiellement à partir des nectars des fleurs, il contient environ 90% de sucres, des acides organiques, des protéines, des acides aminés libres et des composés inorganiques [2].

2.2. Le miel de miellat

Le miellat est la substance excrétée par les pucerons et cochenilles qui parasitent les végétaux. Ils aspirent la sève de divers arbres ou arbustes et rejettent par l'anus l'excès de sucres et d'eau qu'elle contient. Les abeilles récoltent ensuite ce miellat sur les végétaux et le transforment en miel. Sa production est aléatoire d'une année sur l'autre puisqu'elle dépend de la présence des parasites, et donc, des conditions climatiques qui leur sont ou non favorables. Les miels de miellat ont souvent une teinte foncée, ils cristallisent moins rapidement, contiennent moins de glucose et de lévulose mais davantage de sucres supérieurs que les miels de nectar [3].

3. Types de miel

Les abeilles peuvent produire divers types de miel suivant la région dans laquelle elles vivent et les fleurs (plantes et arbres) qui y sont présentes [4].

3.1. Miels monofloraux

Comme leur nom l'indique, les miels monofloraux sont en principe issus d'une seule variété florale, mais il est dans la pratique impossible de certifier que les abeilles ont bien butiné le nectar de cette seule et unique variété à cent pour cent !

On considère qu'un miel est monofloral s'il provient d'une seule et même variété à 80 %. Même si la floraison d'une variété est abondante et bien localisée, il suffit parfois de quelques facteurs imperceptibles pour l'homme (un changement de vent dominant, de température, d'hygrométrie) pour que les abeilles décident d'aller un peu plus loin, là où d'autres variétés sont également en train de fleurir [5].

Les principaux miels monofloraux :

- Miel de bruyère callune ;
- Miel d'eucalyptus;
- Miel de lavande;

- Miel de romarin;
- Miel de saule;
- Miel de thym;
- Miel de tournesol [5].

3.2. 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...) [6].

Les principaux miels polyfloraux :

- Miel de causse ;
- Miel de haute montagne ;
- Miel de maquis ;
- Miel de montagne ;
- Miel de printemps ;
- Miel de forêt ;
- Miel de garrigue [6].

4. Fabrication du miel par les abeilles

4.1. Butinage

Pour récolter du nectar et du pollen, les abeilles peuvent parcourir plusieurs kilomètres.

Le nectar est un liquide sucré sécrété par les plantes. Le pollen, lui, est une fine poussière produite par les organes mâles de la fleur appelés étamines.

La fonction de l'étamine est d'atteindre le pistil, l'organe femelle des fleurs et de féconder l'ovule. L'abeille, en allant chercher le nectar et le pollen, pollinise donc de nombreuses plantes.

Lorsqu'une butineuse arrive sur une fleur, elle aspire le nectar avec sa trompe. Celui-ci est ensuite stocké dans une poche réservoir appelée jabot. Le jabot est un renflement de l'œsophage de l'abeille [7].

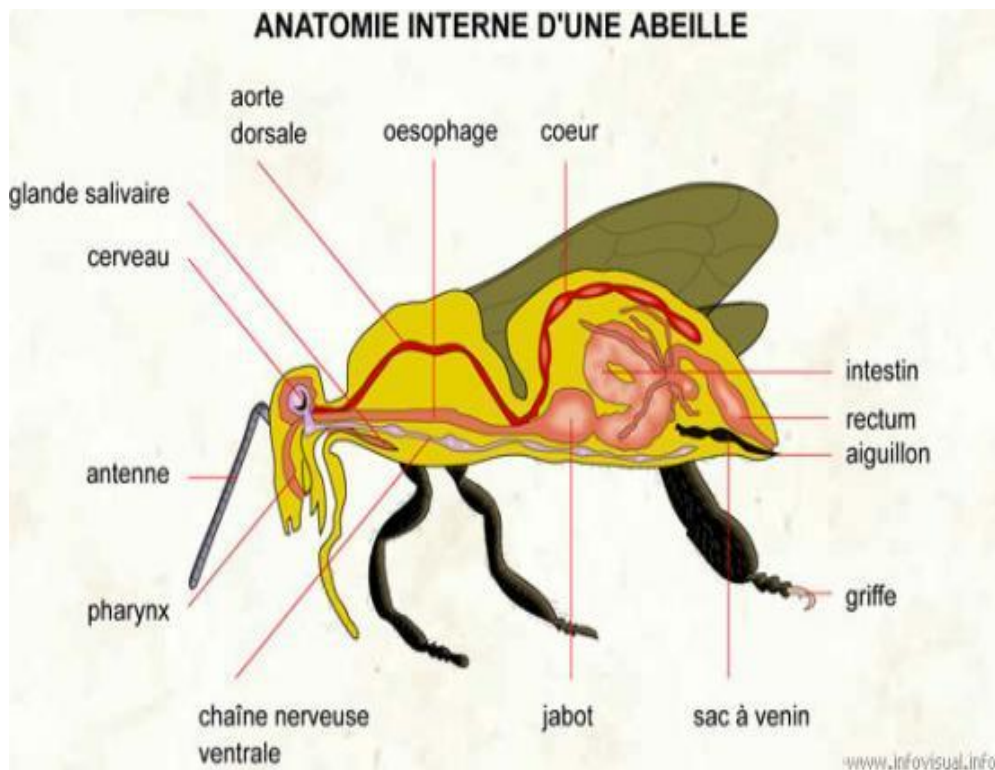


Figure 1 : Anatomie interne de l'abeille [8]

Les abeilles butinent également le miellat. Cette substance se présente sous forme de gouttelettes sucrées fixées sur les feuilles des végétaux. Le miellat est fabriqué par de petits animaux comme les pucerons. Ces derniers se nourrissent de la sève et rejettent ce qu'ils ont en trop sous la forme de ces petites gouttelettes. Lorsque la quantité de nectar sur leur zone est insuffisante les abeilles le récolte [9]. On trouve du miel de miellat vers les milieux boisés riche en sève [7].

Pour récolter le pollen, l'abeille gratte les étamines. Avec sa bouche, elle humecte le pollen de quelques gouttes de nectar régurgitées. Avec ses pattes, elle fabrique une boulette de pollen bien collante, qu'elle stocke dans son « panier à pollen » situé sur ses pattes arrières. Ainsi, elle peut constituer deux pelotes de pollen.

Lorsque, enfin elle rentre dans sa ruche elle dépose son chargement de pollen dans les cellules de stockage [7].

4.2. Processus de transformation

Le nectar, lui, est converti en miel par les abeilles grâce à leur salive riche en invertase (enzyme de la famille des saccharases) permettant l'hydrolyse du saccharose : la molécule de saccharose est séparée en une molécule de fructose et une molécule de glucose. Le nectar passe dans le jabot d'ouvrières ou de mâles qui y ajoutent leurs salives et sucs digestifs ; au fur et à mesure qu'il passe d'abeille en abeille, ce mélange s'enrichit, se transforme, se concentre pour devenir du miel. Il est ensuite placé dans des alvéoles.

Durant le processus de transformation, des « ventileuses » maintiennent la température de la ruche à environ 36°C- 37°C en battant leurs ailes pour ventiler la ruche. Cela permet au miel de perdre plus de la moitié de son eau et d'arriver à une composition de 18% d'eau et 80% de glucose et fructose. Une fois que le miel a sa composition finale, les abeilles referment les alvéoles remplies d'une mince couche de cire pour le stocker. L'alvéole ne sera rouverte que lorsque que les abeilles auront besoin de miel. C'est là qu'il achèvera sa transformation biochimique [7].

Quelques chiffres :

- Une abeille visite entre 3000 et 4000 fleurs et parcourt environ 25 kilomètres pour rapporter environ un demi-gramme de nectar par jour.
- Les abeilles font environ deux fois le tour du monde et butinent 1 million de fleurs pour faire 1 kilogramme de miel.
- Le jabot a une capacité de 50 à 70 µl [7].

5.Composition chimique du miel

5.1. Sucre

Contrairement aux sucres extraits et raffinés à partir de la canne ou de la betterave, les sucres contenus dans le miel ne sont pas des saccharoses.

Le Saccharose est un Disaccharide (sucre complexe) qui, pour être assimilable, doit être décomposé en plusieurs molécules de sucres simples, dont le glucose et le fructose.

Les sucres du miel sont composés de glucose et de lévulose directement assimilables par le sang. Ils n'ont donc pas besoin d'être digérés par l'organisme.

Il contient aussi des traces d'autres sucres dont le saccharose [10].

5.2. L'eau

Avec un pourcentage variable suivant les saisons et le moment choisi pour la récolte [10].

5.3. Protides

Substances azotées indispensables à la construction des cellules du corps humain. Les protides sont les constituants essentiels des cellules des aliments de croissance : viandes, poissons, œufs, etc.

L'intérêt de ces protides serait restreint s'ils ne contenaient pas des acides aminés indispensables et dont le corps humain ne peut faire la synthèse [10].

5.4. Acides organiques

Dont les plus intéressants semblent être l'acide formique, responsable en partie des qualités bactéricides et toniques du miel, ainsi que l'acide gluconique dont l'origine serait une bactérie, appelée gluconobactérie, qui, lors de la maturation du miel, transformerait le glucose en acide gluconique [10].

5.5. Sels minéraux

Le miel contient plusieurs sels minéraux dont les sels : de calcium, de cuivre, de fer, de magnésium, de phosphore, de potassium, etc.

A savoir : les miels clairs sont moins riches en matières minérales que les miels foncés (notamment en fer et en manganèse) [10].

5.6. Vitamines

En quantités infimes et qui ne peuvent couvrir les besoins quotidiens de l'homme, mais intéressantes sur le plan qualitatif, au niveau du métabolisme général. Sont présentes toutes les vitamines du groupe B, indispensables au métabolisme des sucres et au bon fonctionnement du système nerveux.

Les miels les plus riches en vitamines sont ceux de romarin, de lavande, de thym, de sauge, et surtout de luzerne [10].

5.7. Essences aromatiques

Ils sont responsables de la saveur et de l'arôme [10].

5.8. Diastases des sucres

Les diastases des sucres sont des éléments capables d'en faciliter la digestion, ils sont sensibles à la chaleur [10].

5.9. Grains de pollen

Les grains de pollen que contient le miel sont représentatifs de la flore de la région. La reconnaissance à l'analyse de ces grains de pollen permet de déceler les fraudes de provenance [10].

5.10. Facteurs antibiotiques

Le miel contient des facteurs antibiotiques sensibles à la lumière et à la chaleur, tel que la glucose oxydase, une enzyme qui participe à la production de l'eau oxygénée une des principales inhibines contenues dans le miel.

Il apparaît donc que le miel est une substance complexe, riche d'éléments indispensables à l'équilibre organique. De ce simple fait, sa consommation comme élément sucrant semble préférable à celle du saccharose, parfaitement inerte [10].

6. Conservation du miel

Lors de sa conservation sur de longues périodes, le miel subit des modifications de sa composition chimique. Sa coloration devient plus intense. Son taux d'HMF augmente avec une évolution plus rapide dans la 2^{ème} année de conservation. L'acidité libre augmente. La teneur en glucose diminue, tout comme les activités enzymatiques. Ces phénomènes sont ralentis lorsque le miel est conservé à une température aux environs de 14°C [11].

6.1. L'eau

Le miel est une solution aqueuse ; or les microorganismes ont besoin d'eau pour se développer. Une teneur trop importante d'eau dans le miel constitue un environnement favorable à la prolifération de ces microorganismes : il se produit alors un phénomène de fermentation.

Pour éviter ce désagrément, l'apiculteur doit veiller à ce que le miel récolté soit suffisamment sec. Idéalement, la teneur en eau d'un miel ne doit pas dépasser 18%.

Le codex alimentarius (ensemble de normes alimentaires internationales sur la qualité et l'innocuité des aliments élaborées par la Commission mixte Food and

Agriculture Organization - Organisation mondiale de la santé) limite à 21% la teneur en eau des miels. Seuls les miels de Bruyère et de Trèfle peuvent avoir une teneur supérieure sans toutefois dépasser 23% [12].

6.2. Rôle des enzymes

Les miels contiennent des enzymes qui viennent des abeilles ou des insectes qui ont rejeté les miellats (pucerons, cochenilles...).

Les enzymes sont des protéines fragiles qui vont se dégrader lentement et ce processus est accéléré par la chaleur. En fonction de l'origine botanique du miel, la quantité d'enzymes présentes varie fortement.

La mesure de l'activité des enzymes va indiquer si le miel a subi ou non une dégradation. Deux enzymes peuvent être analysées dans le miel : l'amylase et l'invertase. La mesure de leurs activités permet de savoir si un miel a été chauffé ou conservé à une température trop élevée. Normalement, les opérations réalisées par l'apiculteur de la récolte au conditionnement ne portent pas préjudice à ces enzymes [12].

6.3. L'hydroxyméthylfurfural

Les monosaccharides, et tout particulièrement le fructose, sont dégradés en milieu acide par déshydratation moléculaire avec formation d'hydroxyméthylfurfural (HMF). Le taux d'HMF est le critère le plus fiable pour déterminer l'âge d'un miel ainsi que son éventuelle dégradation.

Ni les nectars, ni les miellats, ni les miels frais ne contiennent de l'HMF, ce produit se forme très lentement au fil du temps et son évolution est exponentielle. La production de HMF est favorisée par la forte teneur en fructose et par l'acidité du milieu [12].

6.4. Fermentation et Pasteurisation

Le miel a une tendance naturelle à fermenter s'il n'est pas conservé au sec et de manière hermétique. Lors de la fermentation, les qualités organoleptiques du miel et ses propriétés sont détériorées. Pour ralentir ce processus, il est possible de pasteuriser le miel au même titre que le lait. La technique et ses conséquences sur la qualité du miel ont été décrites par des chercheurs de l'INRA en 1964. Sous réserve de ne pas dépasser une température de 78°C et

un temps de pasteurisation de 6 minutes, les conséquences de la pasteurisation sur la qualité du miel peuvent être considérées comme minimales. Les avantages sont une stabilisation du miel à l'état liquide pendant au moins 6 mois et une garantie contre toute fermentation ultérieure [13].

6.5. Date Limite D'utilisation Optimale

Jusqu'à la Date Limite D'utilisation Optimale (DLUO) le miel doit conserver ses propriétés sensorielles et physico-chimiques. Cette date limite garantit au consommateur que le miel possède toutes ses qualités. Généralement la DLUO est de deux ans [12].

PREMIÈRE PARTIE :
PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE II :
CONTROLE QUALITÉ DU MIEL

1. Caractéristiques organoleptiques du miel

1.1. Couleur

En fonction de ses origines florales et géographiques, le miel peut présenter différent coloris. Il existe des miels limpides comme de l'eau, des miels jaunes, ambrés, verdâtres, rougeâtres, et certains presque noirs. La couleur d'un même miel peut varier d'une année à l'autre.

Des comparateurs visuels sont utilisés. Un centimètre de miel liquide est, à la lumière blanche solaire, comparé à la couleur de verres colorés et numérotés, inclus dans deux disques, l'un pour les miels clairs, l'autre pour les miels foncés. La mesure est généralement convertie en unités Pfund [14].

1.2. Odeur

Les odeurs du miel varient considérablement mais s'évaporent très rapidement. Elles sont végétales, puissantes ou non, florale ou fruitées, fines, lourdes, vulgaires.

Certains miels peuvent avoir une odeur de fumée, de métal de fermentation ou de produits chimiques cet état pourrait provenir des manipulations de l'apiculteur, c'est un défaut ne doit pas être perceptible [15].

1.3. Goût et arômes

Suivant son origine florale, le miel peut présenter une grande variété de saveurs et d'arômes différents. Il existe une roue des odeurs et des arômes (figure 2) qui permet de décrire, les sensations perçues tant au niveau olfactif que gustatif lors de la dégustation d'un miel.

Le Centre Apicole de Recherche et d'Information (CARI) est une association wallonne à but non lucratif qui œuvre pour la promotion et le développement de l'apiculture. Le CARI a mené des recherches sur les saveurs et les arômes des miels et a réalisé une roue des odeurs et des arômes [12].

RONDE DES AROMES DE MIEL

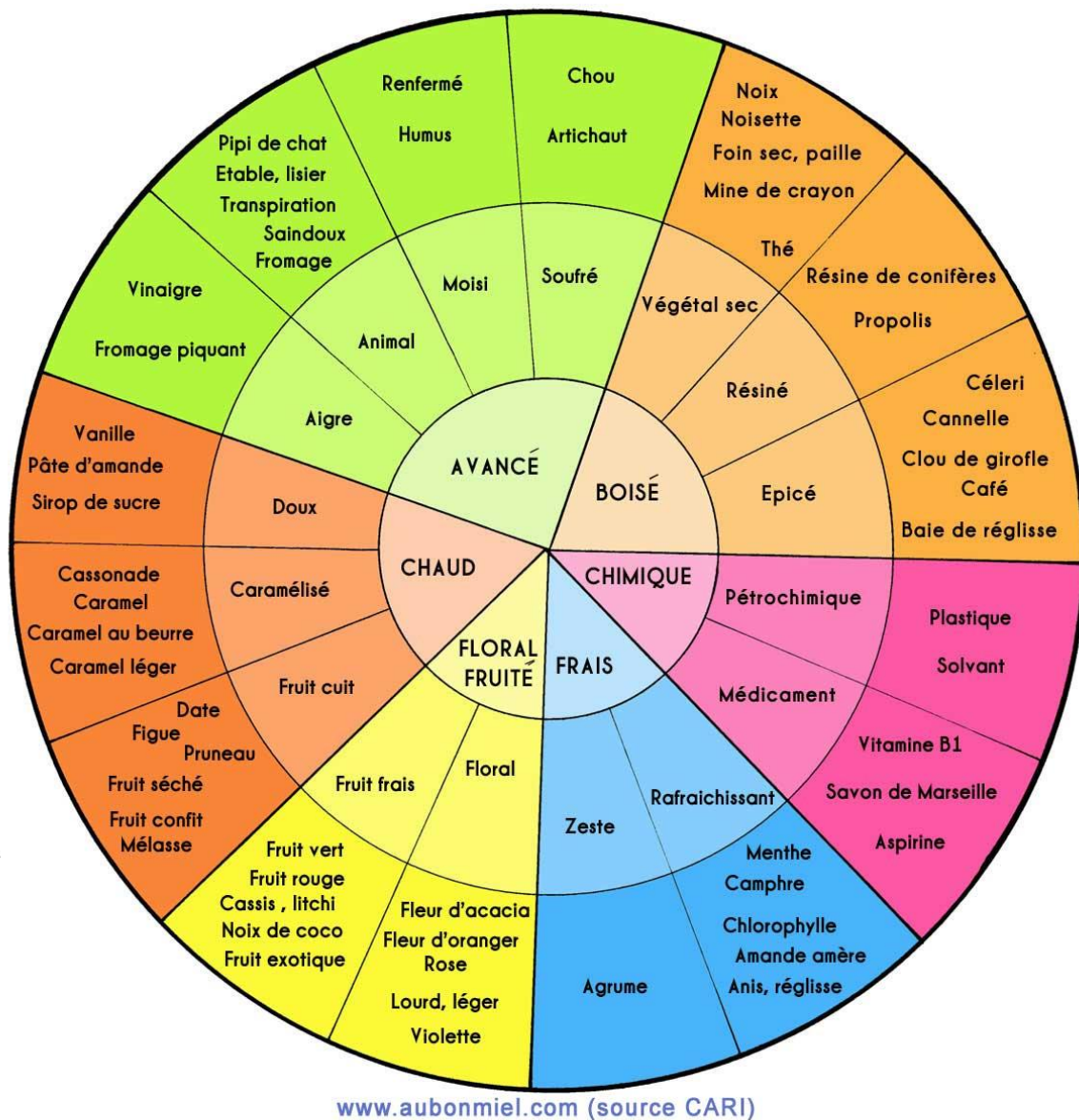


Figure 2 : Roue des odeurs et des arômes des miels [16].

1.4. Cristallisation

Cristallisé finement ou grossièrement, dur ou souple, pâteux ou liquide, le miel peut se présenter sous de nombreux aspects.

S'il est parfaitement fluide au moment de son extraction, le miel ne reste cependant pas dans cet état de façon indéfinie. La vitesse de cristallisation varie avec la composition en sucres, la teneur en eau, la température de conservation.

Certains miels cristallisent dans les jours qui suivent la mise en pot, alors que d'autres restent à l'état liquide pendant des années à température ordinaire (18 à 25 °C).

L'aptitude à cristalliser d'un miel est fonction du rapport glucose/eau. La cristallisation est nulle ou très lente pour un indice inférieur à 1,6. Elle est rapide et totale lorsque l'indice dépasse 2 [12].

2. Caractéristiques physiques :

2.1. Densité ou poids spécifique

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ à 20°C. Elle est en fonction de la teneur en eau et à moindre degré de la composition chimique du miel [17].

2.2. Fluidité et viscosité

Le miel est un liquide visqueux et sa viscosité dépend de sa teneur en eau, sa composition chimique et de sa température, la viscosité est très élevée à basse température et décroît rapidement lorsque la température augmente. Pour 30 à 35°C, la viscosité est minimale (<100 poises) [17].

2.3. pH et acidité

La plupart des miels sont acides. Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5 [17]. Les miels de châtaigner font exception qui peut atteindre une valeur de 6. Le pH du miel est en fonction de la quantité d'acides ionisable, qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale [18].

L'acidité des miels est essentiellement due à l'acide gluconique. C'est un critère de qualité important durant l'extraction et le stockage, en raison de son influence sur la texture et la stabilité du miel ; de plus, le miel falsifié avec un sirop de sucre ordinaire a un indice d'acidité

très bas (inférieur à 1) alors que celui falsifié avec du sucre industriel interverti a une acidité nettement accrue [17].

En ce qui concerne l'acidité libre, le codex Alimentarius a fixé la norme pour une valeur inférieure à 50 méq/Kg [2].

2.4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction du miel est inversement proportionnel à sa teneur en eau et de la température, sa mesure au moyen du réfractomètre constitue la méthode la plus rapide et l'une des plus sûres pour évaluer la teneur en eau des miels. Il varie entre 1,5041 et 1,4915 à 20°C pour une teneur en eau allant de 13 à 18% pour la majorité des miels.

La table de Chataway revue et corrigée par White donne la correspondance entre l'indice de réfraction et la teneur en eau [17].

2.5. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée [18]. Certains sucres la dévient à droite comme le D-Glucose et le saccharose, d'autres à gauche comme le D (-) Fructose et en raison de leur composition en sucres, tous les miels de nectar possèdent un pouvoir rotatoire négatif « Lévoxyres » alors que c'est l'inverse pour les miels de miellat qui sont « dextroxyres », donc le pouvoir rotatoire est un excellent moyen pour les différencier [17]. Cette propriété est très utilisée pour la détermination de l'origine botanique du miel [18].

2.6. Conductivité thermique

La conductivité thermique est la mesure de transfert de chaleur. Elle est aussi désignée en tant qu'indice thermique.

Normes

Elle est relativement faible dans le miel, et s'élève à $12 \cdot 10^5 \text{ cal.cm}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ pour les miels liquides, tandis qu'elle est de $12,9 \cdot 10^{-4} \text{ cal.cm}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ pour les miels cristallisés [18].

2.7. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) du miel est l'un des paramètres efficaces pour la distinction entre le miel de miellat et le miel de nectar.

Normes

La CE de miel de miellat est supérieure à 0,8 mS/cm et celle de nectar est inférieure à 0,8 mS/cm. Elle est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée [18].

2.8. Activité de l'eau

L'activité de l'eau est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau de l'aliment (p) sur la pression de vapeur d'eau de l'eau pure (p_0) à la même température. Ce paramètre dépend de la teneur en eau libre et varie de 0,5 à 0,65 dans le miel. Au cours de la cristallisation, le miel montre une activité de l'eau plus élevée [17].

2.9. Hygroscopicité

Un miel à 18% d'eau se trouve en équilibre dans une atmosphère dont l'humidité relative est de 60% et dont la température est de 14°C. S'il contient plus de 20% d'eau, le miel dégagera du CO₂ et fermentera [19].

3. Caractéristiques chimiques**3.1. Hydroxyméthylfurfural (HMF)**

L'hydroxyméthylfurfural, ou simplement HMF, un dérivé de déshydratation des hexoses qui se forme dans le miel au cours de son vieillissement, dans un miel conservé à température ordinaire (entre 15 et 20 °C) [20].

Ni les nectars ou miellats ne contiennent d'H.M.F. contrairement aux enzymes et autres substances présentes originellement dans les miels, la teneur en H.M.F. n'est donc pas une propriété intrinsèque du miel. Un miel « frais » qui vient d'être récolté n'en contient presque pas, en moyenne 3 mg/kg [21].

Ce processus est accéléré si les miels sont chauffés ou s'ils sont très acides [22].

Deux paramètres entrent en jeu dans cette formation ; la température et la durée. Ils sont constatés, en effet qu'une chaleur modérée (35 à 40°C) pendant plusieurs jours peut avoir le même effet sur les miels, qu'un chauffage de quelques heures à 50°C ou de quelques minutes à 80°C [23].

Normes

La teneur du miel en hydroxyméthylfurfural après transformation et/ou mélange ne devra pas dépasser 40 mg/kg. Toutefois, dans le cas des miels d'origine déclarée provenant de pays ou de régions où règnent des températures ambiantes tropicales, et des mélanges de ces miels, la teneur en HMF ne devra pas dépasser 80 mg/kg [2].

3.2. Teneur en eau

La teneur en eau est une caractéristique importante des miels, elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique, et dans une certaine mesure sa cristallisation, sa saveur ; en un seul mot sa qualité [24].

Normes

La teneur en eau, pour tous les miels, ne devrait pas dépasser 20%. Il ne faut pas établir de distinction d'après l'origine végétale, car une teneur en eau plus élevée abrège la durée de conservation, à cause du risque de multiplication des micro-organismes et du plus grand risque de fermentation [2].

3.3. Activité diastasique (ou enzymatique)

Le miel contient de nombreuses diastases parmi lesquelles on cite :

- Les amylases qui provoquent la dégradation de l'amidon en donnant des dextrines puis des maltoses.
- La gluco-invertase (glucosidase) qui joue un rôle essentiel dans la scission des molécules de saccharose.
- La gluco-oxydase qui est à l'origine de la formation de l'acide gluconique.

L'activité diastasique et en particulier celle de l'amylase est susceptible d'apporter de précieux renseignements sur l'état de fraîcheur d'un miel et des dégradations éventuellement subies lors d'un excès de chauffage par exemple.

Bien qu'il existe d'autres enzymes dans le miel, c'est la diastase qui a été la plus étudiée en fonction de la qualité, puisque cet enzyme est ajouté par l'abeille [25].

Normes

En 1958, l'activité diastasique et la concentration en HMF ont été standardisées pour devenir la norme suivante :

- Indice diastasique > 8 si [HMF] < 40 mg/kg ;
- Indice diastasique > 3 si [HMF] < 15 mg/kg [2].

3.4. Teneur en glycérol (glycérine)

Le glycérol est un sous-produit de la fermentation des levures osmophiles présentes dans les miels. Sa haute température de fusion ($\approx 290^{\circ}\text{C}$) empêche qu'il soit éliminé lors des éventuels traitements thermiques des miels quels qu'ils soient [26].

Normes

Les miels fraîchement récoltés ont toujours une teneur en glycérol inférieure à 50 mg/Kg. Durant leur vieillissement, cette teneur peut augmenter [26].

3.5. Méliissopalynologie :

Avec l'augmentation des miels importés, il devient important de connaître leur origine. Et c'est là qu'entre en jeu la méliissopalynologie, une science qui concerne l'étude des pollens présents dans le miel. Elle a su s'avérer bien plus efficace que l'analyse des caractères organoleptiques (goût, parfum) ou des propriétés physico-chimiques, tous deux difficiles à manier.

Le grain de pollen est spécifique d'une plante, et il existe une description morphologique de chaque pollen. En regardant un échantillon au microscope, on peut identifier et compter les grains présents dans le miel.

Il est également possible de savoir si un miel provient d'une fleur unique ou s'il s'agit d'un mélange [27].

3.6. Dosage des protéines

La détermination du taux de protéine se fait par la méthode de KJELDAHL, cette méthode consiste à un dosage indirect des protéines par le dosage de l'azote, sachant que la quantité de protéines est de 6.25 fois celle de l'azote protéique [25].

La teneur en protéines varie avec la quantité de grains de pollens dans les miels, les protides sont présents dans le miel en faible quantité : 1.7 g/kg, soit une teneur de 0.26 %, il s'agit essentiellement de peptone, d'albumines, de globulines et d'acides aminés libres telle que la proline, qui provient des sécrétions salivaires de l'abeille.

La teneur en proline donne des informations sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications. On considère qu'un miel est arrivé à maturité lorsque sa teneur en proline est

supérieure à 183 mg/kg. Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification [28].

3.7. Dosage des sucres

Chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres. Ce sont des mono, di, tri ou polysaccharides représentant au total plus de 80% du poids total du miel.

Deux d'entre eux, le glucose et le fructose, dominant nettement et font à eux seuls près de 70%.

Les autres sucres, loin d'être tous présents, dans un même miel, peuvent se trouver à

L'état de traces ou en quantité plus ou moins importantes mais toujours dans des proportions ne dépassant pas quelques pour cent.

Les méthodes employées pour le dosage des sucres sont nombreuses, elles font appel à la chimie analytique classique ou à l'analyse chromatographique effectuée par un laboratoire spécialisé.

Normes

Dans ce contexte, nous pouvons citer l'exemple de la législation Française (décret sur le miel 1976) prévoit :

- une teneur apparente en sucres réducteurs exprimés en sucre intervertis pas moins de 65% pour le miel de nectar, et une teneur apparente en saccharose inférieur à 5% exception faite pour les miels d'acacia, lavande et bauksie (flore Australienne) [29].

3.8. Teneur en cendres

Les cendres totales constituent la partie inorganique du miel obtenue après que l'échantillon fut brûlé à 600 °C pendant deux heures.

L'incinération du miel est donc le procédé qui permet de connaître sa teneur en constituants minéraux, cette teneur est très variable. Celle des miels clairs est plus faible que les miels foncés. Elle est comprise entre 0.020 et 1.028 g/100g de miel.

La teneur en cendres est un critère de qualité dépend de l'origine botanique du miel. Le miel de nectar à une teneur en cendres plus faible que le miel de miellat. La teneur en cendres des miels est comprise entre 0.020 et 1.028% [29].

Normes

La teneur maximale autorisée par les normes internationales est de 0,6 g/100 g et pour le miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar, miel de châtaignier est de 1.20 g/100g [2].

PREMIÈRE PARTIE :
PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE III :
PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU MIEL

Introduction

Le miel est un aliment-médicament car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, anti oxydantes et thérapeutiques etc.). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales [30].

Avant l'apparition du sucre de canne, le miel était la seule substance sucrée disponible pour les préparations culinaires. Il était aussi considéré comme un remède capable de prévenir et de guérir de nombreux maux, et ce, dans diverses civilisations. Mais, avec l'avènement de la chimie moderne, son usage est tombé dans l'oubli. N'ont subsisté que des utilisations empiriques. Des études scientifiques commencent à redonner au miel et aux produits de la ruche, la juste place que les anciens leur avaient attribuée. Des chercheurs ont récemment démontré scientifiquement les multiples vertus du miel : antibactérien, antifongique, antiviral, cicatrisant etc. A l'heure où la médecine moderne se trouve confrontée à divers problèmes (résistances aux antibiotiques, augmentation des dépenses de santé...), les thérapeutiques dites naturelles suscitent un regain d'intérêt. Le miel, au vu de ses multiples propriétés, mériterait plus d'attention de la part du corps médical [12].

1. Propriétés anti-oxydantes

Le mécanisme protecteur antioxydant du miel utilise à la fois les enzymes tels que la peroxydase, les composants phénoliques, les flavonoïdes, les acides organiques comme l'acide ascorbique et des acides aminés comme la proline [31].

Toutefois, les composés phénoliques sont les plus importants dans cette activité. Les antioxydants sont des substances qui, présentes à faible concentration, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et ses conséquences.

Les composés phénoliques appartiennent à la classe des antioxydants primaires ou antiradicalaires (type I) : leurs actions reposent sur leurs capacités à inactiver les radicaux libres, car ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents.

D'autres composants du miel appartiennent à la classe des antioxydants secondaires ou préventifs (type II) : ils préviennent la formation des radicaux libres par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydant des ions ; c'est le cas de

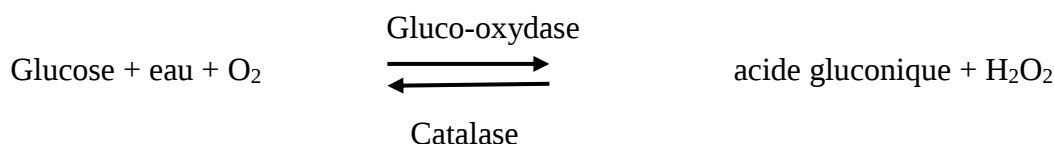
certains acides organiques et de certaines protéines. D'autres sont des piègeurs d'oxygène comme par exemple l'acide ascorbique, les ou certains systèmes enzymatiques [32].

Vu son caractère antioxydant le miel est utilisé en agroalimentaire pour le décantage des jus de fruits, pour la conservation des denrées alimentaires (évite le brunissement) et enfin comme additif dans de nombreux produits alimentaires (produits laitiers, pâtisseries, confitures) [33].

2. propriétés anti bactériennes

2.1. Système peroxyde d'hydrogène (inhibine)

La principale « inhibine » que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) encore appelé eau oxygénée. C'est un très bon antiseptique. Il est produit par réaction enzymatique. C'est la gluco-oxydase sécrétée par les glandes hypo pharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. L'eau oxygénée produite a donc une origine végétale grâce au glucose provenant du nectar des plantes, mais sa formation implique une enzyme d'origine animale, la gluco-oxydase, qui est sécrétée par l'abeille. L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement de colonies bactériennes [34].

La catalase représente l'antagoniste de la gluco-oxydase, et elle réduit l'eau oxygénée. La concentration en peroxyde d'hydrogène dépend donc directement de l'activité de ces deux enzymes. Certaines bactéries possèdent l'enzyme catalase, et elles peuvent donc décomposer le peroxyde d'hydrogène. De même, on peut la retrouver dans le plasma et son taux peut être augmenté dans les exsudats d'une plaie car elle est libérée par les leucocytes morts. Pour que la catalase soit active, il faut une forte concentration en peroxyde d'hydrogène, mais elle montre une activité faible pour des niveaux de peroxyde d'hydrogène physiologiques. Lors de l'application de miel, la libération de peroxyde d'hydrogène se fait de façon lente et prolongée. De ce fait, la catalase n'est que faiblement activée, et ne peut donc pas détruire l'activité antibactérienne du miel produite par le peroxyde d'hydrogène. Ce peroxyde d'hydrogène a donc un meilleur potentiel antibactérien quand il est libéré par le miel que lorsqu'il est utilisé seul dans une préparation antiseptique [35].

2.2. L'effet osmotique :

L'effet osmotique du miel est lié à sa forte concentration en sucres. En effet, ces derniers ont une activité antibactérienne par leur pouvoir d'abaissement de l'activité de l'eau.

La quantité d'eau libre ou activité de l'eau exprime le degré de disponibilité de l'eau dans un milieu ou un produit donné. On a donc défini un coefficient hydrique « aw » (Water activity) pour mesurer l'eau libre. Dans le miel, elle est comprise entre 0.562 et 0.62.

Entre les sucres du miel et les molécules d'eau, il se produit une forte interaction, et par conséquent, il y a très peu d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes. Le miel agit donc de manière osmotique. En provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre [36].

2.3. Acidité

Le pH du miel est suffisamment acide (entre 3 et 6) pour inhiber le développement de nombreux microorganismes pathogènes. Le pH du miel non dilué est un facteur antibactérien significatif ; cependant, si on le dilue, le pH peut ne plus être assez bas pour limiter la prolifération des bactéries. Les fluides corporels peuvent être responsables de la dilution du miel ; c'est une donnée dont il faut tenir compte lorsque l'on est dans une démarche de soins [12].

2.4. Viscosité

Du fait de sa viscosité, le miel va former une barrière protectrice qui va préserver la zone à traiter de toute surinfection. C'est une propriété purement mécanique [12].

2.5. Facteurs phytochimiques

Les huiles essentielles des nectars de fleurs, comme le thymol de thym ou la pinocembrine qui est un flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels, ont un pouvoir antibactérien connu. L'activité antimicrobienne de la pinocembrine est caractérisée vis-à-vis notamment de *Staphylococcus aureus* [37].

2.6. Défensine-1

Il s'agit d'une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité spécifique, ou innée. Ces petits peptides peuvent être divisés en deux groupes : les α -défensines,

présentes au sein de certains granules sécrétoires dans les leucocytes ou des cellules immunitaires spécialisées, et les β -défensines, présentes dans l'ensemble des épithéliums et au sein de nombreux organes. Elles jouent un rôle prépondérant dans les pathologies infectieuses, et elles modulent la réponse immunitaire. Les défensines constituent une famille de peptides cationiques antimicrobiens. Ce sont de petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne (bactéries Gram positif et Gram négatif, champignons, virus enveloppés) [38].

3. Propriétés cicatrisantes :

Le miel naturel montre une activité cicatrisante importante, il jouit d'une propriété nettoyante et désinfectante. En plus, son action énergétique profite aux cellules jeunes, en favorisant notamment la multiplication cellulaire. Des études comparatives ont montré des résultats très intéressants dans la cicatrisation de brûlures ou de plaies nécrosées [39].

3.1. PH :

Les fibroblastes jouent un rôle fondamental dans le processus de cicatrisation. Or, leur migration leur prolifération, et surtout la synthèse de collagène sont optimales dans un environnement légèrement acide. Le pH du miel varie entre 3 et 6 : les pansements au miel favorisent donc l'activité fibroblastique [12].

3.2. Hydratation

Le miel contribue à l'hydratation de la plaie. Et un environnement humide est favorable à la première étape de la cicatrisation : la détersion. En effet. La détersion en milieu humide permet de solliciter la flore bactérienne normalement présente sur la peau qui est capable d'éliminer les débris nécrotiques et/ou fibrineux [12].

3.3. Les sucres

Les sucres et notamment le lévulose et le fructose présents dans le miel améliorent localement la nutrition de la plaie et donc accélère le processus d'épithélialisation. Les cellules (macrophages, fibroblastes ...) impliquées dans le processus de cicatrisation trouvent grâce à ces sucres une source d'énergie supplémentaire qui contribue à leur bon fonctionnement [12].

4. Propriétés nutritionnelles

Depuis les temps anciens, le miel est utilisé à la fois comme aliment et comme médicament. Il est très riche en composés végétaux bénéfiques et offre plusieurs avantages pour la santé. Le miel est particulièrement sain lorsqu'il est utilisé à la place du sucre raffiné, qui est composé à 100% de calories vides.

Sur le plan nutritionnel, 1 cuillère à soupe de miel (21 grammes) contient 64 calories et 17 grammes de sucre, y compris le fructose, le glucose, le maltose et le saccharose. Il ne contient pratiquement aucune fibre, graisse ou protéine. Il contient également des traces de plusieurs vitamines et minéraux, mais il faudrait manger de nombreux kilos pour répondre à aux besoins quotidiens [40].

5. Action contre les maladies cardiovasculaires

Véritable cardiotonique, le miel améliore l'assimilation des sucres par le myocarde. L'acétylcholine qui le compose a les propriétés de ralentir et de régulariser le rythme cardiaque, et de favoriser la dilatation des vaisseaux. Ces dernières agissent sur la tension artérielle en la diminuant et sur les artères coronaires en améliorant leur irrigation.

Le miel aide aussi à la diminution du mauvais cholestérol « LDL cholestérol » et permet une légère augmentation du bon « HDL cholestérol » [41].

6. Propriétés digestives

Le miel agit directement sur la sphère digestive, et est efficace pour traiter les infections de l'estomac et de l'intestin, diminuer les inflammations ou ulcères gastriques, ainsi que les constipations passagères. Grâce à ses enzymes "diastases", il aide à la digestion et stimule l'estomac [42].

Grâce à son doux pouvoir laxatif du fait de sa concentration en fructose, le miel permet à l'intestin une meilleure rétention de l'eau, il augmente ainsi le volume des selles et facilite leur évacuation (Le miel de thym est particulièrement recommandé pour soulager la constipation). Il agit aussi favorablement sur le développement d'une flore bactérienne intestinale saine notamment grâce à la lactulose qu'il contient. Cette molécule favorise la croissance de Bifidobactéries, il en résulte une plus grande efficacité de l'immunité digestive et une amélioration du transit.

Du fait de son acidité, il améliore la digestion des graisses et des protéines, mais il permet aussi la précipitation des caséines en de fins flocons. Cette transformation du lait par l'estomac entraîne une rapide et meilleure élimination, laquelle enrayerait toutes les douleurs abdominales et les ballonnements liés à l'acceptation du lait par le nourrisson. Dans l'intestin, le miel est facilement absorbé et résorbé, il ne fermente pas, le risque de flatulences et de ballonnements intestinaux est nul [41].

7. Propriétés respiratoires

Contre la toux ou les maux de gorge, le miel apporte un effet immédiat et durable d'apaisement. Grâce à ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, il est efficace pour calmer les symptômes du rhume et apaiser l'appareil respiratoire. Il calme les irritations respiratoires et permet de diminuer l'adhérence des bactéries à la paroi respiratoire, empêchant ainsi leur prolifération [42].

8. Propriétés sédatives et calmantes

Le miel permet la libération de sérotonine, un neurotransmetteur qui va favoriser le sommeil [42].

9. Stimulation du système immunitaire et de la croissance cellulaire

Outre son action antibactérienne directe, le miel permet de combattre l'infection en stimulant le système immunitaire. Il a été rapporté que le miel stimule la multiplication des lymphocytes T et des lymphocytes B en culture, il active aussi les polynucléaires neutrophiles. Il a également été rapporté que la stimulation des monocytes en culture libère les cytokines

TNF- α , interleukine IL-1 et IL-6 impliquées comme messagers cellulaires activant la réponse immunitaire face à l'infection.

En plus de la stimulation de ces leucocytes, le miel fournit un apport en sucre aux macrophages leur permettant la production de peroxyde d'hydrogène, principale composante de leur activité antibactérienne [43].

10. Effets métaboliques

Des études ont montré que le fructose réduit les niveaux de glycémie dans des modèles de rongeurs diabétiques. La consommation de fructose prolonge la vidange gastrique, ce qui peut ralentir la vitesse d'absorption intestinale. L'effet du miel sur les micro-organismes intestinaux

non pathogènes est bénéfique et bien documenté. Des études in vitro et in vivo ont montré que le miel augmente de manière largement significative le nombre de Lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus plantarum*). Il renforce également la croissance de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*. Le miel a été signalé pour produire une réponse glycémique plus faible chez des lapins diabétiques ou non. Chez les rats nourris au miel, on a constaté une augmentation significative du taux de cholestérol HDL et une réduction des triglycérides et du LDL. Aussi, la combinaison de Glibenclamide avec du miel a abouti à de nouvelles réductions des triglycérides et du LDL. La combinaison de Metformine et miel a entraîné des réductions supplémentaires des triglycérides, du cholestérol total, du LDL cholestérol tandis que le cholestérol HDL a été légèrement augmenté chez les rats diabétiques [44-45].

11. Propriétés anti cancéreuse

Le miel inhiberait la prolifération des cellules cancéreuses, selon l'étude européenne publiée dans le Journal of Functional Foods. Les chercheurs ont analysé des cellules tumorales en laboratoire et ont incorporé des échantillons de miel dans certaines d'entre elles.

Résultat : la substance sucrée bloque le cancer. En effet, les lignées cellulaires étudiées, qui présentaient un cancer du côlon, ont rapidement été traitées via ce procédé.

Le potentiel anti tumoral du miel consiste à bloquer le cycle cellulaire en régulant certains gènes, notamment la cycline.

Les composés du miel permettent également d'éliminer le récepteur du facteur de croissance épidermique des cellules, essentiel pour leur survie. La migration cellulaire est alors inhibée et les cellules contaminées détruites.

En plus d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses, les propriétés anti tumorales du miel d'arbousier se révèlent dans d'autres plans d'action. Il permet de diminuer certains facteurs de transcription, d'inhiber l'activité de certaines enzymes et de réduire la glycolyse des cellules tumorales [46].

12. Propriétés spécifiques à chaque miel

À ces facultés générales, chaque miel allie les vertus médicinales de la fleur dominante dont il provient. Même s'il n'existe aucun transfert de principe actif de la plante au miel, un mécanisme similaire à celui de la potentialisation homéopathique est envisagé. Il existe donc des miels spécifiques préconisés dans certaines pathologies comme le montre le tableau I. Les quantités

que l'on conseille d'absorber sont, en général, de 1 à 2g de miel par kilogramme de poids (pour une personne pesant 60 kg : 60 à 120 g de miel) [47].

Tableau I : Propriétés et indications thérapeutiques plus spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux (DONADIEU, 1984) [48].		
Origine botanique	Propriétés plus spécifiques	Indications plus particulières
Acacia	- Régulateur intestinal	- Paresse intestinal, notamment chez le jeune enfant
Bruyère	- Antiseptique des voies urinaires et diurétiques ; - Antianémique ; - Dynamogénique des voies respiratoires et des voies urinaires.	- Affections de l'arbre urinaire dans son ensemble et dans le régime diététique de l'insuffisance rénale et chronique ; - Certains anémies ; - Etats de fatigue en général ; - convalescences ; Sénescences.
Eucalyptus	- Antiseptique des voies respiratoires et des voies urinaires.	- Affection touchant à la sphère respiratoire et à l'arbre urinaire dans leur ensemble.
Oranger	- Antispasmodique ; - Sédatif nerveux.	- Etats spasmodiques d'origines diverses ; -Nervosisme en général et troubles qui en découlent : insomnies, palpitations.
Sapin	- Antianémique ; - Antiseptique et anti-inflammatoire des voies respiratoires ; - Diurétique.	- Certains anémies ; - Affection touchant à la sphère respiratoire dans tout son ensemble ; - Affections de l'arbre urinaire dans son ensemble et dans le régime diététique de l'insuffisance rénale et chronique.
Lavande	- Antiseptique et anti-inflammatoire des voies respiratoires ; - Antispasmodique ; - Sédatif nerveux.	- Affection touchant à la sphère respiratoire dans tout son ensemble ; - Rhumatismes chroniques (arthrose).
Thym	- Antiseptique général.	- Maladies infectieuses en général touchant aussi bien les sphères respiratoires, digestives et urinaires.
Tilleul	- Antispasmodique ; - Sédatif nerveux.	- Etats spasmodiques d'origines diverses ; - Nervosisme en général et troubles qui en découlent : insomnies, palpitations.
Trèfle	- Dynamogénique.	- Etats de fatigue ; - Convalescences ; - Efforts physiques (chez les sportifs en particulier).

DEUXIÈME PARTIE :
PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Notre mémoire s'est porté sur l'étude de l'activité antibactérienne de trois échantillons de miel algérien.

1. Type de l'étude : Descriptive.

2. Lieu de l'étude

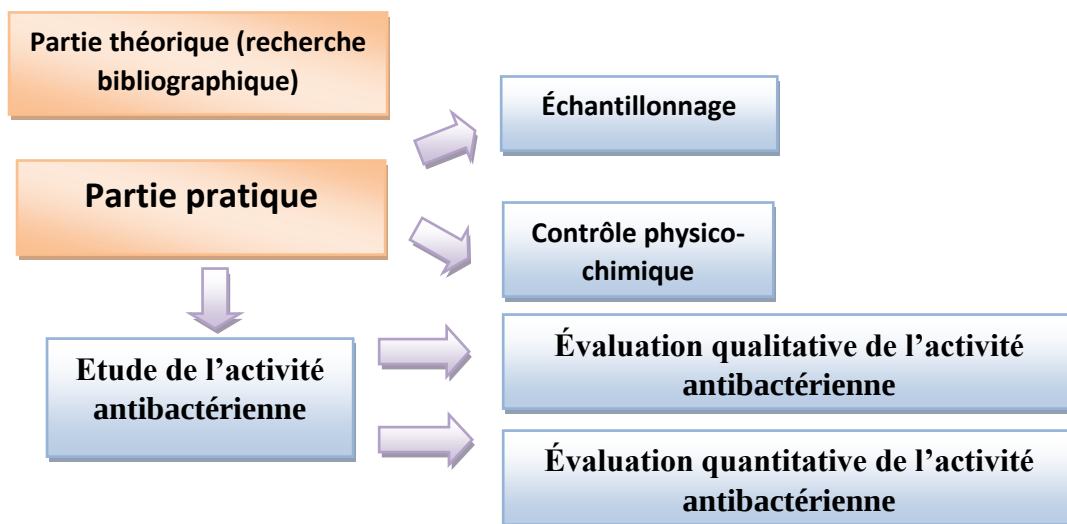
La partie expérimentale portant sur le contrôle physico-chimique des échantillons de miel a été réalisée au niveau du laboratoire d'hydro-bromatologie de la faculté de médecine UMMTO, à l'exception du dosage spectrophotométrique de l'HMF, qui a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie analytique de la faculté de médecine UMMTO.

La partie expérimentale portant sur l'étude de l'activité antibactérienne, a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou.

3. Durée de l'étude

La partie théorique (recherche bibliographique) ainsi que la partie pratique de notre mémoire s'est déroulée entre le Premier Décembre 2019 et le 10 Mars 2020.

4. Déroulement de l'étude



5. Échantillonnage

Notre étude a porté sur 3 échantillons de miel locaux collectés auprès des apiculteurs de différentes régions des wilayas de Tizi-Ouzou, Tébessa, Chlef.

Le choix de ces régions a pour but d'avoir un échantillonnage diversifié par sa localisation géographique ainsi que son origine botanique. La collecte de nos échantillons s'est déroulée à la

fin de l'année 2019, et cela pour satisfaire à l'exigence d'avoir des miels frais et pouvoir donner une interprétation correcte à nos résultats.

Les miels sont classés selon leurs origines florales, leurs provenances ainsi que la date de leurs récoltes (Tableau II).

Tableau II : Présentation des échantillons de miel étudiés

N° Echantillon	Date de récolte	Origine géographique	Origine florale	Aspect	Couleur
E1	Juin 2019	Wilaya de Tbessa	Miel de Thym	Liquide	Jaune doré
E2	Juin 2019	Wilaya de Chlef	Miel d'Eucalyptus	Liquide	Ambré
E3	Juillet 2019	Bouzugue (Tizi-Ouzou)	Miel toutes fleurs	Liquide	Ambré foncé



Figure 3 : Les échantillons de miel.

6. Matériels utilisés pour l'analyse physico-chimique

6.1. Verrerie, consommable et appareillage

Tous les appareillages, verreries et consommables utilisés dans l'analyse physicochimique sont résumés dans les tableaux ci-dessous

Tableau III : Verrerie et consommable utilisés lors de l'analyse physico-chimique	
Verrerie	Consommable
Baguette en verre	Baguette magnétique
Becher en verre de différents Volumes	Barreaux magnétiques
Burettes graduées de 10ml, 25ml	Compte-Goutte
Entonnoir Büchner	Gants propres
Entonnoir en verre	Lunette de protection
Erlenmeyers de différents Volumes	Masque FFP2
Flacons en verre, hermétiques, opaques de différents volumes	Pissettes d'eau distillée
Flacons en verre, hermétiques, transparents de différents volumes	Poires
Fiole à vide	
Fiole jaugée de 50ml, 100ml, 200ml	
Pipettes graduées en verre de 2ml, 5ml, 10 ml, 20 ml, 25 ml	

Tableau IV : Appareils utilisés lors de l'analyse physico-chimique

Appareillage	Model	Fonction
Agitateurs magnétiques/ Plaques chauffantes	Nahita 690-1	Agitation magnétique et chauffage
Agitateurs magnétiques/ Plaques chauffantes	Stuart YB 1720	Agitation magnétique et chauffage
Bain marie	Harry Gestigkeit	Chauffage du miel
Balance de precision	Kern PLT 2000-3DM	Pesée précise
Conductimètre	Inolab cond 720 wtw series	Mesure de la conductivité
Distillateur	GFL 2004	Fournir de l'eau distillée
pH-mètre	Mettler Toledo	Mesure du PH
Pompe à vide		Filtration sous vide
Spectrophotomètre UV-Visible	Série Lambda 25 Perkin Elmer	Mesure des densités optiques à des longueurs d'ondes du spectre UV-Visible
Refractomètre à miel	Chincan FG 116	Mesure de l'humidité du miel, degré Brix, degré Baumé
Thermomètre		Mesure de la température

6.2. Réactifs utilisés pour l'analyse physico-chimique

Tableau V : Réactifs utilisés et leurs préparations			
	Réactifs	Préparation	
Détermination de l'acidité	1. Bleu de bromothymol	4 g BBT dans 200 mL d'alcool à 95 %. Ajouter 200 mL d'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air jusqu'à l'obtention de la coloration verte. Ajuster ensuite à 1000 ml avec de l'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air.	
	2. Solution d'hydroxyde de sodium à 0,05N	Hydroxyde de sodium Eau distillée	2g 1000 ml
	3. Solution d'acide sulfurique à 0,05N	Acide sulfurique Eau distillée	2.45 ml 1000 ml
Détermination des sucres réducteurs	1. Solution d'acétate de zinc à 30%	Acétate de zinc Eau distillée	30g 100 ml
	2. Solution de ferrocyanure de potassium à 15%	Ferrocyanure de potassium Eau distillée qsp	15g 100 ml
	3. Liqueur cuivrique	Sulfate de cuivre Eau distillée qsp	40g 1000 ml
	4. Liqueur alcaline	Sel de Seignette Soude caustique Eau distillée qsp	200g 150g 1000 ml
	5. Liqueur ferrique	Sulfate ferrique Acide sulfurique concentré Eau qsp	50g 200g 1000 ml
	6. Solution de permanganate de Potassium 0,1 N	Permanganate de potassium Eau distillé	3.16g 1000 ml
Détermination de l'HMF	1. solution Carrez I	Ferrocyanure de potassium Eau distillée	15g 100 ml
	2. solution Carrez II	Acétate de zinc Eau distillée	30g 100 ml
	3. Solution de sulfite de sodium	0,20% dans de l'eau distillée	

7. Matériels utilisés pour l'analyse bactériologique

Tous les appareillages, instruments et milieux utilisés dans l'analyse bactériologique sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau VI : Instruments utilisés lors de l'analyse bactériologique	
Anse de Platine	Lames et lamelles
Ecouvillon	Gants stériles
Pipette pasteur	Masque chirurgical
Tube à essais	Pince brucelle
Micropipette Dragon lab (5-50µl)	Tube en verre à fermeture à vis
Pipettes graduées en verre de 2ml, 5ml	Pied à coulisse
Spatules	Disques stérilisés de papier buvard (6mm)
Disque d'antibiotique	Boîte de pétri

Tableau VII : Milieux utilisés lors de l'analyse bactériologique
Gélose nutritive (GN) : c'est un milieu d'isolement non-sélectif ; l'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.
Gélose de Muller-Hinton (MH) : l'utilisation de cette gélose est recommandée par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de microbiologie (milieu utilisé pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques).
BHIB : Bouillon cœur-cerveille : Milieu nutritif tamponné polyvalent, c'est un milieu d'enrichissement.

Tableau VIII : Appareils utilisés lors de l'analyse bactériologique

Appareillage	Fonction
Etuve / Incubateur	Permet l'incubation des milieux microbiologiques à 37°C et à pression atmosphérique.
Microscope optique	Observation des colonies bactériennes
Bec Bunsen	Manipulation en atmosphère stérile, Stérilisation rapide d'objets contaminés, fixation des lames.
Densitomètre (Densichek plus)	Mesure de la densité de la suspension bactérienne fonctionnement basé sur la mesure de la densité optique.
Agitateur vibrant vortex	Mélange et homogénéisation des différentes solutions.

8. Caractérisation physico-chimique

8.1 Teneur en eau

Elle est déterminée à l'aide du réfractomètre (Chincan FG 116) étalonné avec de l'eau distillé, la lecture est réalisée à 20 °C (Annexe I) [49].

➤ Mode opératoire

Quelques grammes de miel sont introduits dans un tube, ce dernier est placé au bain marie à 50°C jusqu'à dissolution des cristaux de sucre. Après une agitation et un refroidissement à température ambiante, il faut assurer la propreté du prisme du réfractomètre [50].

La surface de ce dernier est couverte par une goutte de miel. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure, cette ligne coupe une échelle verticale graduée directement en pourcentage d'humidité dans le miel [51].



Figure 4 : Réfractomètre à miel (Chincan FG 116)

8.2. Degré Brix

Le réfractomètre est un appareil de mesure qui détermine l'indice de réfraction de la lumière d'une matrice solide ou liquide. Cet indice s'observe par la déviation d'un faisceau lumineux suivant la nature du milieu dans lequel il se propage. L'angle du faisceau dévie en fonction du taux de matière sèche soluble dans le milieu, plus la concentration de matière sèche soluble est élevée, plus la réfraction est importante.

Grâce à cette méthode de réfractométrie, nous avons évalué le taux de matière sèche.

La lecture est faite sur l'échelle qui indique la teneur en matière sèche ou « Degré Brix » qui se trouve en parallèle avec l'échelle de l'indice d'humidité [51].

8.3. Degré Baumé

Le degré Baumé est une unité de mesure indirecte de concentration, via la densité, inventée par Antoine Baumé. On le note par °B, °Be ou °Bé.

La correspondance entre la densité et le degré Baumé est la suivante :

- Pour les liquides plus lourds que l'eau (densité > 1) : $d = 145 \div (145 - B^\circ)$;
- Pour les liquides plus légers que l'eau (densité < 1) : $d = 140 \div (B^\circ + 130)$.

Grâce à la méthode de réfractométrie, nous avons mesuré directement ce dernier (Degré Baumé) qui nous indique la concentration en matières sèches dans un liquide [51].

8.4. pH

➤ Principe

Le pH du miel est mesuré sur une solution à 10% de miel à l'aide d'un pH-mètre (Annexe II). C'est une méthode potentiométrique utilisant une électrode de verre spécifique aux ions H^+ .

La notion de pH qui traduit « l'acidité » d'une solution rend compte de la concentration en ions H^+ (H_3O^+) de la solution grâce à la relation suivante : $pH = -\log [H_3O^+]$

Un pH-mètre est composé d'un millivoltmètre électronique relié à deux électrodes rassemblées dans la sonde. Le pH-mètre mesure la tension (différence de potentiel) entre ces deux électrodes. Celle-ci est directement liée au pH de la solution dans laquelle la sonde est immergée. L'une des électrodes est appelée électrode de référence au calomel (Hg) saturé ou Ag/AgCl (préférable pour l'environnement). Son potentiel E est constant à une température donnée.

L'électrode de verre est l'électrode indicatrice de pH : son potentiel est une fonction affine du pH.

Par conséquent, la tension E mesurée par le millivoltmètre est de la forme suivante :

$$E = E_{\text{verre}} - E_{\text{ref}}$$

Avec: E_{ref} : Potentiel de l'électrode de référence.

E_{verre} : Potentiel de l'électrode de verre [52].

➤ Mode opératoire

Le pH-mètre est d'abord calibré à pH égal à 4 et 9 avec des solutions tampons. 5g de miel sont dissous dans 50ml d'eau distillée. Pour prendre le pH, les électrodes du pH-mètre sont immergées dans la solution et la valeur du pH s'affiche [52].



Figure 5 : pH-mètre (Mettler Toledo)

8.5. Conductivité électrique

➤ Principe

La détermination de la conductivité électrique est basée sur la mesure de la résistance électrique, dont la conductivité électrique est la réciproque. La conductivité électrique d'un fluide correspond à la conductance d'une colonne de liquide comprise entre deux électrodes métalliques de 1cm^2 de surface et séparées l'une de l'autre de 1cm. Elle est mesurée par un conductimètre (Annexe III). Le temps de mesure doit être aussi court que possible à cause du phénomène de polarisation qui peut conduire à de faux résultats.

Les mesures sont effectuées à 20°C dans une solution aqueuse de miel à 20% (p /v). La lecture est faite directement après immersion de la cellule du conductimètre dans la solution.

Le résultat est exprimé en milliSiemens par centimètre (mS/cm) [53].

➤ Mode opératoire

Une quantité de 10g de miel est mise dans un bécher de 50ml, le miel est dissout avec de l'eau distillée, puis le volume est ramené à 50ml. Cette solution est transférée dans un autre bécher placé dans un bain thermostaté à 20°C . Après que la température voulue est atteinte, la cellule du conductimètre est plongée dans le bécher pour la mesure de la conductivité électrique. Il faut noter qu'avant chaque mesure, la cellule du conductimètre est rincée soigneusement avec de l'eau distillé [53].



Figure 6 : Conductimètre (Inolab cond 720 wtw series)

8.6. Acidité libre et combiné

➤ Principe

L'acidité libre est la quantité d'acide titrable par une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à pH 7 en présence de bleu de bromothymol comme indicateur de fin d'équivalence.

L'acidité mesurée est celle d'une solution de miel à 10%.

L'acidité combinée est titrée par une solution d'acide sulfurique, c'est un dosage volumétrique en retour [54].

➤ Mode opératoire

- Utiliser une solution du miel à tester qui a été obtenue par dissolution dans l'eau distillée de 10 g de miel pour 100 ml de solution.
- Remplir les burettes avec 10 ml de NaOH à 0,05N.
- Peser une prise d'essai de 5g de la solution de miel à 10%, noté m.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de BBT. Le milieu réactionnel se colore en jaune.
- Titrer avec du NaOH à 0,05N jusqu'à coloration du BBT en vert foncé (pH 7).
- Relever le volume équivalent de NaOH noté V_{eq} .
- Verser le NaOH restant dans le bécher et sans tarder opérer un dosage en retour avec une autre burette contenant 10ml de H_2SO_4 à 0.05N, jusqu'à virage de la couleur du bleu au vert foncé.
- Relever le volume équivalent de H_2SO_4 , noté V_{eq}' [52].



Figure 7 : Virage du jaune au vert foncé (Dosage par le NaOH)

➤ **Mode de calcul**

L'acidité libre se calcule selon la formule suivante :

$$AL = 1000 \times V_{eq} \times N / m \text{ en meq/kg}$$

Avec :

AL : acidité libre en meq/kg

Veq : Volume équivalent de NaOH en l

N : normalité de la solution de NaOH eq/l

m : prise d'essai de la solution de miel en kg

L'acidité combinée :

$$AC = 1000[(10 - V_{eq}) N - 0.05 V_{eq}'] / m \text{ en meq/kg}$$

Avec :

AC : Acidité combinée en meq/kg

Veq : volume équivalent de NaOH en l

N : normalité de la solution de H₂SO₄ eq/l

Veq' : volume équivalent de H₂SO₄ en l

m : prise d'essai de la solution de miel en kg [54].

$$\text{Acidité totale : } AT = AC + AL$$

8.7. Dosage des Glucides réducteurs

➤ **Principe**

Le dosage des sucres se fait par la méthode de Bertrand. C'est une méthode d'oxydoréduction qui permet le dosage des oses réducteurs grâce à un dosage en retour.

Les sucres réducteurs réduisent partiellement la liqueur de Fehling en excès, l'oxyde cuivreux constitué (précipité rouge) est dosé par manganimétrie. Une table donne la correspondance entre la masse de cuivre et la masse des sucres réducteurs. La réaction doit se dérouler à chaud et pendant trois minutes à partir de l'ébullition pour respecter la correspondance des tables.

Une quantité des sucres réducteurs réagit avec les ions cuivre (II) en excès pour former un précipité rouge brique. L'excès d'ions cuivre (II) est éliminé. Le précipité réagit avec un excès

d'ions fer (III) pour le dissoudre. On obtient des ions fer (II) dosés par une solution de permanganate de potassium [55].

Equations de réactions :

- Première étape :

Réduction de la liqueur alcalino-tartro-cuivrique (FEHLING A+ FEHLING B) par les sucres réducteurs avec formation d'oxyde cuivreux (Cu_2O) de coloration rouge brique.



- Deuxième étape :

Réaction de l'oxyde cuivreux avec un excès d'ions ferriques.



- Troisième étape :

Dosage manganométrique des ions Fe^{2+} formés en milieu acide



[53]

➤ Mise en solution du miel (Défécation)

- Les hydrates de carbone à doser se trouvent généralement mélangés à d'autres substances en solution ou en suspension comme eux et pouvant empêcher ou fausser le dosage des sucres. Ces substances étrangères doivent être éliminées sans que la teneur en hydrates de carbone s'en trouve modifiée ; cette clarification est obtenue en provoquant la formation d'un précipité dans le liquide, opération appelée « défécation ».

- Les réactifs de Carrez (hexacyanoferrate II de K et sulfate de Zn) agissent uniquement par adsorption. Ils provoquent la formation d'un précipité à "l'état naissant" entraînant les substances étrangères par "occlusion" [55].

➤ **Mode opératoire**

❖ **Mise en solution du miel (Défécation)**

10 g de miel est dissout dans une fiole de 100 ml avec de l'eau distillée, puis sont ajoutés 2 ml de la solution Carrez 1 (hexacyanoferrate de potassium à 15 %) et 2 ml de la solution Carrez 2 (acétate de zinc à 30 %).

Le mélange est bien agité. Nous ajustons au trait de jauge, une filtration est faite après 15 minute [56].



Figure 8 : Pesée de 10 g de miel



Figure 9 : Agitation du mélange

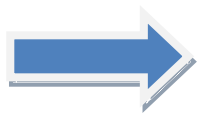


Figure 10 : Filtration du mélange après repos

❖ Dosage des sucres réducteurs

- Une dilution à 1/10 est préparée à partir du filtrat. Un volume de 20 ml est prélevé, puis 20 ml de liqueur de Fehling A et 20 de liqueur de Fehling B sont ajoutés.
- Ce mélange est mis dans un Erlenmeyer, puis porté à ébullition pendant 3 minutes. Après refroidissement, le dépôt de Cu_2O est rincé avec de l'eau bouillie refroidie, jusqu'à l'obtention d'une eau de lavage claire. Cette dernière est filtrée à travers un filtre en verre fritté (porosité 4). Le filtrat est jeté.
- Puis un volume de 30 ml d'une solution ferrique acide est ajouté au précipité rouge. La solution obtenue est filtrée à travers le même filtre, puis titrée avec une solution de KMnO_4 (0,1 N) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose stable [56].



Figure 11 : Le mélange est porté à ébullition



Figure 12: Formation de l'oxyde cuivreux



Figure 13 : Filtration sous vide



**Figure 14 : Virage vers le rose
(Dosage Permanganimétrique)**

❖ **Dosage des sucres réducteurs totaux (après inversion)**

- **Inversion de solution de miel**

-Prendre 10ml de solution de miel filtré, ajouter 50ml d'eau distillée plus 1ml de HCL concentré ($d=1,19$) puis mettre au bain marie à 75°C pendant 15min

-Refroidir puis neutraliser avec une solution de NaOH (30%) en présence de phénolphthaléine ensuite avec la solution de HCL à 10% jusqu'à décoloration puis on complète à 100ml avec de l'eau distillée [55].

- **Dosage**

20 ml de la solution neutralisée sont prélevés et additionnés de 20 ml de la solution de liqueur de Fehling A et 20 de liqueur de Fehling B. La suite du mode opératoire est la même que celui des sucres réducteurs [57].

❖ Conditions opératoires

- Le précipité n'est jamais en contact avec l'air pour éviter son oxydation.
- Utiliser de l'eau distillée bouillie pour éviter l'oxydation par l'O₂ dissout dans l'eau.
- Laver abondamment le précipité pour éliminer le tartrate, sinon le virage avec le permanganate ne sera pas visible [53].

❖ Mode de calcul

Utilisation des tables de Bertrand après calcul de la masse du cuivre (Annexe IV et Annexe V)

$$\text{Masse du Cuivre} = 5 \times V \text{ KMnO}_4 \times C \text{ en mole/l KMnO}_4 \times \text{Masse molaire Cu}$$

• Taux de saccharose

On obtient le taux de Saccharose par déduction de sucre réducteur après inversion et de sucre réducteur avant inversion en le multipliant par un facteur de 0,95 (Annexe VI).

Avec :

$$S (\text{saccharose}) = (G' - G) \times 0.95$$

G : la quantité de sucres réducteurs précédemment établie

G' : la totalité des sucres (sucres réducteurs naturels et sucres intervertis)

0.95 : le coefficient d'inversion dont il faut tenir compte en raison de la différence des poids moléculaires du saccharose et du glucose. Donc la correspondance en poids moléculaire est de 342 pour 360 soit le rapport $342/360 = 0.95$: coefficient d'inversion [58].

Tableau IX : Réaction d'inversion du Saccharose et les poids moléculaires correspondants [53].

	$C_{12}H_{22}O_{11}$	+	H_2O	=	$C_6H_{12}O_6$	+	$C_6H_{12}O_6$
poids moléculaire	342g				180g		180g

8.8.HMF (Hydroxy-méthyl-furfural)

➤ Principe

Normalement, le HMF est généré par la décomposition du fructose en conditions acides (Annexe VII). Il se produit naturellement dans la plupart des miels et augmente rapidement avec un traitement thermique du miel. Par conséquent, il peut être utilisé comme indicateur du temps de chauffage et de stockage à des températures élevées. Le miel de bonne qualité contient moins de HMF.

Le HMF peut être déterminé par une méthode de spectrophotométrie UV/Visible dans laquelle l'absorbance à 284 nm d'une solution aqueuse de miel clarifiée est déterminée contre une solution de référence du même miel dans laquelle le HMF a été détruit par le bisulfite.

Cette différence de spectre représente la teneur en HMF dans l'échantillon, sans l'absorption interférente du miel [59].

➤ Protocole

• Préparation des solutions :

- Peser approximativement 5g de miel dans un bécher de 50ml ;
- Dissoudre dans 25 ml d'eau distillée et transférer cette quantité dans une fiole de 50 ml ;
- Ajouter 0,5 ml de la solution carrez 1 et mélanger ;
- Ajouter 0,5 ml de la solution carrez 2 et mélanger puis compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée (une goutte d'éthanol peut être ajouté pour éliminer la mousse) ;
- Filtrer la solution en utilisant un papier filtre en jetant la première dizaine de ml de filtrat ;
- Pipeter 5 ml dans deux tubes à essais ;
- Dans le premier tube, on ajoute 5ml d'eau distillée et on mélange (solution échantillon) ;
- Dans le second tube on ajoute 5 ml de la solution bisulfite (0,2) et on mélange (Solution témoin) [53].

Tableau X : composition des solutions aqueuses de miel [53].

Ajouter au tube à essai	Solution échantillon	Solution témoin
Solution initiale de miel	5 ml	5 ml
Eau distillée	5 m l	0 ml
Solution de bisulfite	0 ml	5 ml

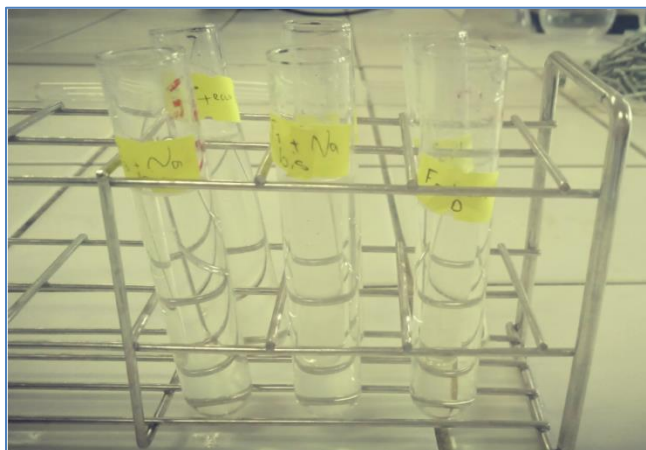


Figure 15 : Solutions aqueuses du miel (solution échantillon, solution de référence)

- **Lecture :**

La lecture de l'absorbance des solutions aqueuses de miel (solution échantillon, solution de référence) se fait dans les 60 min à 284nm puis à 336nm. Si l'absorbance à 284 nm est supérieure à 0,8 la solution est diluée avec de l'eau distillée pour obtenir des absorbances suffisamment basses.

Si une dilution D est nécessaire elle est calculée par :

$D = \text{volume finale de la solution échantillon} / 10$ [53].



Figure 16 : Spectrophotomètre UV-VISIBLE
(Perkin Elmer Série Lambda 25)

➤ **Mode de calcul**

La teneur en hydroxy-méthyl-furfural est exprimée en milligramme par kilogramme et donnée par la formule suivante :

$$\text{HMF} = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times D$$

Avec :

HMF : quantité d'HMF en mg/Kg

D = facteur de dilution (si la dilution est nécessaire)

A₂₈₄ et A₃₃₆ : absorbances respectives à 284nm et à 336nm

Le facteur 149,7 = $126 \times 1000 \times 1000 / 1683 \times 10 \times 5$

Où :

126 : La masse moléculaire de HMF

1683 : L'absorptivité molaire de HMF à 284 nm.

1000 : La conversion des grammes en milligrammes.

1000 : La conversion des grammes de miel en kilogrammes.

10 : facteur de dilution [53].

9. Évaluation de l'activité antibactérienne du miel

Micro-organismes testés

L'évaluation de l'effet antibactérien des échantillons de miel a été faite sur deux groupes de bactéries : bactéries à Gram négatif à savoir *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), une souche à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Les souches nous ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les sensibilités et les résistances relevées des antibiogrammes effectués dans ce même laboratoire sur ces germes sont détaillées dans l'Annexe VIII.

9.1. Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

- **Préparation des différentes dilutions du miel**

Pour chaque échantillon du miel nous préparons les dilutions (A, B, C, D) qui sont respectivement (25%,50%,75%,100%) à l'aide d'eau physiologique stérile.

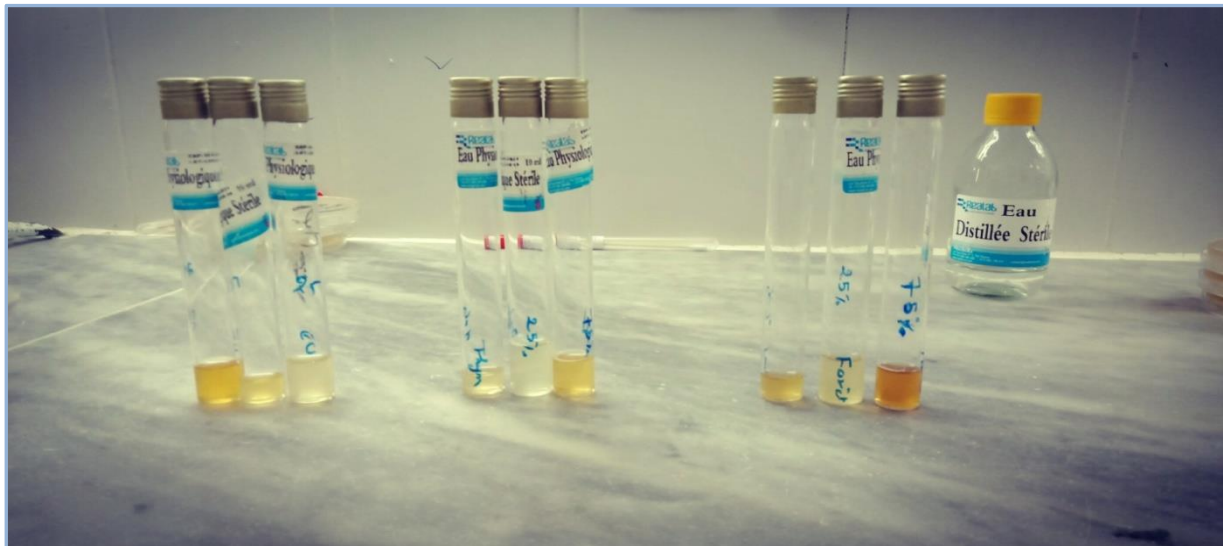


Figure 17 : Dilutions des échantillons de miel

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), des colonies bien isolées, ont été prélevées à l'aide d'une anse ou pipette pasteur ; puis déchargées dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0,9% la suspension a été homogénéisée, afin d'avoir une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland standardisé à l'aide d'un densitomètre. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum [60].



Figure 18 : Standardisation de la suspension bactérienne grâce au densitomètre

- **Ensemencement par écouvillonnage**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée (milieu Mueller-Hinton) de haut en bas en stries serrées.
- L'opération a été répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois [60].

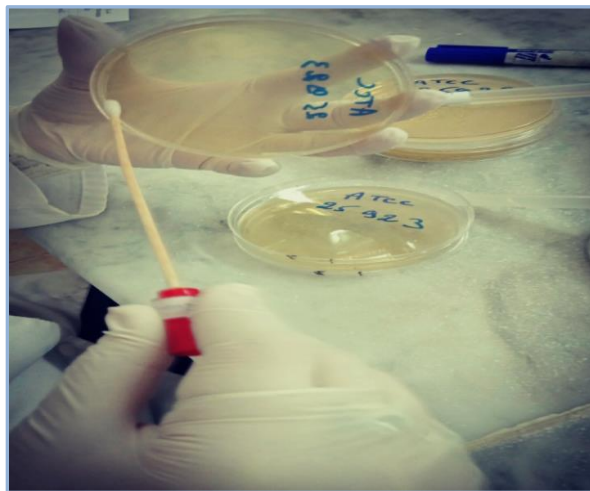


Figure 19 : Ensemencement de la suspension bactérienne

Pour l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne et au vu de la nature visqueuse du miel nous avons réalisé deux techniques de diffusion sur gélose : par disques et en puits afin de comparer la diffusion et donc les résultats.

➤ **Méthode de diffusion par disque (aromatogramme)**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme. Elle permet de tester l'effet d'un produit antibactérien sur une souche grâce la mesure des zones d'inhibitions autour des disques imprégnées des différents produits à tester.

L'inhibition quand elle est présente, se manifeste par des zones de stérilité autour des disques imprégnés de principes actifs (Figure 20.). Leur diamètre nous permet d'évaluer le degré

d'action des composés traités sur la croissance des bactéries. En fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible ou résistante [61].

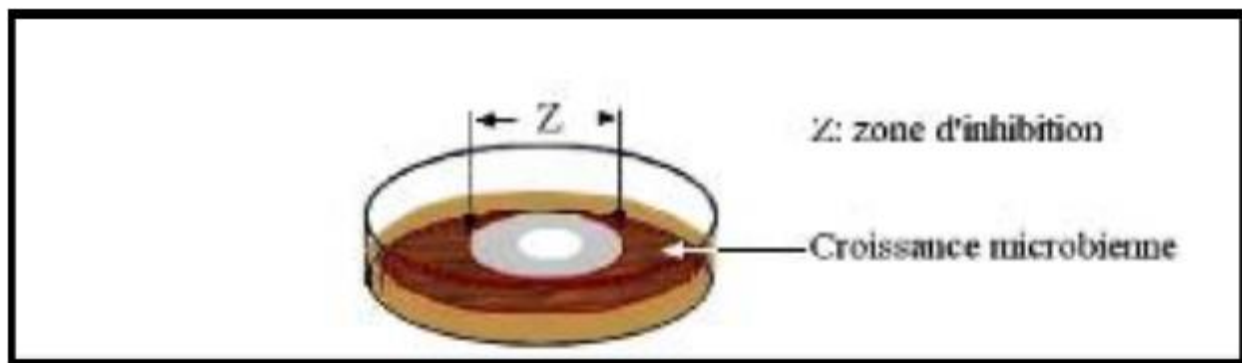


Figure 20 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme [62].

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Les disques sont fabriqués à partir de papier Buvard, avec un diamètre de 6 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce. Ils sont ensuite mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- **Dépôt des disques**

Après l'ensemencement sur des boîtes du milieu MH par la méthode d'écouvillonnage, des disques de papier buvard d'un diamètre de 6mm ont été déposés sur l'agar, en appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile. Puis ils ont été imbibés par 10 μ l des différentes dilutions de miel [39].



Figure 21 : Dépôt des disques et des dilutions de miel

➤ **Méthode de diffusion en puits**

La méthode utilisée est celle de diffusion par puits sur gélose telle que décrite par Berghe et Vlietinck (1991). Le milieu MH est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 4 mm.

Après inoculation par écouvillonnage avec une suspension de 0,5 Mac Farland, des puits de 6 mm de diamètre *sont* réalisés de manière concentrique sur les milieux puis à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Le miel est déposé avec les mêmes quantités dans tous les puits à l'aide d'une micropipette (des puits d'un diamètre de 6 mm et une hauteur de 4 mm). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h à l'étuve [63].



Figure 22 : Réalisation des puits

• **Lecture**

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques d'aromatogramme et des puits à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle décimale.

Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité nous avons considérés que si le diamètre de la zone d'inhibition est :

- Inférieure à 10mm : Souche résistante.
- Egale à 10mm : Souche à sensibilité intermédiaire.
- Supérieure à 10mm : Souche sensible [39].

9.2. Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

➤ Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration d'un agent antibactérien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

Selon CHAUHAN et al, (2010) la détermination de la CMI des échantillons de miel se fait par la technique de dilution en milieu liquide.

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en miel. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24h, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible concentration en miel capable d'inhiber toute croissance bactérienne visible [64].

• Préparation de la gamme de dilutions

Des dilutions de demi en demi ont été effectuées pour l'obtention des concentrations finales de 512 mg/ml, 256 mg/ml, 128 mg/ml, 64 mg/ml, 32 mg/ml. Pour cela 1.024 grammes de chaque miel, sont placés chacun dans un tube stérile contenant 2ml de BHIB, ensuite 1ml de ce tube sont transférés dans un second tube contenant 1ml de BHIB et ainsi de suite jusqu'au cinquième tube où le 1ml sera éliminé [64].

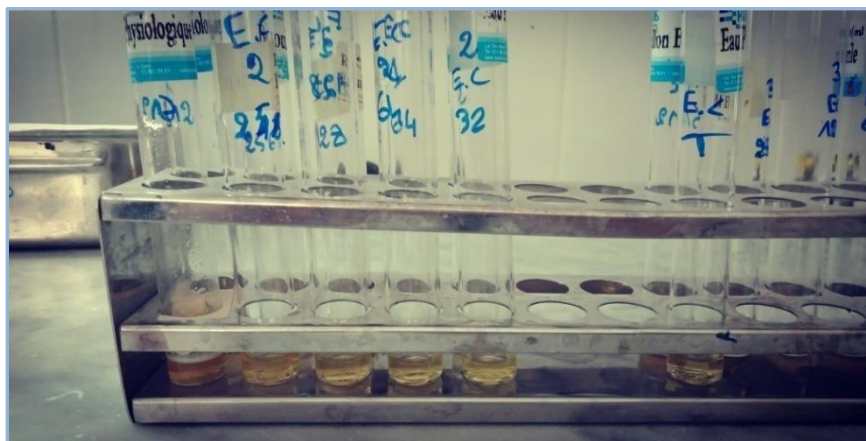


Figure 23 : Préparation de la gamme de dilutions

- **Préparation de l'inoculum et ensemencement en milieu liquide**

A l'aide d'une micropipette, ajouter exactement 5µl de la suspension bactérienne standardisée à 10^6 UFC/ml grâce au densitomètre dans chacun des tubes préparés, ensuite les incuber 24 heures à 37°C.

Un tube témoin a été réalisé sans aucun agent antibactérien, pour lequel 5µl de l'inoculum standardisé ont été déposés dans 1ml de BHIB dans les mêmes conditions [64].



Figure 24 : Suspensions bactériennes standardisées

- **Lecture**

Après 24 heures d'incubation, la lecture doit se faire en comparant chaque tube de la gamme avec celui de tube témoin qui se caractérise par un trouble.

La CMI correspond à la plus petite concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu [64].

- **Concentration minimale bactéricide (CMB)**

Pour chaque germe et pour chaque miel, la CMB est réalisée sur les tubes ne présentant pas de croissance à l'œil nu (dilutions supérieures ou égales à la CMI) et ce par ensemencement en surface sur gélose MH grâce à un écouvillon trempé dans la dilution (l'écouvillon est changé pour chaque tube/dilution).

Les boîtes MH ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. La plus faible concentration dont aucune croissance bactérienne n'est apparue correspond à la CMB, qui est la concentration minimale détruisant 99,9% des micro-organismes en culture sur ce milieu [64].

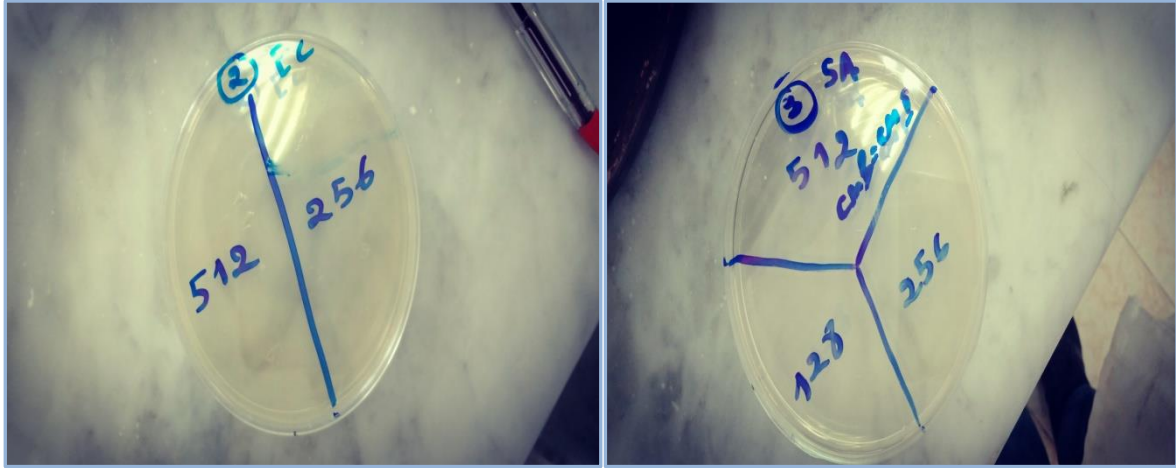


Figure 25 : Réalisation des CMB

DEUXIÈME PARTIE :
PARTIE EXPÉRIMENTALE

RÉSULTATS

1. Résultats de l'analyse physico-chimique

Le tableau XI suivant présente les résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons de miel

Tableau XI : Résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons de miel.

Échantillon	Paramètres physiques					Paramètres chimiques				
	Humidité (%)	pH	Conductivité (mS/cm)	Degrés Brix°	Densité	Acidité libre (méq/kg)	Taux de sucre			HMF mg/kg
							Sucres réducteurs (%)	Sucres invertis (%)	Saccharose (%)	
E1	18	3.75	0.247	80	1.41	3	68	71	2.85	10.32
E2	16.5	4.11	0.798	83.5	1.42	3	63	65	1.9	7.78
E3	16	3.7	0.614	81.5	1.42	5	62	64	1.9	7.03

1.1 Taux d'humidité

Le taux d'humidité nous renseigne sur la teneur en eau de chaque échantillon de miel. Le taux d'humidité est parmi les caractéristiques les plus importantes du miel, car il joue un rôle primordial dans la qualité du miel et utilisé par les normes internationales.

L'examen des résultats montre que la teneur en eau dans tous les échantillons varie entre 16 % (E3) et 18 % (E1) avec une valeur moyenne de 16.83 %

Les résultats obtenus sont représentés par la figure 26.

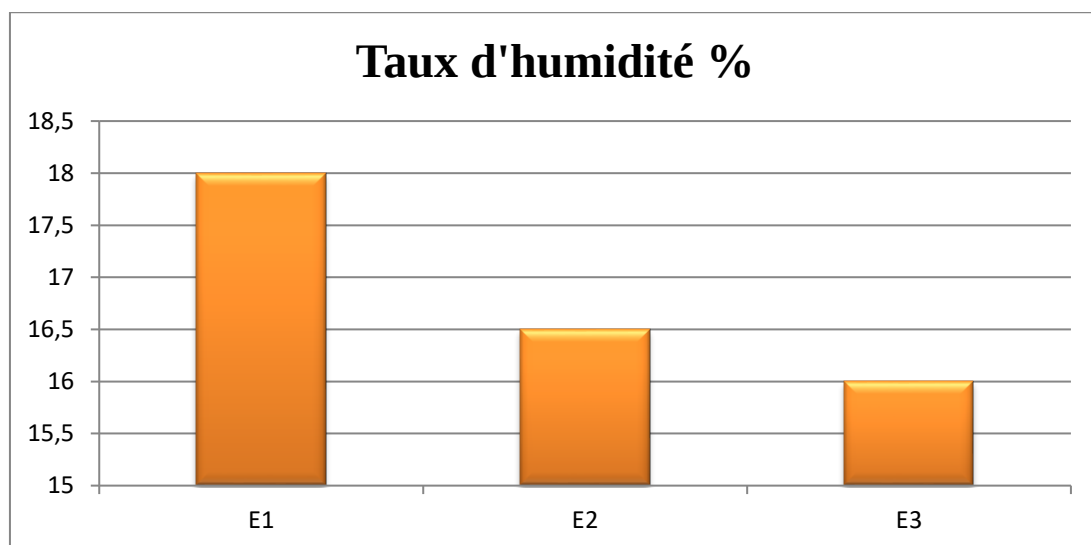


Figure 26 : Représentation graphique du taux d'humidité de chaque échantillon de miel analysé.

1.2. Degré Brix

Les valeurs du degré de Brix des échantillons de miel analysés données par le réfractomètre à 20°C sont représentées par la figure 27.

L'examen des résultats montre que le degré Brix mesuré varie entre 80 % (E1) et 83.5 % (E2) avec une valeur moyenne de 81.66 %.

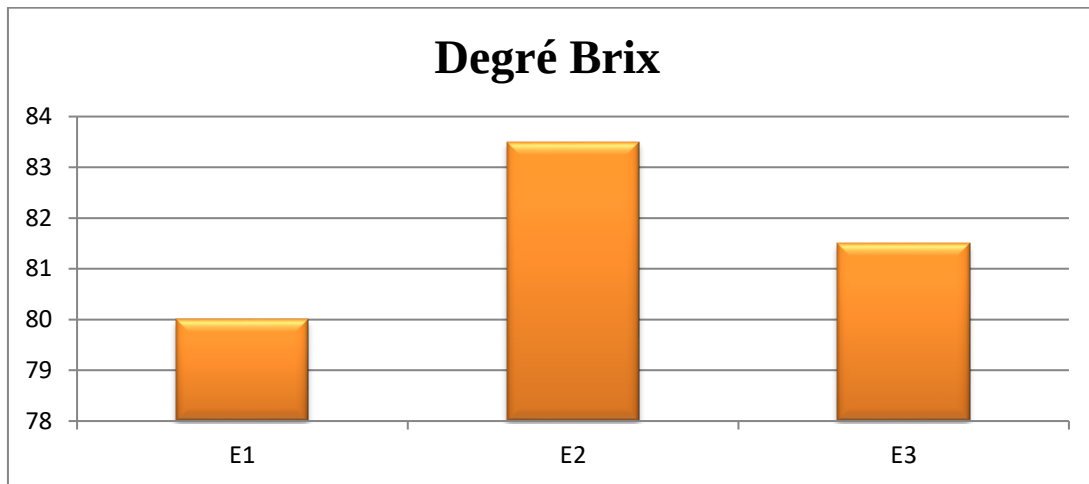


Figure 27 : Représentation graphique de la valeur du degré Brix de chaque échantillon de miel analysé.

1.3. Densité

La densité des échantillons de miel analysés calculées grâce au degré Baumé varie entre 1.41 et 1.42. Les valeurs obtenues sont représentées par la figure 28.

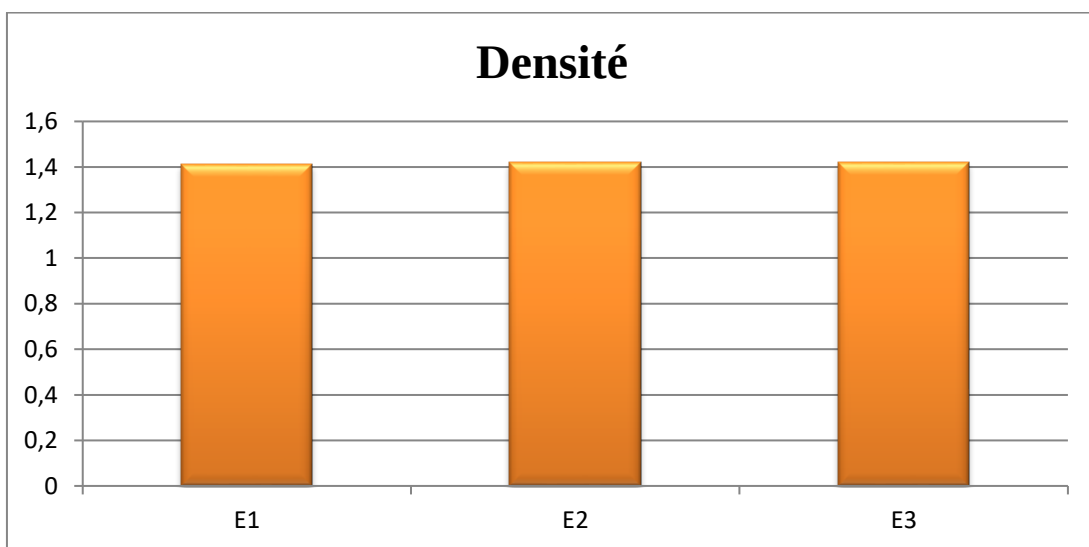


Figure 28 : Représentation graphique de la densité de chaque échantillon de miel analysé.

1.4. pH

Le pH est un critère de qualité et qui figure dans les normes internationales. L'examen des résultats montre que le pH mesuré varie entre 3.7 (E3) et 4.11 (E2) avec une valeur moyenne de 3.85.

Les valeurs de pH des échantillons de miel données par le pH-mètre sont représentées par la figure 29.

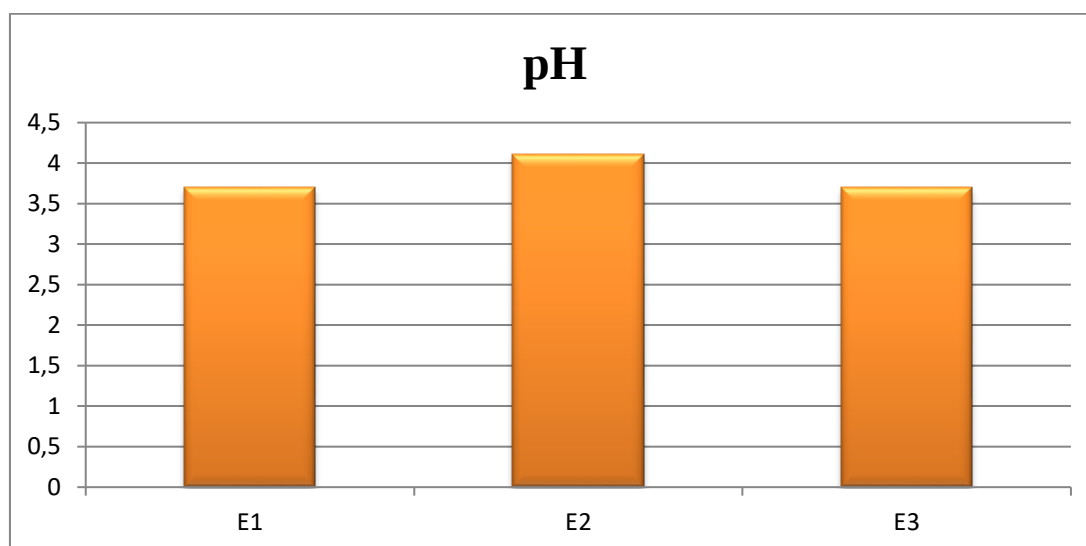


Figure 29 : Représentation graphique de la valeur de pH de chaque échantillon de miel analysé.

1.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel, elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine du miel.

L'examen des résultats montre que la conductivité électrique mesurée varie entre 0.247 mS/cm (E1) et 0.798 mS/cm (E2) avec une valeur moyenne de 0.553 mS/cm.

Les résultats de conductivité électrique de chaque échantillon de miel donnés par le conductimètre à 20°C sont représentés par la figure 30.

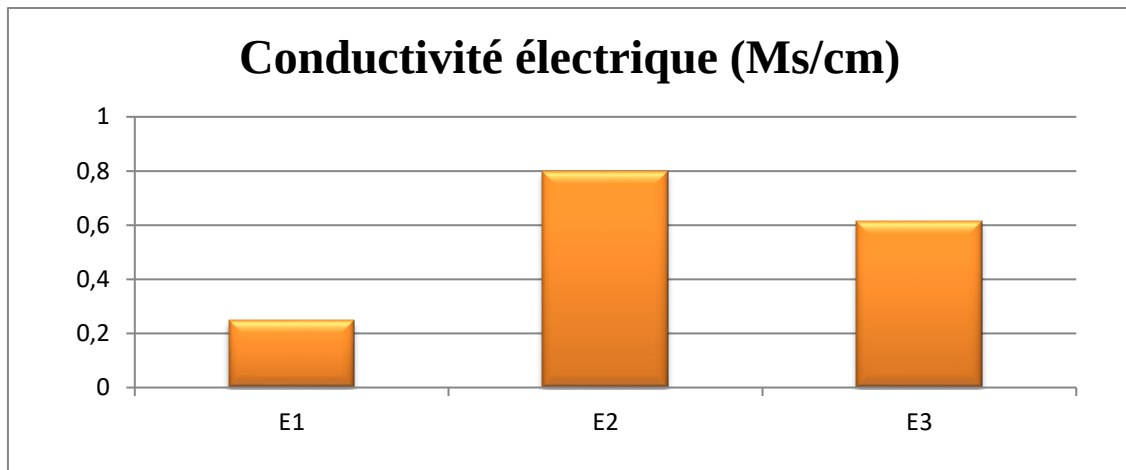


Figure 30 : Représentation graphique des résultats de conductivité électrique de chaque échantillon de miel analysé.

1.6. Acidité libre

La valeur de l'acidité libre des échantillons de miel analysés varie entre 3 méq/kg (E1 et E2) et 5 méq/kg pour E3. Avec une valeur moyenne de 3.66 méq/kg.

Les résultats obtenus sont représentés par la figure 31.

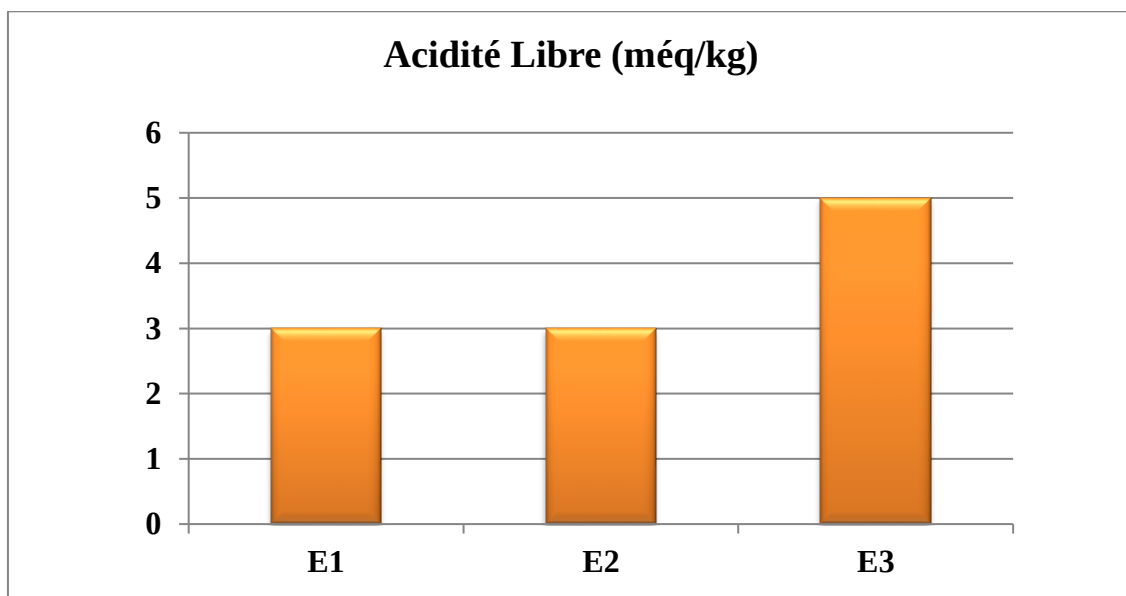


Figure 31 : Représentation graphique de l'acidité libre des différents échantillons de miel

1.7. Teneur en sucre

La teneur en sucre notamment le taux de saccharose nous renseigne sur l'authenticité du miel et la falsification des sucres.

1.7.1. Sucres réducteurs

L'examen des résultats montre que la teneur en sucre réducteur des échantillons de miel varie entre 62% (E3) et 68% (E1) pour une valeur moyenne de 64,33%

Les teneurs obtenues sont représentées par la figure 32.

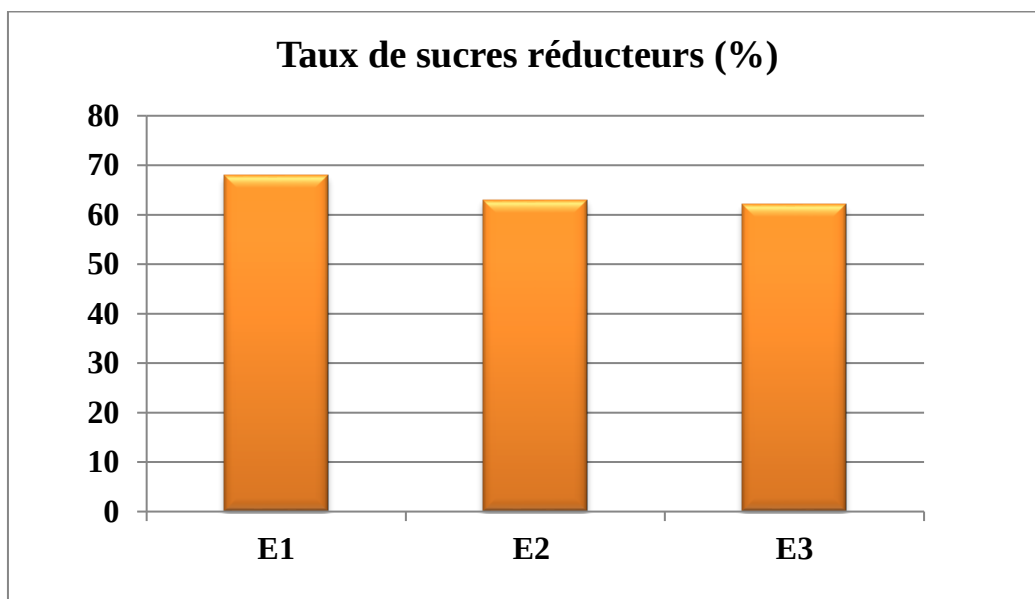


Figure 32 : Taux de sucres réducteurs des différents échantillons de miel

1.7.2. Taux de saccharose

L'examen des résultats montre que le taux de saccharose des échantillons de miel varie entre 1.9% (E2 et E3) et 2.85% (E1) pour une valeur moyenne de 2.21%.

Ces valeurs sont représentées par la figure 33.

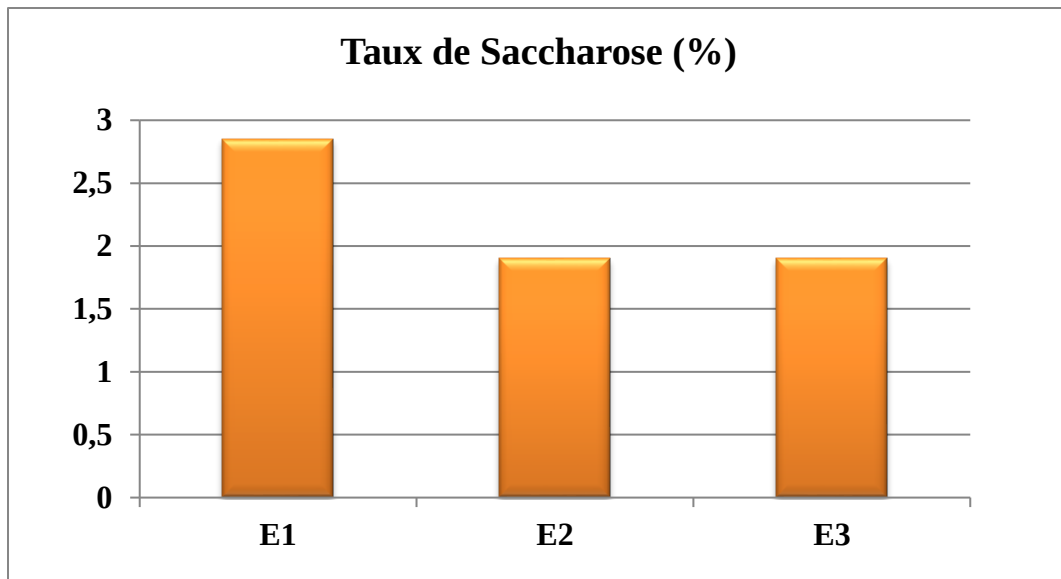


Figure 33 : Taux de saccharose des différents échantillons de miel.

1.8. HMF (Hydroxy-méthyl-furfural)

La mesure de la teneur en HMF est très importante pour connaître la qualité des échantillons de miel étudiés.

L'examen des résultats montre que la valeur de l'HMF varie entre 7.03 mg/kg (E3) et 10.32 mg/kg (E1). Avec une valeur moyenne de 8.37mg/kg.

Les résultats obtenus sont représentés par la figure 34.

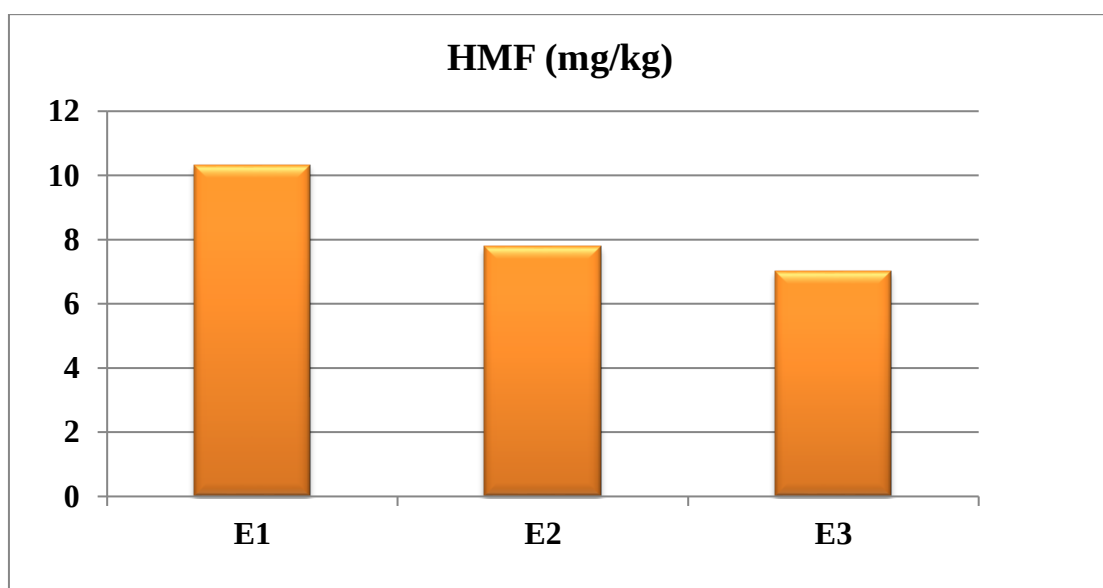


Figure 34 : Représentation graphique du taux d'HMF des différents échantillons de miel.

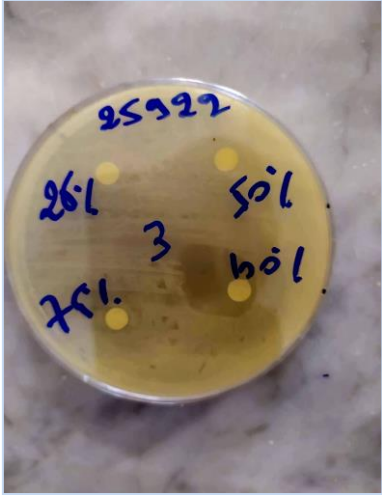
2. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

2.1. Résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

➤ Méthode de diffusion par disque (aromatogramme)

Les résultats de l'aromatogramme se sont manifestés sous forme d'halos d'inhibition dont les diamètres ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse, ces diamètres sont présentés dans les tableaux XII, XIII, XIV.

Tableau XII : Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.

Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	00	00	14	00	00	00	16	00	00	00	19
Image												

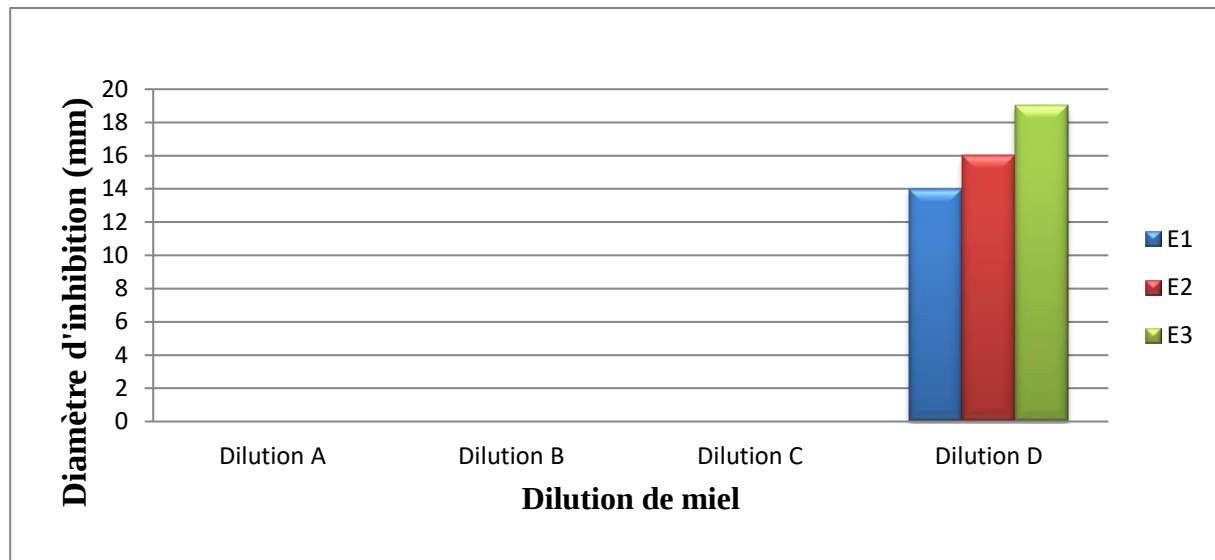


Figure 35 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis d' *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Tableau XIII : Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.

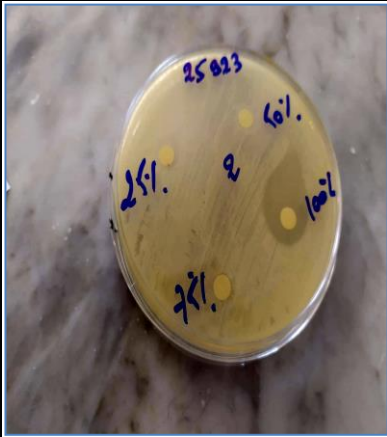
Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	00	00	18	00	00	00	24	00	00	00	30
Image												



Figure 36 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Tableau XIV : Résultats de l'aromatogramme reflétant la sensibilité du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.												
Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	00	11	21	00	00	15	22	00	00	11	20
Image												

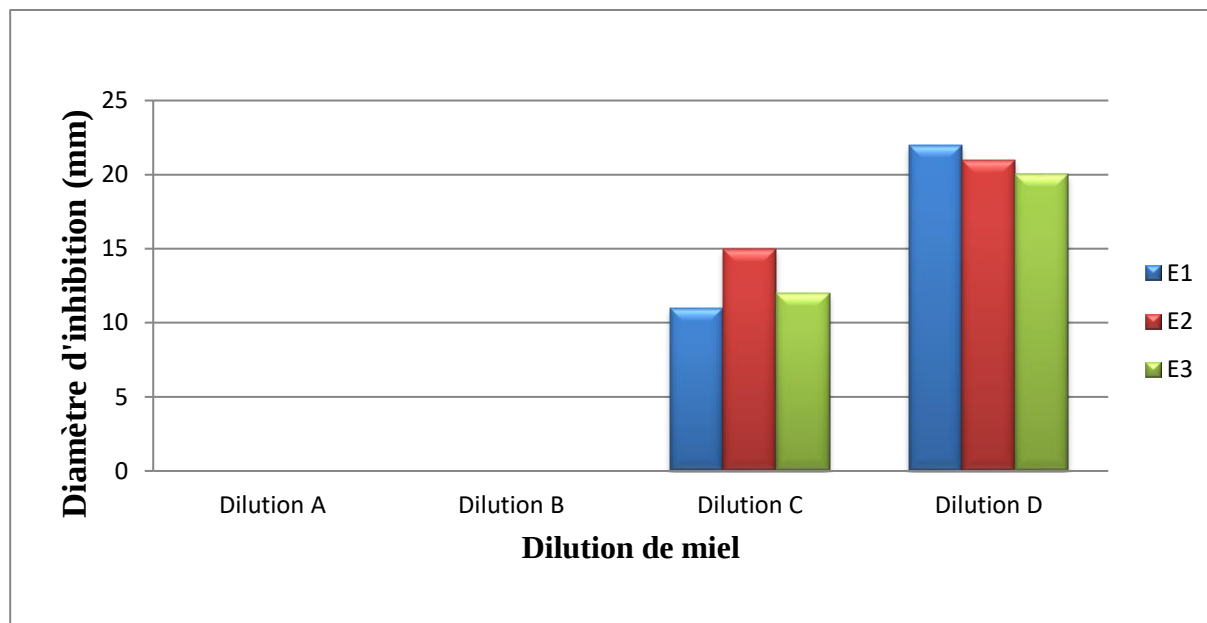


Figure 37 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

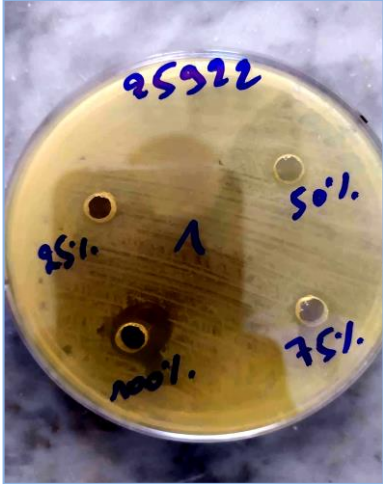
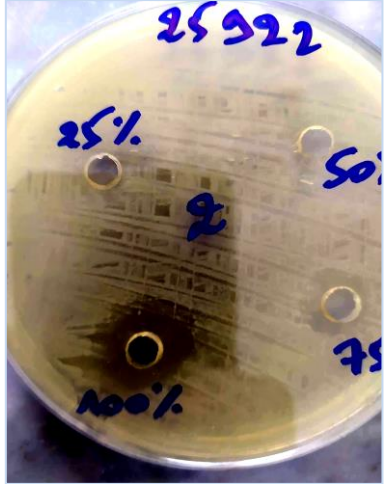
D'après les résultats de l'aromatogramme précédemment cités :

- Pour *Escherichia coli* (ATCC 25922), Seul le miel pur (100 %) des 3 échantillons a eu un effet antibactérien, les diamètres d'inhibition varient entre 14 et 19 mm, l'échantillon E3 ayant été le plus active avec 19 mm.
- Pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) Seul le miel pur (100 %) des 3 échantillons a eu un effet antibactérien, les diamètres d'inhibition varient entre 18 et 30 mm, l'échantillon E3 ayant été le plus active avec 30 mm.
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), le miel pur (100 %) ainsi que la dilution à 75 % des 3 échantillons de miel ont donné un effet antibactérien avec des diamètres d'inhibition allant de 11 à 15 mm pour la dilution à 75 % et de 20 à 22 mm pour le miel pur, l'échantillon E2 ayant été le plus active avec des diamètres de 15 mm et 22 mm respectivement pour le miel à 75% et le miel pur.

➤ Méthode de diffusion en puits

Les résultats de l'aromatogramme se sont manifestés sous forme d'halos d'inhibition dont les diamètres ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse, ces diamètres sont présentés dans les Tableaux XV, XVI, XVII.

Tableau XV : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.

Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	00	00	12	00	00	11	18	00	00	10	17
Image												

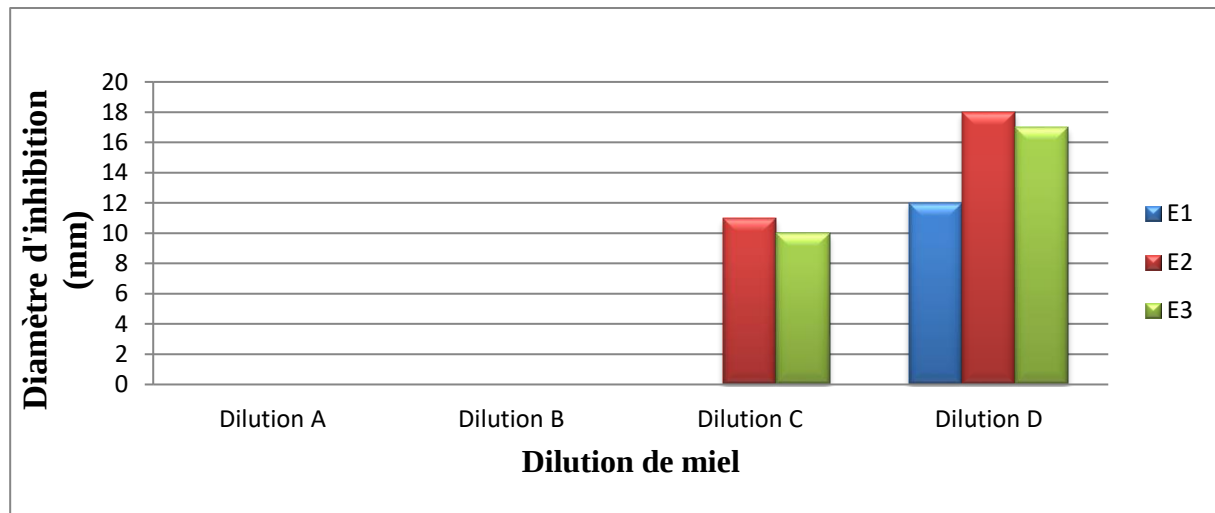


Figure 38 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) par méthode de diffusion en puits.

Tableau XVI : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.

Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	16	17	28	10	21	25	32	00	19	26	30
Image												

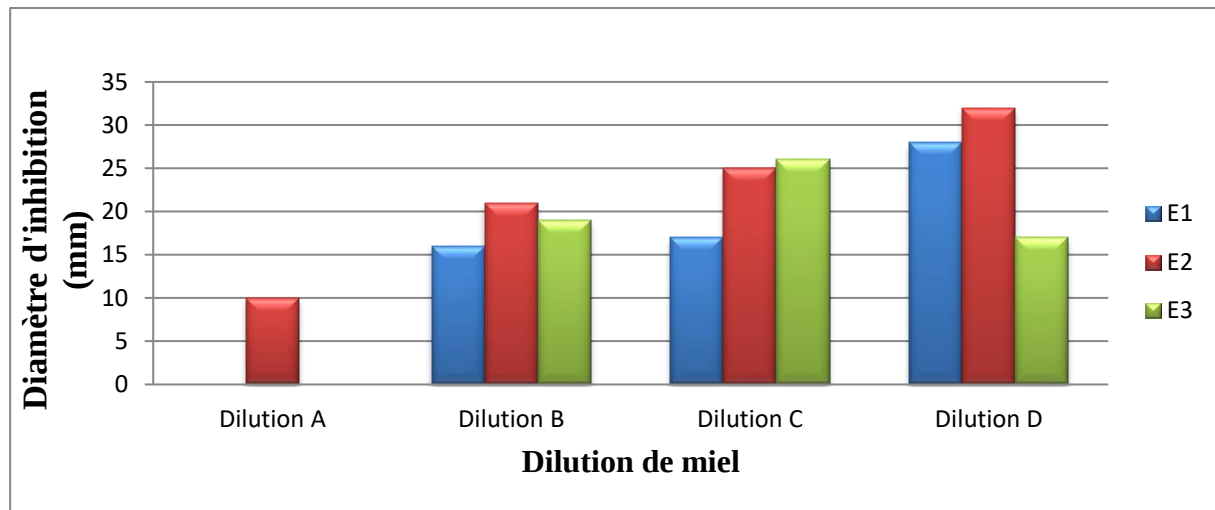


Figure 39 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) par méthode de diffusion en puits.

Tableau XVII : Résultats de la méthode de diffusion en puits, reflétant la sensibilité du *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) aux différentes dilutions des trois échantillons de miel.

Echantillon de miel	E1				E2				E3			
Dilution	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Diamètre d'inhibition (mm)	00	00	10	20	00	00	18	20	00	00	00	23
Image												

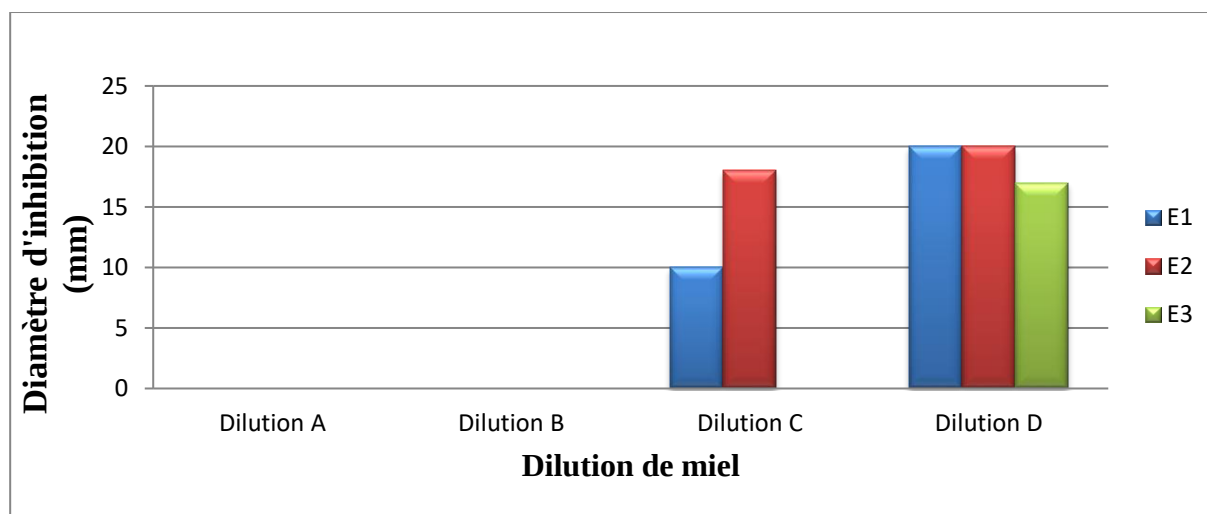


Figure 40 : Activité antibactérienne des échantillons de miel et leurs dilutions vis à vis du *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) par méthode de diffusion en puits.

D'après les résultats de la Méthode de diffusion en puits précédemment cités :

- Pour *Escherichia coli* (ATCC 25922), toutes les dilutions A et B des 3 échantillons n'ont pas présenté un effet antibactérien, l'échantillon E1 n'a montré d'activité qu'à l'état pur (100 %), les diamètres d'inhibition oscillent entre 10 et 11 mm pour la dilution à 75 % et de 12 à 18 mm pour le miel pur, l'échantillon E2 ayant été le plus active avec des diamètres de 11 mm et 18 mm respectivement pour le miel à 75% et le miel pur.
- Pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), E1 et E3 ont présenté une activité antibactérienne pour les Dilutions : B, C, D. E2 en a présenté pour toutes les concentrations. Les diamètres d'inhibition oscillent entre 10 et 32 mm toute concentration confondue, l'échantillon E2 ayant donné le plus grand diamètre de 32 mm (miel non dilué).
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), toutes les dilutions A et B des 3 échantillons n'ont pas présenté un effet antibactérien, l'échantillon E3 n'a montré d'activité qu'à l'état pur (100%), les diamètres d'inhibition oscillent entre 10 et 18 mm pour la dilution à 75 % et de 20 à 23mm pour le miel pur, l'échantillon E2 ayant donné le plus grand diamètre de 23 mm (miel non dilué).

2.2. Résultats de l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

❖ Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice « CMI »

Les dilutions correspondantes à la CMI (mg/ml) sont exprimées dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII : Résultats des CMI (mg/ml) pour les souches bactériennes testées			
Echantillon de miel Germe	E1	E2	E3
<i>Escherichia coli</i>	256	256	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	256	256	256
<i>Staphylococcus aureus</i>	128	128	128

- Pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, il y a eu une croissance bactérienne visible à l'œil nu pour le tube du témoin + ainsi que pour les tubes ayant une concentration allant de 32mg/l à 128mg/l ; celle-ci est devenue absente à partir d'une concentration de 256mg/l. Les CMI sont donc de l'ordre de 256mg/l pour les trois échantillons de miel.
- Pour *Staphylococcus aureus* il y a eu une croissance bactérienne visible à l'œil nu pour le tube du témoin + ainsi que pour les tubes ayant une concentration allant d 32mg/l à 64mg/l ; celle-ci est devenue absente à partir d'une concentration de 128mg/l. La CMI est donc de l'ordre de 128mg/l pour les trois échantillons de miel.

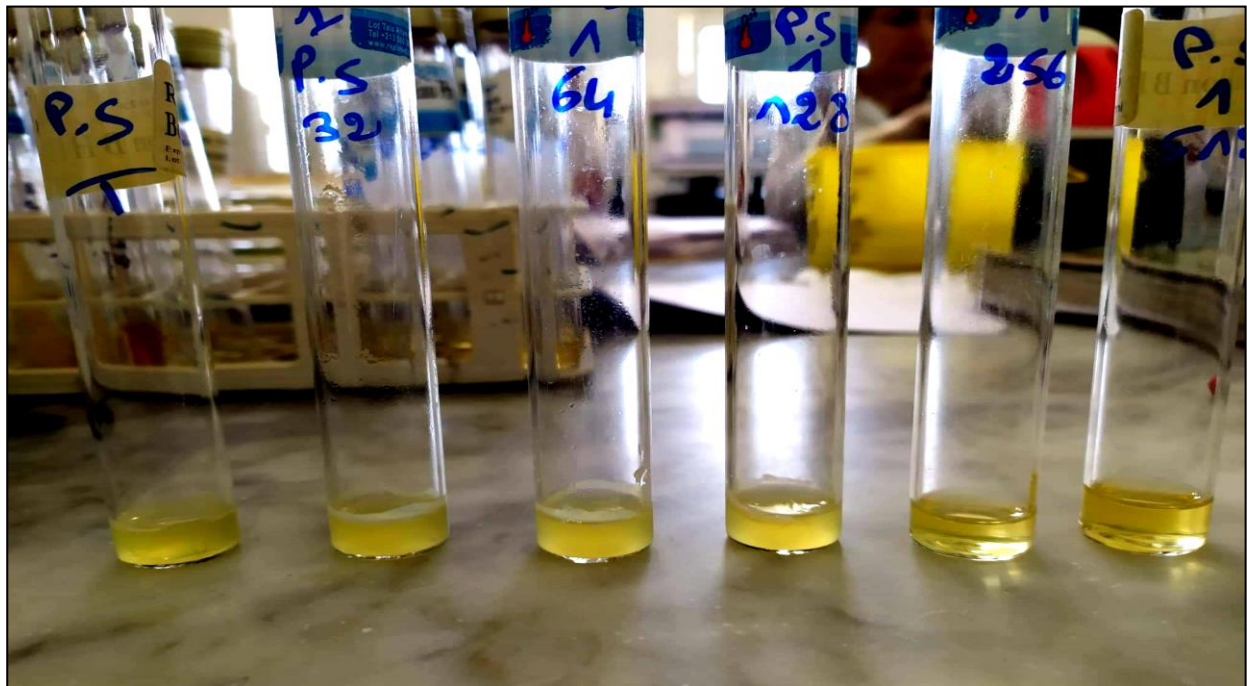


Figure 41 : Résultat de la CMI (128mg/ml) pour *Pseudomonas aeruginosa* (lecture par comparaison au témoin +).

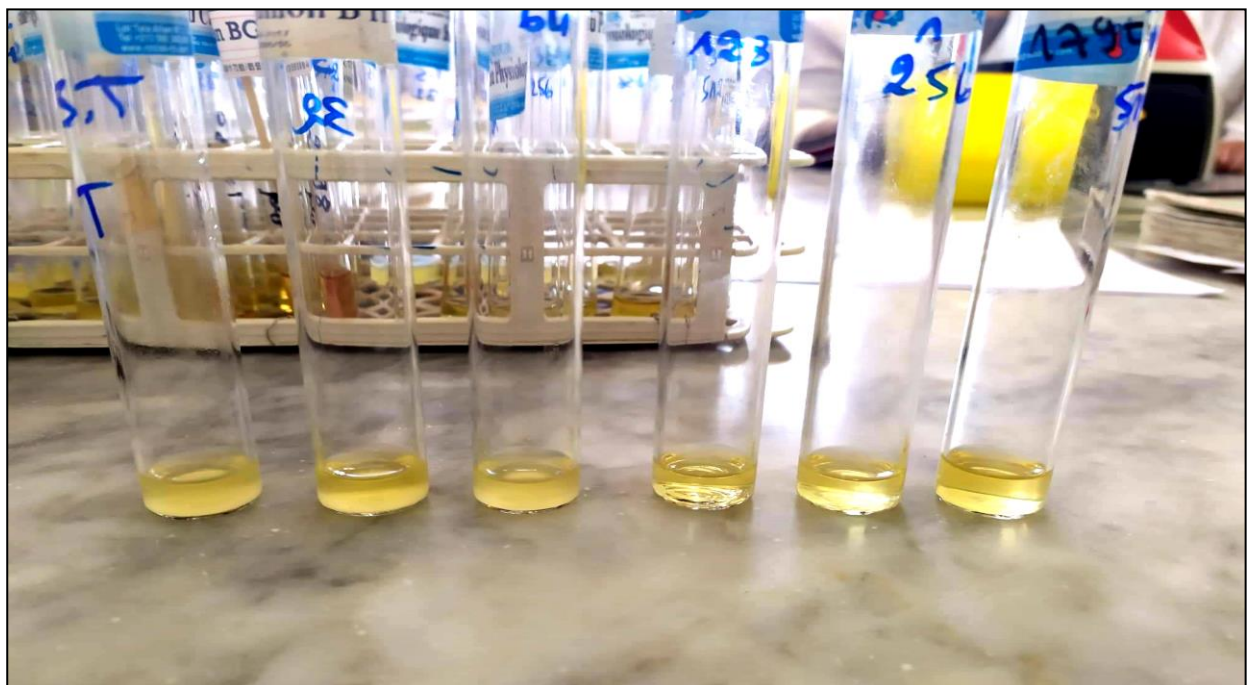
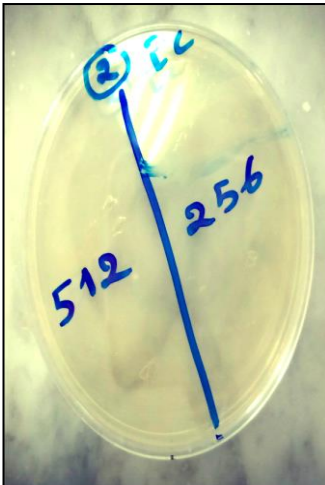
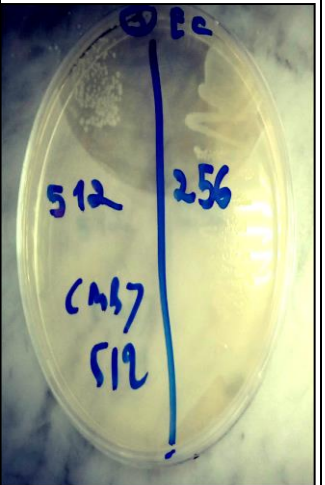
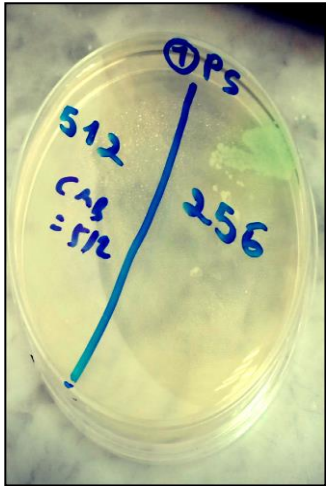
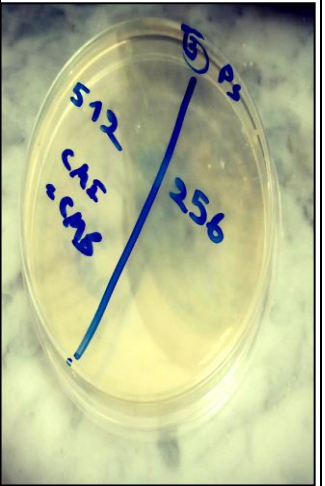


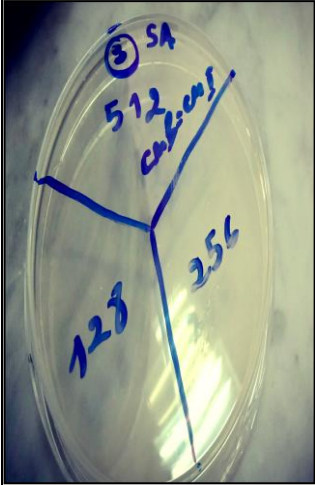
Figure 42 : Résultat de la CMI (128mg/ml) pour *Staphylocoque aureus* (lecture par comparaison au témoin +).

➤ Concentration minimale bactéricide (CMB)

Pour un germe donné, la CMB correspond à la concentration minimale détruisant au moins 99,99% des bactéries d'un inoculum ($< 0,01\%$ de survivants) et donc dans notre cas, à la dilution minimale à laquelle les milieux de culture (ensemencés par les dilutions supérieures ou égales à la CMI) ne présentent pas de croissance visible à l'œil nu.

Les résultats sont exprimés dans le tableau XIX.

Tableau XIX : Résultats des CMB (mg/ml) pour les souches bactériennes testées			
Echantillon de miel	E1	E2	E3
Germe			
<i>Escherichia coli</i>	>512 	256 	>512 
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	512 	512 	256 

	256	128	128
<i>Staphylococcus aureus</i>			

- Pour *Escherichia coli* il y a eu une culture bactérienne pour les milieux correspondants aux dilutions 256mg/l et 512mg/l (pour les miels E1 et E3) la CMB est donc supérieure à 512mg/ml. Pour le miel E2 aucune croissance visible n'a été observée pour les milieux correspondants aux dilutions 256mg/l et 512mg/ml dans ce cas la CMB=CMI est de l'ordre de 256mg/ml.
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* il y a eu une culture bactérienne pour les milieux correspondants aux dilutions de 256mg/l (pour les miels E1 et E2) la CMB est donc de l'ordre de 512 mg/ml. Pour le miel E3 aucune croissance visible n'a été observée pour les milieux correspondants aux dilutions 256mg/l et 512mg/ml dans ce cas la CMB=CMI est de l'ordre de 256 mg/ml.
- Pour *Staphylococcus aureus* il y a eu une culture bactérienne pour les milieux correspondants aux dilutions de 128mg/l (pour le miel E1) la CMB est donc de l'ordre de 256 mg/ml. Pour les miels E3 et E2 aucune croissance visible n'a été observée pour les milieux correspondants aux dilutions 128mg/ml, 256mg/l et 512mg/ml dans ce cas la CMB=CMI est de l'ordre de 128 mg/ml.

DEUXIÈME PARTIE :
PARTIE EXPÉRIMENTALE

DISCUSSION

1. Analyse physico-chimique des échantillons de miel

1.1. Taux d'humidité

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré de maturité du miel, et renseigne sur la stabilité du produit contre la fermentation durant la conservation.

Les réglementations internationales CEU (Counsil of-European Union), TSE (Turkish Standard Institute) et CODEX ALIMENTARIUS qui fixe un maximum de 21%. **(Sib, 2007).**

La teneur en eau du miel peut être affectée par de nombreux paramètres dont la saison de récolte (printemps et été), l'humidité initiale du nectar et du miellat, le degré de maturité atteint, ainsi que l'origine géographique **(Nanda et al., 2003)**

La faible teneur en humidité protège le miel de la contamination microbiologique et donc il peut être conservé pendant des périodes plus longues **(El-Sohaimyet al., 2015).**

L'analyse de 15 échantillons de miels a donné des valeurs comprises entre 14 et 18%, avec une valeur moyenne de 15,55% pour les miels locaux et 17% pour les miels importés, par **YOUNES CHAOUICHE et al. (Mémoire algérien, 2018).**

Selon **Chibane et Djillali (Thèse Algérienne, 2007)**, en analysant des miels d'origines diverses, les valeurs obtenues varient entre 13 à 19,2% avec une moyenne de 17%. L'étude effectuée par **Amrouche et Kessi (Thèse Algérienne, 2003)** sur les miels algériens a révélé des valeurs comprises entre 15,0 et 22,6% avec une moyenne de 17,7 %.

Nos trois échantillons de miel utilisés dans cette étude présentent une teneur en eau à 20°C comprise entre 16 et 18% ce qui est conforme aux normes internationales et comparable aux résultats des études précédemment citées. Ces taux d'humidité indiquent que ces miels ont un bon degré de maturité et sont inclus dans la gamme approuvée par ces réglementations internationales. Ces résultats sont révélateurs d'un bon stockage des échantillons de miels étudiés.

1.2. Degrés Brix et densité

Le degré Brix du miel indique la quantité de matières sèches (en g) contenue dans 100 g de miel refroidi à 20°C. Il existe donc une légère différence entre le taux de sucres et le pourcentage de matière sèche d'un miel. Plus le miel est minéralisé, plus il contient de matières autres que des sucres et plus l'écart entre le véritable pourcentage de matière sèche (degré Brix) et le pourcentage de sucre risque de devenir appréciable.

Les trois échantillons de miel utilisés dans cette étude présentent des valeurs de degrés de Brix à 20°C très proches, comprises entre 80 et 83.5 °. Ces valeurs pourront être comparées par la suite aux taux de sucre.

Les valeurs de densité obtenues varient entre 1.41 et 1.42, nos résultats répondent aux normes de l'association française de la normalisation qui sont de 1.39 à 1.52.

1.3. pH

Le Codex Alimentarius (2001) et les Directives européennes 2014/63/UE (Conseil de l'Union européenne et Parlement européen, 2014) ne citent aucune valeur de référence pour le pH mais on le retrouve dans la littérature comme indicateur de l'origine botanique.

Le pH se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar et entre 4,5 et 5,5 pour un miel de miellat.

Les valeurs de pH obtenues à 20°C varient entre 3.7 et 4.11, ce qui indique que les trois échantillons de miel analysés sont des miels de nectar.

Tous les miels présentent un pH acide mais, qui peut considérablement varier d'un miel à l'autre. Une plage de fluctuation du pH allant de 2,25 à 5,5 est obtenue par **Terrab et al. (2002)** et **Achouri et al. (2015)**.

Le pH de 15 échantillons de miels analysés oscille entre 3,75 et 5,44 avec une moyenne de 4,29 pour les miels locaux et 4,27 pour les miels importés, résultats obtenus par **YOUNES CHAOUICHE et al. (Mémoire Algérien, 2018)**.

Le pH dépend de la richesse du miel en acides organiques, tels que les acides gluconiques, pyruviques, maliques et citriques, et en éléments minéraux (**Cavia et al., 2007**).

1.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique représente 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 elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée (**Mazrou, 2008**).

La conductivité électrique du miel de miellat est supérieure à 0,8 mS/cm et celle de nectar est inférieure à 0,8 mS/cm. Elle est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée (**Bogdanov, 2005**).

Les résultats de conductivité électrique des trois échantillons de miel analysés à 20°C varient entre 0.2 et 0.8mS/cm ce qui signifie que ce sont des miels de nectar.

L'analyse de la conductivité électrique de 15 échantillons de miel a donné quatorze résultats inférieurs à 0.8mS/cm ainsi qu'un résultat supérieur à 0.8mS/cm, par **YOUNES CHAOUCHE et al. (Mémoire Algérien, 2018)**.

1.5. Acidité Libre

Les valeurs de l'acidité libre obtenues varient entre 3 et 5 méq/kg. Ces valeurs sont inférieures à la norme maximale fixée par le Codex Alimentarius (2001) qui est de 50 méq/kg.

Ces résultats sont également moindres par rapport à ceux obtenues par **Finola et al., 2007**, **Ozcan et al., 2006**, et se rapprochent de certains échantillons de Tizi-Ouzou étudiés par **Kantaoui et Kherraz (Thèse Algérienne 2016)**.

Le miel contient une large gamme d'acides issus pour certains du nectar directement, pour d'autres de réactions enzymatiques et de fermentations (**Lequet, 2010**). Elle est due particulièrement à l'acide gluconique et à quelques ions inorganiques comme les phosphates et les sulfates.

La variation des résultats obtenues par ces études dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou à des variations de la saison de la récolte (**Pe'rez-Arquillue et al. 1995**). L'acidité naturelle du miel s'accroît avec le vieillissement du miel, lorsqu'il est extrait de rayons avec de la propolis et notamment lorsqu'il s'altère par fermentation (**Horn et Lullman, 1992**).

1.6. Teneur en sucres réducteurs

Le dosage en sucres réducteurs des trois échantillons de miel analysés révèle des valeurs qui oscillent entre 62 et 68%. Ces valeurs correspondent aux normes fixées par le Codex Alimentarius qui exige une teneur en sucres réducteurs supérieure à 60%.

Les résultats obtenus se rapprochent de la teneur en sucres réducteurs des miels d'origine marocaine (**O. BELHAJ et al, 2015**), et de la teneur en glucose+fructose de chaque variété de miel d'El Taref, d'Annaba, de Skikda, de Soukahress et de Tebessa (**AMRI A, 2006**).

Ce paramètre est considéré comme étant un indicateur de conservation. Pour le miel, la présence de grande quantité de sucres réducteurs (glucose + fructose) traduit l'aptitude du produit à devenir hygroscopique (**EXAMA, 1995**). Le fructose est largement responsable de

l'hygroscopicité du miel. Le glucose, quant à lui, est le principal responsable de la cristallisation (Manikis et col. ,2001).

1.7. Saccharose

Le taux de saccharose de nos échantillons de miel se situe entre 1.9 et 2.85%, ce qui répond aux recommandations établies par le codex Alimentarius qui fixe une limite maximale de 5%.

Ces valeurs se rapprochent du taux moyen de saccharose de quatre miels marocains qui est de 2.62 % (O. BELHAJ et al, 2015), et sont supérieures au taux de saccharose infime retrouvé dans le miel d'eucalyptus de Tlemcen qui est de 0.3705 % (Benameur A, 2014).

Le miel est produit par les abeilles à partir du nectar sucré des fleurs. Par conséquent le miel devrait être riche en saccharose, ce qui n'est pas le cas. En effet, le saccharose prélevé par les abeilles sur les fleurs, passe par leur jabot où se trouvent les enzymes capables de transformer le sucre en glucose et fructose. Ainsi le miel est pauvre en saccharose mais très riche en glucose et fructose, directement assimilables quand on l'absorbe. Le miel est en quelque sorte pour l'homme du sucre prédigéré (Benameur A, 2014).

Une teneur plus élevée en saccharose observée dans un échantillon du miel pourrait être attribuée à des raisons telles que la suralimentation des abeilles avec du sirop de saccharose, la falsification ou la récolte précoce de miel, le saccharose n'étant pas été entièrement transformé en glucose et fructose (Anklam, 1998 ; Azeredo et al., 2003 ; Guler et al., 2007).

1.8. HMF (Hydroxymethylfurfural)

L'analyse spectrométrique des échantillons de miel révèle des teneurs en HMF qui sont situées entre 7.03 et 10.32 mg/kg.

La teneur en HMF des miels E1, E2 et E3 sont conformes à la norme fixée par le Codex Alimentarius (2001) qui est d'une valeur maximale de 60 mg/kg.

Ces valeurs sont proches de celles obtenues après analyse des miels d'Eucalyptus, Caroube et de Zegoum marocains, le miel de thym présente la teneur la plus élevée qui est de 100mg/kg ce qui signifie que le miel a été chauffé (O. BELHAJ, 2015).

Les échantillons de miels analysés par MEZHOUD I (2013) contiennent un taux d'HMF légèrement supérieur aux résultats qu'on a obtenu avec une moyenne de 14.89 mg/kg.

La teneur en HMF augmente naturellement lors du stockage à cause de la décomposition de fructose catalysée par un acide ou par traitement thermique [65].

Par contre le chauffage du miel l'accélère énormément et ce quel que soit la nature du miel, ce qui fait de lui le critère le plus important et le plus fiable pour détecter les miels surchauffés [66].

2. Évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

2.1. Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

La sensibilité des bactéries aux différentes concentrations des échantillons de miels, est déterminée selon le diamètre du halo d'inhibition obtenu par méthode de diffusion sur gélose (par disques et par puits) présenté par les Tableaux XX et XXI. Le seuil de sensibilité utilisé pour la lecture :

Germe résistant **(R)** < 10 mm

Germe sensible **(S)** > 10 mm

Germe de sensibilité intermédiaire **(I)** = 10 mm

Tableau XX : Récapitulatif des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par l'aromatogramme.

Miels Souches	E1				E2				E3			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100 %	25%	50%	75%	100 %	25%	50%	75%	100 %
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	14 (S)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	16 (S)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	19 (S)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	18 (S)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	24 (S)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	30 (S)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	00 (R)	00 (R)	11 (S)	21 (S)	00 (R)	00 (R)	15 (S)	22 (S)	00 (R)	00 (R)	11 (S)	20 (S)

Tableau XXI : Récapitulatif des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par la méthode de diffusion par puits.

Miels Souches	E1				E2				E3			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	25%	50%	75%	100 %	25%	50%	75%	100 %	25%	50%	75%	100%
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	12 (S)	00 (R)	00 (R)	11 (S)	18 (S)	00 (R)	00 (R)	10 (I)	17 (S)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	00 (R)	16 (S)	17 (S)	28 (S)	10 (I)	21 (S)	25 (S)	32 (S)	00 (R)	19 (S)	26 (S)	30 (S)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	00 (R)	00 (R)	10 (I)	20 (S)	00 (R)	00 (R)	18 (S)	20 (S)	00 (R)	00 (R)	11 (R)	23 (S)

D'après les résultats présentés par les Tableaux XX et XXI on constate que l'action du miel sur les trois germes testés varie d'une part selon l'échantillon de miel et sa concentration et d'autre part selon la souche bactérienne. On remarque également que la technique de diffusion en puits présente de meilleurs résultats que l'aromatogramme ce qui peut être expliqué par une moins bonne diffusion du miel par la méthode des disques.

Pour les deux techniques de diffusion sur gélose, les trois échantillons de miel ont montré un extrême effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* et un peu moins sur *Pseudomonas aeruginosa*, alors que l'activité inhibitrice est encore moindre sur *Escherichia coli*.

Il apparaît donc que *Staphylococcus aureus* (Gram +) présente une grande sensibilité vis-à-vis des miels analysés, avec un diamètre d'inhibition assez grand pouvant aller jusqu'à 32mm de diamètre (miel d'Eucalyptus : E2 à 100%) ce qui est plus élevé que les diamètres obtenus avec les antibiotiques testés par l'antibiogramme (Annexe VIII).

Des résultats similaires ont été rapportés dans l'étude de **Sib A., (2007)** où l'activité antibactérienne du miel a été testé sur *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), les zones d'inhibitions trouvées oscillent entre 29.34 mm et 34 mm.

Les travaux de **ATAMNA et al (2017)** montrent une inhibition de *Staphylococcus aureus* à partir d'une concentration de miel de 25% pour des diamètres allant de 20 à 28 mm, résultats qui confirment la sensibilité de cette bactérie au miel. Plusieurs autres études vont également dans ce sens montrant des zones d'inhibitions importantes, exemple : **Allen et al, (1991)** ; **Molam et al, (1998)**.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* les miels ont été assez actifs avec des diamètres d'inhibition allant de 10 mm à 23mm pour les concentrations (75% et 100%) ce qui correspond aux résultats trouvés par **Kerdouci et al (2013)** qui pour les mêmes concentrations de miel (75% et 100%) donne des diamètres allant de 8 à 23 mm, les travaux de **Hafsaoui et al (2019)** montrent également des diamètres d'inhibition moyen de 20 mm.

Escherichia coli est la moins sensible des bactéries testées avec des zones d'inhibition ne dépassant pas 19mm, les miels ayant été vraiment actifs qu'à l'état pur, ces résultats ne sont pas loin de ceux obtenus par **Bouchama et al (2015)** avec des diamètres d'inhibitions moyens de 15 mm.

L'étude de **Tifouti et al (2018)** sur l'activité antibactérienne du miel testé sur *Escherichia coli* montre des résultats comparables aux nôtres : le miel possède un effet inhibiteur à l'état pur sur la croissance bactérienne avec des diamètres allant de 10 à 23 mm.

Les résultats de la présente étude ont montré que *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie à Gram positif était plus sensible qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont des bactéries à Gram négatif.

Cette sensibilité plus marquée des Gram (+) par rapport aux Gram (-) vis-à vis du miel a déjà été observée dans plusieurs études antérieures, elle peut être attribuée à la différence de structure membranaire des trois souches. En effet, la paroi cellulaire des bactéries à Gram+ est constituée

d'une seule couche alors que celle des Gram- est plus complexe car possédant une structure multicouche laissant difficilement pénétrés les substances actives (Annexe IX) [67].

Les résultats obtenus montrent clairement que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des trois échantillons de miel, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui montre le large spectre d'action du miel. Cet effet antibactérien est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives.

Cette activité antibactérienne est sujette à controverse. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène :

- Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes. Cette solution concentrée de glucides retire, après absorption, l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes.
- De plus, son degré d'acidité, et la valeur de pH le plus souvent faible inhibe la multiplication des bactéries.
- En outre, le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine du miel.
- Le miel contient la défensine-1, un peptide antimicrobien qui a été déjà isolée de la gelée royale produite par les jeunes ouvrières. Ce peptide contribue de manière significative à l'activité antibactérienne du miel.

L'interaction complexe d'espèces végétales, physiologie végétale, les conditions de croissance, les variations saisonnières et la physiologie des abeilles rendent difficile de prédire si oui ou non un échantillon de miel donné est susceptible d'avoir une activité antimicrobienne [39].

2.2. Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

L'activité intrinsèque des échantillons de miel a été évaluée selon le ratio CMB/CMI présenté dans le Tableau XXII.

Sachant que : Si $CMB/CMI \leq 2$ l'effet est bactéricide.

Si CMB/CMI 4 à 16, l'effet est bactériostatique.

Si $CMB/CMI > 16$ la bactérie est tolérante [68].

Tableau XXII : Évaluation de l'effet antibactérien intrinsèque des échantillons de miel avec le ratio CMB/CMI

Echantillon de miel Germe	E1			E2			E3		
	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/ CMI	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/ CMI	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/ CMI
<i>Escherichia coli</i>	256	>512	>2	256	256	1	256	>512	>2
				Bactéricide					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	256	512	2	256	512	2	256	256	1
	Bactéricide			Bactéricide			Bactéricide		
<i>Staphylococcus aureus</i>	128	256	2	128	128	1	128	128	1
	Bactéricide			Bactéricide			Bactéricide		

Après l'analyse des résultats du Tableau XXII il apparaît donc que *Staphylococcus aureus* présente une plus grande sensibilité aux miels que les deux autres bactéries, avec des CMI de l'ordre de 128mg/ml et des CMB entre 128 et 256mg/ml, l'effet inhibiteur des miels sur *Escherichia coli* restent le plus faible ce qui confirme les résultats obtenus par méthode de diffusion sur gélose.

KWAKMAN et al. (2008) ont étudié l'effet d'un échantillon de miel médical « REVAMIL » vis-à-vis des bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* Après 24 heures, toutes les souches ont été tuées avec une concentration comprise entre 128mg/ml et 512 mg/ml : résultats qui sont comparables aux nôtres

AHMED et al. (2012) ont rapporté des résultats de CMI de l'ordre de 896mg/ml et de 512mg/ml- 1024 mg/ml vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* respectivement : valeurs supérieures à ceux trouvées lors de notre étude.

Les travaux de **Bouchama et al. (2014)** portant sur l'activité antibactérienne des produits de la ruche montrent des résultats différents de ceux trouvés lors de notre étude avec des CMI et CMB de l'ordre de 256 mg/ml pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

En évaluant les ratios CMB/CMI (Tableau XXII), il a été constaté que les trois échantillons de miel avaient détruit *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* leur effet sur ces bactéries est donc bactéricide, contrairement à *Escherichia coli* pour laquelle seul le miel d'Eucalyptus (E2) a été bactéricide, pour le miel de Thym E1 et le miel toutes fleurs E3 la CMB n'ayant pas pu être déterminée (CMB>512mg/ml) du fait de la présence de culture bactérienne à une concentration de 512mg/ml, le rapport CMB/CMI n'est donc pas interprétable.

Dans l'ensemble notre étude a abouti à des résultats qui concordent avec les travaux présents dans la littérature.

On note toutefois une légère divergence avec quelques études, cette variation peut être attribuée à la composition et l'origine florale de chaque miel, en effet chaque miel mono floral, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui. Ce qui explique également la différence de sensibilité des germes vis à vis des miels testés dans notre étude.

D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel, donc sur ses effets thérapeutiques, tels que :

- L'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée)
- La nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et le mode d'extraction de miel
- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité [39].

Dans le cadre de la présente étude, des contraintes et difficultés peuvent être soulevées :

- La principale contrainte est la nature visqueuse du miel qui engendre des difficultés de diffusion et d'homogénéité des dilutions et préparations, afin d'optimiser la solubilité du

miel un solvant organique le DMSO aurait pu être utilisé mais celui-ci présente une activité antibactérienne susceptible de fausser les résultats obtenus.

- Chaque miel étant unique de par son origine botanique et florale, ses propriétés thérapeutiques et donc antibactériennes le sont également et diffèrent d'un miel à l'autre d'où la divergence de nos résultats avec certaines études.

CONCLUSION

CONCLUSION

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés : nutritionnel, thérapeutique et antimicrobienne très intéressante à exploiter au profit de la médecine curative et préventive.

L'Algérie possède une diversité végétale et des conditions climatiques favorables pour les abeilles ce qui lui donne l'avantage d'avoir un miel de bonne qualité et de différentes vertus nutritionnels et thérapeutiques.

Notre étude a été réalisée afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* d'échantillons de miel récolté dans trois régions du pays (Tbessa, Tizi-Ouzou, Chlef).

Cependant, une première étape a tout d'abord été effectuée avec différentes analyses physico-chimiques pour assurer la caractérisation et la qualité du miel étudié, les résultats obtenus nous permettent de constater que nos miels s'accordent avec les normes établies par le codex alimentarius, notamment le taux d'humidité et l'acidité libre critères importants pour connaître les conditions de stockage et de fermentation du miel, pour qui les résultats ont été conformes aux normes, ainsi que la conductivité électrique et le pH qui nous ont permis de confirmer que les échantillons étudiés sont des miels de nectar.

Les valeurs de saccharose et de sucres réducteurs répondent aux recommandations du Codex Alimentarius ce qui prouvent que les miels analysés ne sont pas falsifiés, les valeurs trouvées pour l'HMF qui est un indice de fraîcheur sont également conformes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel a été réalisée *in vitro* sur une gamme de microorganismes de référence (ATCC) fournis par le service de Microbiologie du CHU Nedir Mohammed.

Les résultats de l'aromatogramme montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram+ et à Gram-, tous les germes testés ont été sensibles avec une certaine variabilité d'un échantillon de miel à un autre et d'une souche à une autre, Cet effet antibactérien est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives.

On constate que le pouvoir antibactérien du miel est plus marqué pour les souches à Gram+ notamment le miel d'Eucalyptus (E2) qui a présenté des diamètres d'inhibition pouvant aller jusqu'à 32 mm vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* surpassant les diamètres trouvés avec l'antibiogramme, l'effet du miel sur *Pseudomonas aeruginosa* est assez important, l'activité

CONCLUSION

inhibitrice est moindre pour *Escherichia coli* qui s'est avéré le germe le moins sensible de notre étude.

Les résultats de la CMI et CMB a montré l'effet bactéricide des trois miels analysés sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, seul le miel E2 a présenté un effet bactéricide sur *Escherichia coli*.

Les résultats de la présente étude ouvrent plusieurs perspectives, il serait donc intéressant de :

- Approfondir l'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres espèces pathogènes.
- Etude de la synergie d'action avec les antibiotiques.
- Réalisation d'essais clinique pour l'évaluation *in vivo* de l'activité antimicrobienne du miel.
- Synthétiser des produits pharmaceutiques et cosmétologique à base de miel
- Introduire les formulations à base de miel en milieu hospitalier.
- Approfondir l'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres types de miels.
- Etude de l'activité cicatrisante du miel sur les plaies purulentes ou infectées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Viel C., Doré J.C. Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche. Dans : *Revue d'histoire de la pharmacie*, Société d'histoire de la pharmacie, 2003;337 :7-20.
- [2] Codex norme pour le miel CODEX STAN 12-1981.
- [3] Cavelier E. Le miel : Composition et techniques de production [Mémoire]. Paris : Université de Sorbonne Nouvelle-Paris 3; 2013.
- [4] Romano B. Le chemin du miel. L'école à la ferme, AGRIDEA, 2009 : 4.
- [5] Guide du miel. Miels monofloraux ou miels de cru [En ligne]. 2019 [consulté le 10 décembre 2019]. Disponible sur <http://www.guide-du-miel.com/Lemiel/Miels-monofloraux.html>
- [6] Guide du miel. Miels polyfloraux [En ligne]. 2019 [consulté le 10 décembre 2019]. Disponible sur <http://www.guide-du-miel.com/Lemiel/Miels-polyfloraux.html>
- [7] Le miel et les abeilles. La fabrication du miel [En ligne]. 2019 [consulté le 09 décembre 2019]. Disponible sur : <http://le-miel-et-les-abeilles.e-monsite.com/>
- [8] Figure 1 : Le miel et ses vertus. L'élaboration du miel [En ligne]. 2019 [consulté le 09 décembre 2019]. Disponible sur : <http://mielmgv.e-monsite.com/>
- [9] Famille Michaud : Apiculteurs depuis 1920. La Fabrication du miel [En ligne]. 2019 [consulté le 09 décembre 2019]. Disponible sur : <http://www.famillemichaud.com/>
- [10] Guide du miel. Composition du miel [En ligne]. 2019 [consulté le 13 décembre 2019]. Disponible sur <http://www.guide-du-miel.com/Lemiel/Composition-du-miel.html>
- [11] GONNET M. Les modifications de la composition chimique des miels au cours de la conservation. Ann. Abeille, INRA édition, 1965;8(2):129-146.
- [12] Hoyet C. Le miel : De la source à la thérapeutique [Mémoire]. Nancy : Université de Poincaré; 2005.
- [13] GONNET M., LAVIE P., LOUVEAUX J. La pasteurisation des miels. Ann. Abeille, INRA édition, 1964; 7(2):81-102.
- [14] Paul SCHWEITZER. La couleur des miels (2016) [En ligne]. 2016 [consulté le 21 décembre 2019]. Disponible sur : <https://www.apiservices.biz/>
- [15] Abid M. Évaluation de l'activité antifongique des miels Algériens vis-à-vis deux souches de *Candida albicans* [Mémoire]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd; 2017.
- [16] CARI. Dégustation du miel [En ligne]. 2019 [consulté le 21 décembre 2019]. Disponible sur : <http://www.aubonmiel.com/>
- [17] Institut Numérique. Paramètres physiques du miel [En ligne]. 2020 [Consulté le 3 janvier 2020]. Disponible sur : <https://www.institut-numerique.org/>
- [18] SANA Hanane. Etude des propriétés physicochimiques et antioxydantes du miel soumis au vieillissement accéléré [Mémoire]. Bejaia : Université A. MIRA – Bejaia ; 2017.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [19] Melibiotech, l'expert du miel médical. Le miel : propriétés physiques [En ligne]. 2020 [Consulté le 3 janvier 2020]. Disponible sur : <http://www.melibiotech.com/>
- [20] Küçük M , Kolayli S , Karaolu S, Ulusoy E, Baltaci C and Candan F . Biological activities and chemical composition of three honeys of different types of Anatolia .Food Chemistry. 2007; 100: 526-534.
- [21] Jean-Louis PERDRIX. Les critères de qualité du miel [En ligne]. 2020 [Consulté le 3 janvier 2020]. Disponible sur <http://abeilleduforez.tetraconcept.com/>
- [22] Deschamps V.C. Production et commercialisation du miel. [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier; 1998 .
- [23] Tosi E .A , Ré E , Lucero H and Bulacio L. Effect of honey high temperature short-time heating on parameters related to quality , cristallisation phenomena and fungal inhibition .Lebensm-Wiss.u-Techol. 2004; 37 : 669-678.
- [24] Chauvin R . Composition propriété et technologie du miel. Traité de biologie de l'abeille : Les produits de la ruche . 3^e éd. Paris : Ed Masson et Cie; 1968.
- [25] YahaiaMahammed S, YahaiaMahammed W.Analyses physico-chimique de quelque miel de la wilaya:Ain Defla [Mémoire]. Khemis Miliana : Université Djilali Bounaama; 2015.
- [26] CARI. Qualité et analyse du miel [En ligne]. 2020 [consulté le 03 Janvier 2020]. Disponible sur : <http://www.aubonmiel.com/>
- [27] Mallein J.F. Comment vérifier l'origine d'un miel ? [En ligne]. 2019 [consulté le 28 Décembre 2019]. Disponible sur : <https://www.miel-direct.fr/>
- [28] BessasA.Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien[Mémoire]. Sidi Bel Abbes : Université DjillaliLiabes; 2008.
- [29] Guerzou MN, Nadji N. Etude comparative entre quelques miels locaux et importés[Mémoire]. Djelfa : Université ZianeAchour;2002.
- [30] Lobreau-Callen D, Clément MC, Marmion V. Les miels. Paris : Éditions Techniques de l'ingénieur; 2000.
- [31] Meda A, Lamien CE, Marco R, Millogo J, OG Nacoulmaa. Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 2005, vol. 91 (3) : 571-577.
- [32] Genot C, Eymard S, Viau M. Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? Oléagineux, corps gras, lipides, 2004, vol.11 (2) : 133-141.
- [33] Bogdanov S, Gallman P, Stangaciu S, Theodortc T. Produits apicoles et santé. ALP Forum, 2006, vol 41F : 52.
- [34] Descottes B. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. Phytothérapie, 2009, vol 7 (2) :112-116.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [35] Assie B. Le miel comme agent cicatrisant [Mémoire].Toulouse : Université Toulouse III, 2004.
- [36] Olaitan PB, Adeleke OE, Ola LO. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *After Health Sci*, 2004, vol.7 (3) : 159-165.
- [37] Rossant A. Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes [Mémoire]. Limoges : Université de Limoges; 2011.
- [38] Jonard L, Banh L, Pressac M, Just J, Bahuau M. Les défensines en physiopathologie humaines. *Revue générale et analyse prospectives IBS*, 2006, vol.21 (6) : 342-347.
- [39] Merah M, Bensaci Bachagha M, Boudierhem A. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel récoltés sur le territoire algérien [Mémoire]. Ouargla : Université de Ouargla; 2010.
- [40] Healthline. Health benefits of honey [En ligne]. 2020 [consulté le 02 mars 2020]. Disponible sur : <https://www.healthline.com/>
- [41] L'Abeille du Forez. Apithérapie : Le miel et ses propriétés [En ligne]. 2020 [consulté le 02 mars 2020]. Disponible sur : <http://abeilleduforez.tetraconcept.com/>
- [42] Compagnie des sens. Propriétés thérapeutiques du miel [En ligne].2020 [consulté le 02 mars 2020]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/>
- [43] BALAS Fanny. Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en Médecine générale [Thèse]. Nice :faculté de médecine de Nice, le jeudi 19 mars 2015.
- [44] Ahmad A, Azim MK, Mesaik MA, Khan RA. Natural honey modulates physiological glycemic response compared to stimulated honey and D-glucose. *J Food Sci*. 73(7) :165-7. 2008.
- [45] Shambaugh P, Worthington V, Herbert JH. Differential effects of honey, sucrose, and fructose on blood sugar levels. *J Manipulative Physiol Ther*. 13(6): 322-5. 1990.
- [46] Ouibrahim C. Le miel, nouveau traitement contre la prolifération de certains cancers ? [En ligne]. 2019 [consulté le 14 mars 2020]. Disponible sur : <https://www.bioalaune.com/fr>
- [47] Irlande D. Le miel et ses propriétés thérapeutiques, Utilisation dans les plaies cutanées [en ligne]. 2014 [consulté le 14 mars 2020]. Disponible sur : www.hippocratus.com
- [48] Donadieu Y. Toutes les thérapeutiques de ma pharmacie naturelle : les produits de la ruche. Lavoisier Ed, p .12 ; 1984.
- [49] Apiculture.net, Réfractomètre spécial miel [En ligne].2020 consulté le 16 Avril 2020.Disponible sur : <https://www.apiculture.net/medias/200-1000-RefractoRHB-90ATC.pdf>
- [50] Bogdanov S, Lüllman C, Martin P, Von Der Ohe W, Russmann H, Vorwohl G, Persano-Oddo L et al. 1999. Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 80(2): 61–69.
- [51] HARMONISED METHODS OF THE INTERNATIONAL HONEY COMMISSION (I.H.C.), 2002 - International Honey Commission, Swiss Bee Research Centre, 62 p.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[52] Bogdanov S. Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie. p 1-59. 1997.

[53] Younes Chaouche L, Bounsiar N. Contrôle qualité des miels locaux [Mémoire]. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou; 2018.

[54] Bogdanov S, Lullmann C, Martin P. Qualité du miel et norme international relative au miel. Rapport de la commission international du miel. Abeille Cie N° 71-4.1 2p. 2001.

[55] Benameur A. Etude physico-chimique et pollinique du miel eucalyptus globulus de la région de Tlemcen. [Mémoire] Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen, 2013.

[56] Salgarolo P. Pratique des manipulation de chimie ; Paris : Salgarolo Edition.2003.

[57] Bradford M.M ; A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the Principe of protein-dye binding; Analytical biochemistry ; 72 ;1976 ; 248-254.

[58] Huchet E, Coustel J et Guinot L. Les constituants chimiques du Miel [En ligne].1996 [Consulté le 11/04/2020].Disponible sur : <https://www.apiservices.biz/fr/articles/326-les-constituants-chimiques-du-miel>.

[59] White JW.Spectrophotometricmethod for hydroxymethylfurfural in honey. J Assoc Off Anal Chem.1979 ;Vol 62 :509-514.

[60] Rahal K, Belouni R et Benslimani A.(2005).Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de L'OMS. 4ème édition. Algérie; 2005 : P7-P8.

[61] Avril JL, Fauchère JL. Bactériologie générale et médicale. Paris: Editions Ellipses; 2002 : p368.

[62] Zaika L. Spices and Herbs, Their Antimicrobial Activity and Its determination. Journal of Food Safety. 1988; 9(2) :97-118.

[63] Vlietinck AJ et Berghe VA. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. Methods for Plant Biochemistry. 1991; vol 6 : 47-68.

[64] Chauhan A, Pandey V, Chacko KM et Khanoal RK. (2010). Antibacterial activity of raw and processed honey. Electronic journal of biology.2010; 5(3) :58-66.

[65] Crane E. A Book of Honey. Londre : Encore Editions;1980.

[66] Karabournioti S., Zevalaki . Les effets du chauffage sur le HMF et l'invertase des miels. Apiacta.2001; 36(4); 178-181.

[67] Salwa HA. et Maher A. (2014). Antibacterial Potential and Physicochemical Properties. Global Advanced Research Journal, 3 (3):049-058.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[68] Grare M. De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphenols cycliques de type calixarène [Thèse]. Nancy : Université henry poincaré;2009.

ANNEXES

Annexe I : Composants du réfractomètre Chincan FG 116.



Annexe II : pH-mètre.

Définition :

Le pH-mètre est un appareil permettant de mesurer le pH d'une solution. Il est constitué de deux éléments : un boîtier électronique qui affiche la valeur du pH et une électrode qui mesure cette valeur.

Fonctionnement :

Le fonctionnement du pH-mètre est basé sur le rapport entre la concentration en ions H_3O^+ et la différence de potentiel électrochimique qui s'établit dans l'électrode de verre. En général cette électrode est une électrode combinée, c'est-à-dire qu'elle est constituée de deux électrodes : une dont le potentiel est connu et constant et l'autre dont le potentiel varie avec le pH. Le potentiel entre ces deux électrodes est nul à $pH=7$. On peut alors déterminer la valeur du pH par corrélation car la différence de potentiel entre les deux électrodes évolue proportionnellement au pH.

Étalonnage

Le pH-mètre est étalonné avant chaque campagne de mesures avec deux solutions tampon. Selon les mesures à effectuer, on étalonne par exemple par une solution de $pH=7$ puis par une solution de $pH=4$ pour faire des mesures en milieu acide, ou par une solution de $pH=7$ puis une solution de $pH=10$ pour des mesures en milieu basique. Les valeurs des mesures sont idéalement comprises entre les deux valeurs de pH des solutions tampon utilisées (les valeurs de $pH=4$, 7 et 10 sont les plus communément rencontrées parmi les solutions tampon).

Annexe III : Conductimètre.

Définition :

Un conductimètre est un appareil permettant de mesurer la conductivité d'une solution. Il est constitué de deux parties : un boîtier électronique qui affiche la valeur de la conductivité et d'une cellule qui mesure cette valeur.

Fonctionnement :

La mesure de la conductivité se fait en courant alternatif pour éviter la polarisation des électrodes. L'appareil mesure la tension aux bornes d'une cellule plongeant dans la solution à étudier et l'intensité du courant qui y circule.

Les cellules sont en général formées de deux plaques conductrices parallèles de section S , séparées par une distance l . Le rapport $S/l, K$, est appelé constante de cellule et dépend de la cellule. Il permet de passer de la conductance G à la conductivité σ .

$$G=1/R=\sigma/K$$

G est la conductance en S , R est la résistance en Ω et K est la constante de cellule en m . Pour une cellule donnée, la conductance et la conductivité sont donc proportionnelles. L'appareil peut afficher la conductance ou directement la conductivité.

Etalonnage :

Pour étalonner le conductimètre on peut utiliser des solutions étalons ou des solutions dont la conductivité est connue. En général on utilise une solution de KCl .

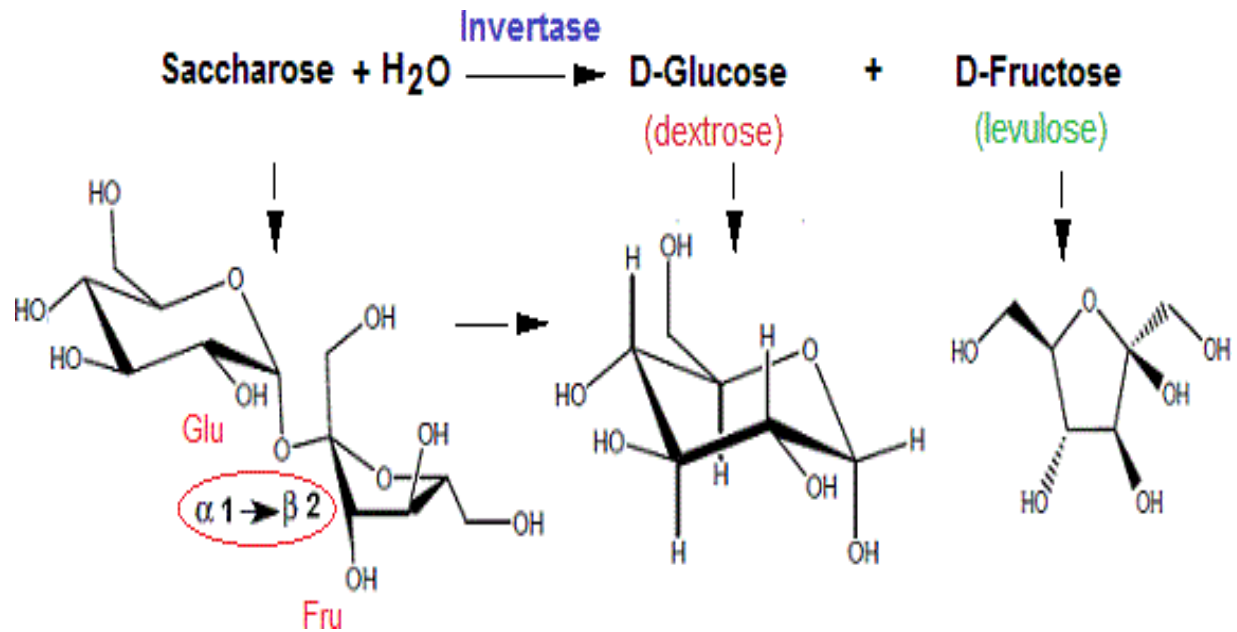
Annexe IV : Table de conversion des sucres en mg

sucres en mg	cuivre en mg	sucres en mg	cuivre en mg	sucres en mg	cuivre en mg
10	20,4	40	77,5	70	129,8
11	22,4	41	79,3	71	131,4
12	24,3	42	81,1	72	133,1
13	26,3	43	82,9	73	134,7
14	28,3	44	84,7	74	136,3
15	30,2	45	86,4	75	137,9
16	32,2	46	88,2	76	139,6
17	34,2	47	90,0	77	141,2
18	36,2	48	91,8	78	142,8
19	38,1	49	93,6	79	144,5
20	40,1	50	95,4	80	146,1
21	42,0	51	97,1	81	147,7
22	43,9	52	98,9	82	149,3
23	45,8	53	100,6	83	150,9
24	47,7	54	102,3	84	152,5
25	49,6	55	104,1	85	154,0
26	51,5	56	105,8	86	155,6
27	53,4	57	107,6	87	157,2
28	55,5	58	109,3	88	158,8
29	57,2	59	111,1	89	160,4
30	59,1	60	112,8	90	162,0
31	60,9	61	114,5	91	163,6
32	62,8	62	116,2	92	165,2
33	64,6	63	117,9	93	166,7
34	66,5	64	119,6	94	168,3
35	68,3	65	121,3	95	169,9
36	70,1	66	123,0	96	171,5
37	72,0	67	124,7	97	173,1
38	73,8	68	126,4	98	174,6
39	75,7	69	128,1	99	176,2
				100	177,8

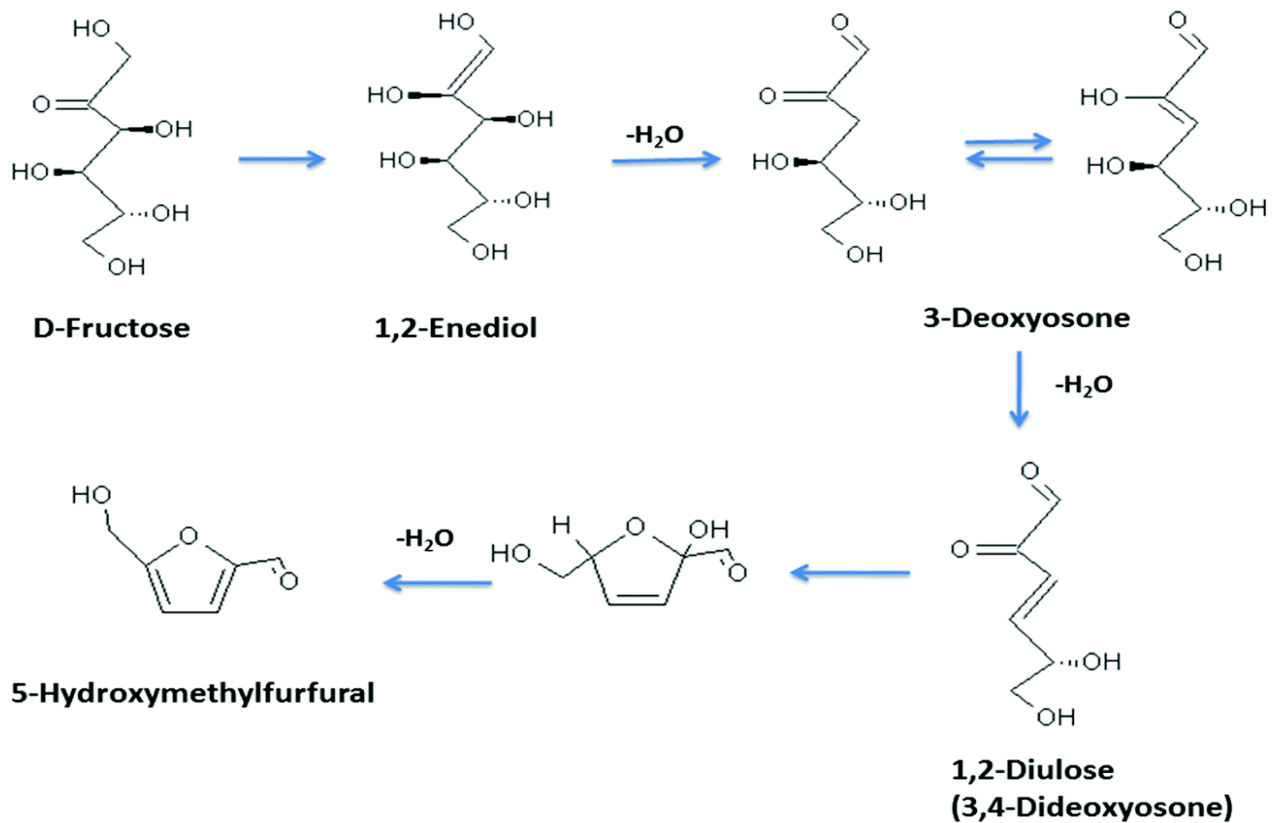
Annexe V : Table de correspondance des sucres invertis

sucres en mg	cuivre en mg	sucres en mg	cuivre en mg	sucres en mg	cuivre en mg
10	20,6	40	77,7	70	129,2
11	22,6	41	79,5	71	130,8
12	24,6	42	81,2	72	132,4
13	26,5	43	83,0	73	134,0
14	28,5	44	84,8	74	135,6
15	30,5	45	86,5	75	137,2
16	32,5	46	88,3	76	138,9
17	34,5	47	90,1	77	140,5
18	36,4	48	91,9	78	142,5
19	38,4	49	93,6	79	143,7
20	40,4	50	95,4	80	145,3
21	42,3	51	97,1	81	146,9
22	44,2	52	98,8	82	148,5
23	46,1	53	100,6	83	150,0
24	48,0	54	102,5	84	151,6
25	49,8	55	104,0	85	153,2
26	51,7	56	105,7	86	154,8
27	53,6	57	107,4	87	156,4
28	55,5	58	109,2	88	157,9
29	57,4	59	110,9	89	159,5
30	59,3	60	112,6	90	161,1
31	61,1	61	114,3	91	162,6
32	63,0	62	115,9	92	164,2
33	64,8	63	117,6	93	165,7
34	66,7	64	119,2	94	167,3
35	68,5	65	120,9	95	168,8
36	70,3	66	122,6	96	170,3
37	72,2	67	124,2	97	171,9
38	74,0	68	125,9	98	173,4
39	75,0	69	127,5	99	175,0
				100	176,5

Annexe VI : Action de l'invertase sur le saccharose



Annexe VII : Formation de l'hydroxyméthylfurfural



Annexe VIII : Résultats des antibiogrammes des souches bactériennes testées.

Résultats des antibiogrammes effectués pour <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)												
Antibiotique testé	TCC	NA	AMX	CL	C	CIP	SXT	CN	CAZ	CZ	AK	NIT
Diamètre d'inhibition (mm)	27	29	19	15	23	34	28	20	29	25	19	20

Résultats des antibiogrammes effectués pour <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)												
Antibiotique testé	DO	TE	CX	VA	C	CIP	SXT	CN	CD	RIF	AK	TEI
Diamètre d'inhibition (mm)	31	30	30	22	25	31	30	29	27	29	25	19
Antibiotique testé	E	FC	K	RP								
Diamètre d'inhibition (mm)	27	31	23	25								

Résultats des antibiogrammes effectués pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)												
Antibiotique testé	TCC	CN	TI	PI	CAZ	CIP	TOB	LE				
Diamètre d'inhibition (mm)	23	21	23	24	22	33	31	28				

Abréviations des antibiotiques testés :

AK : Amikacine

AMX : Amoxicilline

ANNEXES

C : Chloramphénicol

CAZ : Ceftazidime

CD : Clindamycine

CIP : Ciprofloxacin

CL : Colistine

CN : Gentamicine

CX : Cefoxitine

CZ: Cefazoline

DO:Doxycycline

E : Erythromycine

FC : Acidefusidique

K : Kanamycine

LE : Levofloxacin

NA : AcideNalidixique

NIT : Nitrofurantoine

PI : Pipéraciline

RIF : Rifampicine

RP : Pristinomycine(Quinupristine -Dalfopristine)

SXT : Co-Trimoxazole = Triéthoprime+ Sulfaméthoxazol

TCC : Ticarciline + AcideClavulanique

TE : Tétracycline

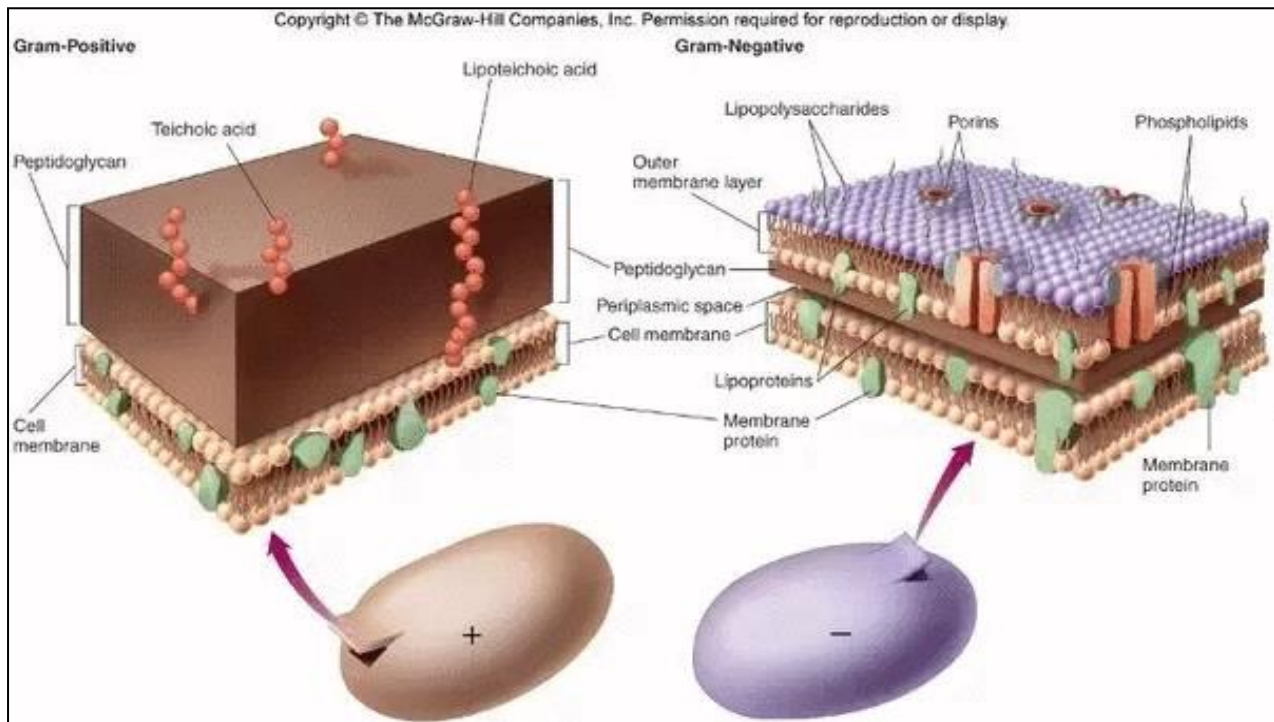
TEI: Teicoplanine

TI: Ticarciline

TOB: Tobramycine

VA: Vancomycine

Annexe IX : Structure membranaire des bactéries GRAM+ et GRAM-



Étude de l'Activité antibactérienne du miel.

Réalisé par : BOURBIA Mohamed, HAMITOUCHE Lina & LITAMINE Lynda

Encadrés par Docteur IBOUKHOULEF Sabrina, Maître Assistante Hospitalo-Universitaire en Hydro-bromatologie. Faculté de Médecine. UMMTO

❖ Résumé

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle et naturelle en Algérie et la situation actuelle où les antibiotiques de synthèse ont montré leurs limites face à l'émergence des résistances microbiennes, nous avons choisi d'étudier l'activité antibactérienne de trois échantillons de miel récoltés dans différentes régions du pays. Pour cela on a d'abord procédé à une analyse physico-chimique pour caractériser et assurer la qualité de nos échantillons, on a ensuite évalué leurs activités antibactériennes vis-à-vis de souches bactériennes de référence. Les échantillons de miel ont tous été conformes aux normes établies et se sont révélés actifs sur tous les germes testés notamment vis à vis de *Staphylococcus aureus* pour qui le miel a donné des diamètres plus élevés que les antibiotiques testés.

Mots clés : Activité antibactérienne, Miel naturel, Analyse physico-chimique, Bactéries à Gram+, Bactéries à Gram-.

❖ Abstract

In the context of the valorization of traditional and natural medicine in Algeria and the current situation where synthetic antibiotics have shown their limits toward the emergence of microbial resistance, we chose to study the antibacterial activity of three honey samples collected in different regions of the country. For this purpose, a physicochemical analysis was first carried out to characterize and ensure the quality of our samples, after that, we evaluated their antibacterial activities against reference bacterial strains. The honey samples were all in accordance with established standards and were found to be active on all tested germs, particularly against *Staphylococcus aureus*, for which the honey gave larger diameters than the tested antibiotics.

Keywords: Antibacterial activity, Natural honey, Physicochemical analysis, Gram+ bacteria, Gram-bacteria.