

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie

Filière : Sciences Alimentaires
Option: Biochimie de la Nutrition

Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du Diplôme Master en Biochimie de la Nutrition

Analyses physicochimiques et activité antioxydante et antimicrobienne de quelques miels de la wilaya de Tizi-Ouzou

Réalisé par:

AKHAL Yamina

BELKACEM Kaissa

BOUHADJER Zakia

Soutenu le : 22 /09/2022

Devant le jury :

Présidente: M^{me} MESSAOUDI D. MCB UMMTO

Promotrice: M^{me} SENANI N. MCB UMMTO

Co-promotrice: M^{elle} BOUADJELA L. Ingénieur CRAPC

Examinatrice: M^{me} BEDOUHENE S. MCA UMMTO

2021 – 2022

Remerciements

Nous remercions le bon Dieu pour nous avoir donnée le courage et la volonté afin de réaliser ce modeste travail avec passion harmonie et plaisir.

Nous sommes honorés d'avoir effectué notre stage de fin d'études au sein du laboratoire de biochimie de l'université de Mouloud Mammeri.

Nous tenons à remercier vivement notre promotrice Madame Senani et notre Co-promotrice Madame Bouadjela, d'avoir eu confiance en nous de nous avoir soutenues encouragées et d'avoir mis à notre disposition leurs savoirs et savoir-faire pendant toute la durée du stage avec leurs bien vaillances et une grande générosité dans leurs partages ce qui nous a permis d'acquérir une expérience enrichissante dans notre parcours.

Nous remercions vivement Monsieur Hargaz MAA à l'université de l' UMMTO de nous avoir fournies les échantillons de miel qui ont fait l'objet de notre étude , nous remercions tout particulièrement Madame Bedouhene MCA dans l'équipe de biochimie, Monsieur Msela MCA dans l'équipe de microbiologie et son étudiante Mademoiselle Mimouon pour leurs disponibilités et leurs générosités dans le partage de leurs savoir-faire.

Nous voulons exprimer notre reconnaissance à l'ingénieur du laboratoire de biochimie et les ingénieurs du laboratoire commun II de nous avoir facilité les accès et les manipulations au sains de leurs laboratoires, nous remercions le jury qui a examiné et jugé notre travail,

Nos remerciements les plus chaleureux s'adressent aussi à toutes nos familles qui nous ont encouragées soutenues et accompagnées avec patience et amour pour réaliser notre mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travaille à mes très chères parents qu'aucun mot au présent ne peut égaler tout ce qu'ils m'ont offert en temps, attention , amour et soutiens pour faire de moi la personne que je suis aujourd'hui.

Â ma très chère grand-mère qui est une école de la vie toujours positive et toujours là pour nous encourager,

Â mes très chères frère et sœur qui sont un cadeau de la vie chacun avec sa touche et sa personnalité m'enrichies chaque jour et leurs présence dans ma vie est inestimable et irremplaçable,

Â la famille Abella ,Hammadi ,Ichir, Tafat,Meghlaoui,Adjou, Tenbel , Habani et Smaili qui ont agrandis et enrichies notre famille par leurs présence.

Â ma très chère amie Anaïs toujours présente pour m'encourager et me soutenir dans cette aventure terrestre.

Â tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce modeste travaille en particulier mon beau-frère Rafik qui m'a apporté une aide inestimable et efficace, un grand merci pour Sofia, Fatima, Lynda et Kahina pour tous ce qu'elles ont fait pour moi.

Yamina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail.

A mes très chers parents, pour leurs sacrifices Durant toutes ces années d'études

A mon mari Foucef

Mes chers sœurs Linda, lwiza avec son marie Phavane et ma petite sœur Mili.

A mes frères Hacem, Amirouche, avec Foucef, Nadjib et leurs femmes Feta et Wiza.

A mes binômes Zakia et Famina et leurs familles

A tous ce qui mont aider de près et de loin

A tous ceux qui me sont chers

KAJOSKA

Dédicace

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

Je dédie ce travail

A ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.

A mes chères sœurs : Naïma et Nadia.

A mes chers frères : Racine et Rabah.

A mon beau frère : Sofiane.

A ma nièce : Léa.

A mon trinôme : Naïssa et Famina.

A tous mes ami(e)(s) qui m'aiment.

A toute la promotion Biochimie de la Nutrition 2021/2022.

Zakia.

Tables des matières

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Résumé

Abstract

Pages

Introduction générale ----- 01

Partie I: Synthèse des données bibliographiques

Chapitre I : Le miel

1.1. Définition du miel ----- 02

1.2. Classification des miels d'après leurs origines botaniques ----- 02

1.3. Composition du miel ----- 03

1.3.1. Teneur en eau ----- 03

1.3.2. Teneur en sucre ----- 03

1.3.3. Acide organique ----- 03

1.3.4. lipides ----- 03

1.3.5. Protéines et enzymes et acides aminés ----- 04

1.3.6. Matières minérales ----- 04

1.3.7. les vitamines ----- 04

1.3.8. Substances odorantes ----- 04

1.4. Caractéristiques physicochimiques du miel ----- 04

1.4.1. Densité ----- 05

1.4.2. Viscosité ----- 05

1.4.3. Hygroscopicité ----- 06

1.4.4. Conductivité électrique ----- 06

1.4.5. Potentiel d'hydrogène (PH) ----- 06

1.4.6. Cristallisation ----- 06

1.4.7. Couleur ----- 06

1.4.8. Acidité ----- 06

1.4.9. Indice de réfraction ----- 07

1.4.10. Teneur en cendres ----- 07

1.4.11. Hydroxy-méthyl-furfural ----- 07

1.4.12. Teneur en polyphénols totaux -----	07
1.5. Technologie du miel -----	08
1.6. Propriétés organoleptiques du miel -----	08
1.6.1. La couleur -----	08
1.6.2. La texture -----	08
1.6.3. Le goût et l'odeur -----	08
1.7. Propriétés et activités biologiques du miel -----	09
1.7.1. Valeurs nutritionnelles et diététiques -----	09
1.7.2. Activité antioxydante du miel -----	09
1.7.3. Activité antibactérienne -----	09
1.7.4. Propriétés thérapeutiques de miel -----	10

Chapitre II : Réglementation et législation du miel

2.1. Réglementation et législation du miel -----	11
2.2. Qualité du miel -----	11
2.3. Hygiène du miel -----	11
2.4. Emballage du miel -----	11
2.5. Etiquetage du miel -----	12
2.6. Labels et certificats -----	12
2.7. Fraudes, analyses et contrôles du miel -----	12
2.7.1. Moyenne de détection des fraudes du miel -----	12

Partie II : Partie expérimentale

2. Matériel et méthodes -----	15
2.1 .Echantillonnage -----	15
2.2. Réactifs utilisés -----	16
2.3. Appareillages utilisés -----	16
2.4. Analyse physico chimique -----	15
2.4.1 Détermination de la densité -----	16
2.4.2 Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) -----	16
2.4.3 Détermination de la conductivité électrique -----	16
2.4.4 Détermination de la teneur en eau et du Degré Brix par réfractométrie --	17
2.4.5 Acidité libre -----	17
2.4.6 Détermination de la teneur en cendres -----	18
2.4.7 Dosage des sucres réducteurs -----	19

2.4.8 Détermination du taux de l'Hydroxy-méthyl-furfural (HMF) -----	19
2.4.9 Détermination des polyphénols totaux -----	21
2.4.10 Mesure de la couleur -----	21
2.5. Evaluation de l'activité du piégeage du radical DPPH -----	23
2.6 .Evaluation de l'activité antibactérienne des miels -----	24
2.7. Etude statistique -----	25

Partie III : Résultats et discussion

3.1. Résultats et discussion des analyses physico chimiques -----	26
3.1.1. Densité -----	26
3.1.2. Potentiel d'hydrogène (PH) -----	27
3.1.3. Conductivité électrique -----	27
3.1.4. Teneur en eau -----	28
3.1.5. Degré Brix -----	29
3.1.6. L'acidité libre -----	30
3.1.7. Teneur en cendres -----	31
3.1.8. Teneurs en sucres réducteurs -----	32
3.1. 9. La teneur en composés phénoliques -----	33
3.1.10. Résultats des taux d'hydroxy-méthyl-furfural -----	34
3.1.11. La couleur -----	36
3.2. Résultats et discussion des activités biologiques des miels analysés -----	36
3.2.1. L'activité du piégeage du radical libre DPPH -----	36
3.2.2. Résultat de l'activité antibactérienne des miels analysés -----	38
3.3. Résultats des analyses statistiques -----	40
Conclusion -----	43
Références bibliographiques -----	
Annexes -----	

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

AL : Acidité Libre

AOP : Les Appellation d'Origine Protégée.

cm³ : centimètre cube.

DNS : 3,5-dinitrosalicylate.

DO : Densité optique.

DPPH : L'activité du piégeage du radical libre.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

HMF :Hydroxy-Méthyl-furfural.

Log : Logarithme.

meq/kg : milliéquivalent par kilogramme.

mg EAG /g : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme.

mmPfund: millimètresPfund.

ms/cm : millisiemens par centimètre.

N : normalité.

Ø : diamètre.

PH : Le potentiel d'hydrogène.

U.E : Union Européenne

UV : Ultra-Violet.

Liste de figures

Figure 1 : Four à moufle et balance de précision	19
Figure 2 : Variation de la couleur selon la teneur en poly- phénols.....	21
Figure 3 : Activité de piégeage des radicaux pour E3.....	24
Figure 4 : Représentation graphique des densités des miels analysés.....	26
Figure 5 : Représentation graphique des pH des miels analysés.....	27
Figure 6 : Représentation graphique de la conductivité électrique des échantillons de miel analysés.....	28
Figure 7 : Représentation graphique de la teneur en eau des miels analysés.....	29
Figure 8 : Représentation graphique de la teneur en sucre Brix des échantillons de miel analysés.....	30
Figure 9 : Représentation graphique de l'acidité libre des miels analysés.....	31
Figure 10 : Représentation graphique de la teneur en cendres des échantillons du miel analysés.....	32
Figure 11 : Représentation graphique de la teneur en sucres réducteurs des échantillons de miel analysés.....	33
Figure 12 : Représentation graphique de la teneur en polyphénols totaux des miels analysés.....	34
Figure 13 : Représentation graphique des teneurs en HMF des miels analysés.....	35
Figure 14 : Représentation graphique du pourcentage (%) d'inhibition de l'activité du radical DPPH.....	37
Figure 15 : Valeurs des diamètres d'inhibitions des six échantillons vis-à-vis Staphylococcus aureus.....	38
Figure 16 : Valeurs des diamètres d'inhibitions des six échantillons vis-à-vis Escherichia coli.....	39
Figure 17 : Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des principaux paramètres des miels analysés.....	41
Figure 18 : Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des miels analysés.....	42

Liste des tableaux

Tableau I: Norme concernant la qualité du miel selon le projet du Codex Alimentarius et Selon le projet de l'UE.....	5
Tableau II: Présentation des échantillons étudiés.....	14
Tableau III: Les appareils utilisés pour les analyses physico chimiques.....	15
Tableau IV: Echelle pfund.....	22

Résumé

Le miel est un produit naturel largement connu dans le monde. Il est consommé en grande quantité et très utilisé en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques. L'absence d'une commission nationale de contrôle de qualité qui définit les normes de qualité des miels commercialisés, fait que cette denrée très appréciée par les consommateurs soit malheureusement sujet aux fraudes. L'objectif de ce travail consiste à l'analyse physicochimique de six échantillons (E1-E6) de miels issus de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les paramètres physicochimiques étudiés sont le pH, la densité, l'acidité libre, la conductivité, la teneur en eau, la teneur en cendre, la teneur en sucres totaux, la teneur en sucre réducteur, le taux d'HMF et enfin la couleur. L'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH et l'activité antibactérienne contre deux souches pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) ont été aussi évaluées. Les résultats des analyses physicochimiques ont révélé, une conformité des échantillons analysés. Des valeurs dépassant les normes ont été enregistrées concernant quelques paramètres comme la densité pour l'échantillon E1 (1,76 g/cm³), la conductivité pour l'échantillon E2 (0,98 ms/cm), le taux de cendres pour E5 (1,03 %) le taux de sucres réducteurs pour E6 (80,76 %) et les valeurs du degré Brix pour E1 (86 Brix) et E3 (92 Brix). Concernant la teneur en polyphénols les résultats varient entre 1,99 mg à 15,48 mg (EAG/100 g de miel). Les échantillons présentent aussi une variabilité de couleurs allant du clair représenté par E1 au plus foncé représenté par E2. Tous les échantillons testés ont révélé une activité antioxydante intéressante. Un taux de piégeage du radical DPPH de 40 % a été enregistré pour E1 et de 70,96 % pour E2. Concernant l'activité antibactérienne tous les échantillons ont présenté une inhibition pour les deux souches bactériennes testées, la plus intéressante a été observée contre *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de $8,66 \pm 0,44$ mm pour E4 et $16,66 \pm 0,88$ mm pour E2. L'analyse statistique a montré une corrélation positive des paramètres physicochimiques étudiés pour l'échantillon E2 ce qui a permis de le qualifier d'un miel de bonne qualité sur les six échantillons analysés. En conclusion le miel E2 présente les caractéristiques physicochimiques d'un bon miel aussi bien sur le plan qualité que sur le plan santé grâce à son activité biologique importante.

Mots clés : Miel, analyse physico-chimiques, activités antioxydantes, activité antibactérienne.

Abstract

Honey is a natural product widely known in the world. It is consumed in large quantities and is widely used in traditional medicine for therapeutic purposes. The absence of a national commission of quality control which defines the standards of quality of the marketed honeys, makes that this commodity very appreciated by the consumers is unfortunately subject to frauds. The objective of this work is the physicochemical analysis of six samples (E1-E6) of honey from different regions of the wilaya of Tizi-Ouzou. The physicochemical parameters studied are pH, density, free acidity, conductivity, water content, ash content, total sugar content, reducing sugar content, HMF content and finally the color. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging and antibacterial activity against two pathogenic strains (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) were also evaluated. The results of the physicochemical analyses revealed conformity of the analyzed samples. Values exceeding the standards were recorded for some parameters such as density for sample E1 (1.76 g/cm³), conductivity for sample E2 (0.98 ms/cm), ash content for E5 (1.03 %), reducing sugars content for E6 (80.76 %) and Brix values for E1 (86 Brix) and E3 (92 Brix) Concerning the content of polyphenols, the results vary between 1.99 mg and 15.48 mg (EAG/100 g of honey). The samples also present a variability of colors going from the clear represented by E1 to the darkest represented by E2. All the tested samples revealed an interesting antioxidant activity. A DPPH radical scavenging rate of 40 % was recorded for E1 and 70.96 % for E2. Concerning antibacterial activity all samples showed inhibition for both tested bacterial strains, the most interesting was observed against *Staphylococcus aureus* with inhibition diameters of 8.66 ± 0.44 mm for E4 and 16.66 ± 0.88 mm for E2. The statistical analysis showed a positive correlation of the studied physicochemical parameters for the sample E2, which allowed to qualify it as a honey of good quality on the six analyzed samples. In conclusion, the honey E2 presents the physicochemical characteristics of a good honey as well on the quality plan as on the health plan thanks to its important biological activity.

Key words: Honey, physicochemical analysis, antioxidant activity, antibacterial activity.

Le miel, produit par l'abeille, est une solution sucrée naturelle sursaturée, qui est principalement composée d'un mélange complexe d'hydrates de carbone. En outre, il contient également certains constituants mineurs comme les protéines, les enzymes (invertase, glucose oxydase, catalase, phosphatases), des acides aminés et organiques (acide gluconique, acide acétique, etc.), des lipides, des vitamines (acide ascorbique, niacine, pyridoxine...etc.), des substances chimiques volatiles, des acides phénoliques, des flavonoïdes, des caroténoïdes et des minéraux. La biodiversité florale et l'origine géographique donnent une diversité des qualités et de la composition de ce produit naturel de la ruche (Blasa *et al.*, 2006 ; Boussaid *et al.*, 2018).

Aujourd'hui le miel est considéré comme un aliment fonctionnel, sans antibiotiques grâce à ces caractéristiques nutritives et thérapeutiques (Yucel *et al.*, 2017). Il est représenté comme un aliment sain, diététique et immunitaire grâce à son l'activité antioxydante , mais son usage est limité à la médecine traditionnelle qui s'imposer comme une alternative crédible auprès du corps médical (Molan, 2013).

Selon les données de 2020 du département apicole de l'Institut technique des élevages (ITELV), la production nationale de miel a presque doublé au cours des dix dernières années (+85 %), pour atteindre 74,420 quintaux/an. Ce chiffre n'est cependant pas exhaustif car il y a aussi des volumes produits et commercialisés par des réseaux informels. La consommation de miel n'excède pas les 176 grammes/an/par habitants. En effet les consommateurs sont confronté aux prix toujours en hausse de ce produit noble et se méfient de plus en plus de son authenticité cause de l'absence de structures officielles qui contrôlent les qualités de produits locaux.

Par conséquent, l'objectif de la présente étude va être basé sur l'analyse des propriétés physicochimiques de miels récoltés dans différentes régions de la willaya de Tizi-Ouzou. Nous nous somme intéressé aussi dans ce travail à l'évaluation de leur activité antioxydante et antibactérienne. Une étude statistique est effectuée afin d'évaluer une éventuelle interdépendance des différents paramètres étudiés.

Le présent travail est scindé en trois parties :

Une synthèse des données bibliographiques sur les produits de la ruche, la réglementation et la législation du miel.

En second lieu, une partie expérimentale comportant les analyses physicochimiques ainsi que ceux des activités, antioxydante et antibactérienne.

Enfin, les résultats obtenus seront discutés et interprétés dans la troisième partie.

Partie I :
Synthèse des données bibliographiques

1.1. Le miel

« Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche » (Codex Alimentarius, 2019).

1.2. Classification des miels d'après leurs origines botaniques

Le miel de source des nectars plantes ou du miellat par l'intermédiaire des abeilles qui les recueille dans les fleurs ou sur les plantes (Sanz *et al.*, 2005) de ce fait on peut selon leurs origines botaniques les diviser.

Miel de nectar de fleurs

Le nectar se localise au niveau des glandes végétales des plantes nectarifères où il est recueillie par les abeilles, la production de ce composé dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'air, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant (Sanz *et al.*, 2005).

Composition du nectar

Le nectar est un mélange chimique complexe plus ou moins visqueux, il est élaboré dans le but d'attirer les insectes pollinisateurs principalement l'abeille, cette exsudat contient environ 80 % de sucres, les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose, le nectar contient également des acides organiques (acide fumarique, succinique, oxalique, malique...etc.), des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres, et des composés inorganiques (Bonte et Desmoulière, 2013).

Les différents types du miel de nectar de fleurs

Les miels de nectar de fleurs peuvent être divisés en deux groupes :

a-Miel mono floraux : Le miel uni floral est caractérisé par une récolte d'une seule espèce végétale ce qui est rare car l'abeille ne butine pas une seule espèce cette dernière peut être dominante mais pas à 100 % ;

b-Miel multi floraux : Le miel est élaboré par une multitude d'espèces de fleurs ; il peut avoir une dominance d'un type de pollen à l'autre ou bien il peut présenter une mosaïque de pollen.

1.3. La composition du miel

Le miel est une finalité d'un processus de transformation du nectar et du miellat par les abeilles en un composé complexe « fluctuant suivant la météorologie, l'origine végétale et géographique, le lieu de collecte et les races d'abeilles etc. » (Guerriat, 2000 ; Makhloufi, 2010).

1.3.1. Teneur en eau

La teneur en eau détermine le degré de conservation du miel avec une norme qui varie entre 13 % et 25 %, la moyenne étant d'environ 17 %. Les miels à forte teneur en eau (>18 %) ont une probabilité plus élevée de fermenter lors du stockage tandis que ceux dont la teneur en eau est faible (<15 %) sont susceptibles de se granuler. Il existe une corrélation entre la teneur en eau et la teneur en levure cette dernière augmente de 5 fois lorsque l'activité de l'eau s'accroît de 1 g /100 g. Une teneur en eau élevée revient à une récolte prématurée et un climat humide (Ezechielle *et al.*, 2020).

1.3.2. Teneur en sucre

Les sucres sont les composés majoritaires du miel, ils représentent une moyenne de 79,7 % avec dominance des monosaccharides hexoses : fructose (38 %) et glucose (31 %). Les principaux oligosaccharides sont des disaccharides : saccharose, maltose, turanose,...etc. (Nicolay, 2014). Le miel ne contient que très peu d'amidon, car l'enzyme spécifique de l'abeille appelée, diastase ou l'amylase, provoque la dégradation de l'amidon du nectar en dextrine puis en maltose.

1.3.3. Acides organiques

Le nectar et la transformation enzymatique effectuée par l'abeille sont la source des acides organiques présents dans le miel avec une teneur de (0,57 à 1,5 %). C'est l'acide gluconique, dérivé du glucose, qui prédomine (70 à 80 %) (Rossant, 2011). En plus de ce dernier il contient également une vingtaine d'autres d'acides organiques comme les acides ; acétique, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique (Hoyet, 2005).

1.3.4. Lipides

Le miel est dépourvue de lipide mais peut être contaminé par des microparticules de cire ayant échappés à la filtration (Huchet *et al.*, 1996). Il est essentiellement composé d'acide palmitique, d'acide oléique et très peu d'acide laurique, myristoléique, stéarique et linoléique (Nair, 2014).

1.3.5. Protéines, enzymes et acides aminés

La teneur en protéines du miel varie selon les espèces d'abeilles ainsi le miel *d'Apis cerana* contient de 0,1 % à 3,3 % de protéines, tandis que le miel *d'Apis mellifera* contient entre 0,2 % et 1,6 % de protéines, l'origine de cette dernière est la glande salivaire du pharynx de l'abeille et des végétaux, mais le pollen reste la principale source de ce composé.

L'acide aminé le plus dominant est la proline avec un total de 50-85 % d'acides aminés ; la proline est utilisée comme critère de maturation et d'adultération avec l'ajout de sucre avec une valeur minimale de 180 mg / kg de proline dans un miel pur (Da Silva et al., 2016).

Les protéines présentes dans le miel sont sous formes d'enzymes telles que l'invertase, les alpha- et bêta-glucosidases, la catalase, la phosphatase acide, la diastase et la glucose-oxydase. Une autre enzyme présente dans le miel est la glucose oxydase, son rôle est de convertir le glucose en d-gluconolactone, qui est hydrolysé en acide gluconique et produit également le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui a une action bactéricide (Frédéric et al., 2013).

1.3.6. Matières minérales

Le miel présente une composition variée de minéraux tels que le potassium qui est largement majoritaire, du phosphore, du sodium, du calcium, du magnésium, du soufre et du cuivre. La teneur en minéraux varie entre 0,02 et 1,03 %, selon l'origine botanique et géographique du miel. Les miels de miellat et les miels de coloration foncée renferment plus de minéraux que les miels de nectar et les miels clairs (Frédéric et al., 2013).

1.3.7. Vitamines

Les vitamines sont présentes dans le miel à l'état de traces exprimé en UI (unité internationale d'activité) principalement de source pollinique. Le miel de menthe a la singularité de contenir de la vitamine C. Le pH acide du miel contribue à la conservation des vitamines (Bonte et Desmoulière, 2013).

1.3.8. Substance odorantes

Le miel est riche en substances aromatiques, plus de cinquante substances détectées sont liées aux plantes butinées. L'analyse de ce paramètre est très délicate car les arômes sont très instables dans le temps. Ces substances odorantes sont représentées par des alcools, cétones, acides, aldéhydes et quinones (Gharbi, 2011).

1.4. Caractéristiques physico-chimiques du miel

Les principales caractéristiques physicochimiques du miel sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau I : Norme concernant la qualité du miel selon le projet du Codex Alimentarius et le projet de l'UE(2001).

Critères de qualité	Projet du Codex	Projet de l'UE
Teneur en eau	≤ 21 g/100g	≤ 21 g/100g
Densité	≤ 2 g/100g	≤ 2 g/ 100g
pH	≤ 5	≤ 5
Conductivité	$\leq 0,8$ ms/cm	$\leq 0,8$ ms/cm
Teneur en sucres réducteurs	≥ 65 g /100 g	≥ 65 g /100 g
Teneur en matières insolubles dans l'eau	$\leq 0,1$ g/100 g	$\leq 0,1$ g/100 g
Teneur en matières minérales (cendres)	$\leq 0,6$ g/100 g	$\leq 0,6$ g/100 g
Acidité libre	≤ 50 meq/kg	≤ 40 meq/kg
Teneur en hydroxyméthylfurfural	≤ 40 mg/kg	≤ 40 mg/kg

1.4.1. La densité

La densité, est le rapport de la masse d'un miel sur le même volume d'eau. Le miel a une densité assez élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ (Bogdanov *et al.*, 2003; Rossant, 2011). Il existe des tables de corrélation entre la densité et la teneur en eau qui permettent de connaître avec une bonne approximation la teneur en eau d'un miel, simplement par la lecture de sa densité. Il s'agit là d'une méthode empirique. En effet, le poids spécifique du miel peut varier légèrement selon son origine florale et la teneur en matières minérales. Pour l'apiculteur qui ne peut pas acquérir un réfractomètre, la mesure de la teneur en eau des miels par la densité est une alternative (Louveaux, 1959).

1.4.2. La viscosité

La viscosité est la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. Elle dépend de trois facteurs qui sont : la teneur en eau, la composition chimique et la température (Huchet *et al.*, 1996). Elle s'exprime en Poiseuille (PI) qui équivaut à un pascal-seconde et qui est mesuré à l'aide d'un viscosimètre (Prost, 2005).

1.4.3. Hygroscopicité

Le miel peut absorber l'humidité de l'air et s'il est laissé longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable. Un miel normal, contenant 18 % d'eau, au bout de trois mois peut atteindre une hygrométrie de 55 %, le degré hygroscopique optimum ne doit pas dépasser 60 % d'humidité pour assurer une bonne conservation du miel (Emmanuelle *et al.*, 1996).

1.4.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la propriété d'un corps à permettre le passage d'un courant électrique (Gonnet, 1982). Elle permet la détermination de l'origine botanique du miel. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel (Bogdanov *et al.*, 2004). Elle est exprimée en micro-Siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

1.4.5. Potentiel d'hydrogène

Le pH ou potentiel d'hydrogène ou indice de Sorensen est la concentration en ions H^+ dans une solution. Le pH d'un miel est en fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme et aussi de sa composition minérale. Le pH d'une solution de miel à 10 % est entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar, tandis qu'il dépasse les 4,5 pour les miels de miellat (Louveaux, 1985; Vanhanenn *et al.*, 2011).

1.4.6. Cristallisation

La cristallisation du miel est un processus naturel et inévitable sauf pour certains miels qui restent liquides plusieurs années. La température de la cristallisation est comprise entre 16 °C et 20 °C. Elle dépend de différents facteurs : plus la teneur en glucose est élevée plus la cristallisation du miel sera rapide (Hummel et Feltin, 2014).

1.4.7. Couleur

Le miel présente différentes couleurs et cela en fonction de l'origine florale, géographique et la composition (Hoyet, 2005). Les différentes couleurs du miel sont généralement toutes des nuances de jaune brun, mais peuvent être aussi verdâtre (miellat), miel grisâtre (tournesol), rougeâtre et certains presque noir. L'intensification de la coloration du miel est due au chauffage et au vieillissement.

1.4.8. Acidité

L'acidité est un critère important durant l'extraction et le stockage du miel, en raison de son influence sur sa texture et sa stabilité. Cette acidité provient des acides organiques qui se trouvent libres ou combinés sous forme de lactones. Le miel est généralement acide, son pH

se situe entre 3,5 et 6. En fonction de leur acidité naturelle, les miels sont plus fragiles que d'autres (Gomes et al, 2010).

1.4.9. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est utilisé par les techniciens qui se servent de réfractomètre de petite taille, très pratique. Il permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau, bien plus rapidement que les autres méthodes (Emmanuelle *et al.*, 1996). L'indice de réfraction varie entre 1,50 et 1,49 à 20 °C pour une teneur en eau allant de 13 à 18 % pour la majorité des miels (Terrab, 2004).

1.4.10. Teneurs en cendres

La détermination des cendres nous donne la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel (Silva *et al.*, 2009). La teneur en cendres est un critère de qualité qui dépend de l'origine botanique du miel. La teneur maximale autorisée par les normes internationales est de 0,6 g/100 g. Les miels clairs sont nettement moins riches en cendres que les miels foncés (Silva *et al.*, 2009).

1.4.11. Hydroxy-Méthyl-Furfural

Hydroxy-Méthyl-Furfural (HMF) est un dérivé de déshydratation des hexoses (principalement le fructose) qui se forme dans le miel au cours de son vieillissement ou de son chauffage. Il renseigne sur la fraîcheur et la qualité du miel. Sa teneur légale ne doit pas dépasser 40 mg/ kg, et un miel de bonne qualité ne devrait pas avoir un taux supérieur à 25 mg/ kg (Nair, 2014).

1.4.12. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols ont une grande variété de structures, allant de composés contenant un simple noyau phénolique (acide phénoliques), à des composés polymériques complexes comme les tanins (polymères de catéchine et épicatechine présentant plusieurs dizaines d'unités). Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de varier l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. *In vitro*, plusieurs polyphénols sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses...(Khan, 2010 ; Chang *et al.*, 2011 ; Bonte *et al.*, 2013)

1.5. Technologie du miel

Le miel est comme tous autres produits alimentaires, doit arriver aux consommateurs aussi appétissants mais ayant pourvu de toutes ses valeurs diététiques et thérapeutiques. Cela étant possible s'il est suivi par une technologie qui dresse des normes à respecter pour sa récolte, sa préparation, sa vente sans le dénaturer ou le sophistiquer pour le rendre plus attrayant aux yeux des consommateurs (Louveaux, 1959).

La récolte du miel débute à la fin des grandes miellées et lorsque les $\frac{3}{4}$ des alvéoles sont operculées avec une fine couche de cire et avec une teneur en eau idéale de 18 % pour garantir une conservation sans fermentation. Après sa récolte, le miel subit une filtration pour éliminer les particules fines le filtrat est mis à maturation deux à trois jours à 20° C. Le miel est conditionné dans des pots en verre et stocké dans des locaux frais à une température ne dépassant pas les 20° C afin d'éviter sa dégradation (Ezéchielle *et al.*, 2020).

1.6. Propriétés organoleptiques du miel

Les miels récoltés sont diversifiés et se distinguent par leur couleur, texture, arôme, odeur et leur goût caractéristique mais aussi selon leur origine florale et leur localisation.

1.6.1. La couleur

Selon l'origine florale et géographique, le miel présente divers couleurs. De jaune très pâle (transparent) au brun très foncé. Cela est dû à sa composition et sa richesse en minéraux. Plus le miel est clair plus il est pauvre en minéraux et inversement (Ezechielle *et al.*, 2020).

La teneur en cendre joue un rôle très important dans la coloration du miel. La teneur en cendre des miels doit être inférieure à 1 %, la variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0,02 % (Blanc, 2010).

1.6.2. La texture

Le miel se présente sous plusieurs aspects, dur ou souple, pâteux ou liquide. La texture dépend surtout de la teneur en glucose du miel mais aussi de sa composition globale en sucres, la teneur en eau et la température. Après son extraction, la cristallisation est rapide à une température de 14 °C à 78 °C les cristaux disparaissent. La cristallisation se fait à partir de cristaux primaires de glucose dès la récolte (Emmanuelle *et al.*, 1996).

1.6.3. Le goût et l'odeur

Grace à l'origine florale, le miel peut avoir une grande variété des saveurs et des arômes différents (Blanc, 2010). Le miel clair a une saveur plus délicate contrairement aux miels foncés qui ont un goût prononcé (Bradbear, 2005).

1.7. Propriétés et activités biologiques du miel

1.7.1. Valeurs nutritionnelles et diététiques

Le miel à un goût naturellement sucré, savoureuse, avec une valeur énergétique de 320 calories par 100 grammes de miel. Il est très riche en éléments biologiques et en minéraux (le calcium, le magnésium, le soufre et le phosphore) qui sont utiles au métabolisme, stimulant avec une action dynamisante, apéritif, facilite l'assimilation d'autres aliments grâce à la présence d'enzymes (amylase...etc.), renforce le système immunitaire, antioxydant, protection gastrique contre les lésions gastriques aiguës et chroniques (Gomez –Caravaca *et al.*, 2006), inhiber la croissance des microbes (Candiracci *et al.*, 2012).

Il est conseillé, de remplacer le sucre par du miel en raison de ses bonnes propriétés nutritives et thérapeutiques (Yahia *et al.*, 2015 ; Sharma *et al.*, 2020), notamment pour les sportifs et les athlètes ayant besoin de beaucoup d'énergie mobilisable rapidement. La consommation régulière de miel est conseillée pour les personnes âgées pour pallier leurs déficits (fatigue, carences en vitamines en oligo-éléments, digestion difficile, fonctionnement intestinal perturbé,... etc.). Le miel contribue à l'augmentation de leur appétit et en stimulant les glandes salivaires par les acides aromatiques qui influencent favorablement la digestion (Ahmad et Kumaran, 2015 ; Fonseca *et al.*, 2018).

1.7.2. Activité antioxydante du miel

Le stress oxydatif est un mécanisme qui se traduit par un déséquilibre entre la production des substances oxydantes, espèces réactives de l'oxygène (ERO) et antioxydante de l'organisme (Lemineu *et al.*, 2006), les substances oxydantes rentrent en interactions avec les lipides, protéines, acides nucléiques des cellules provoquant une oxydation (Therond, 2006) qui est à l'origine du vieillissement prématuré de nos cellules, des mutations génétiques, voir une destruction de celles-ci et peut être à l'origine de divers pathologies (Bakchiche *et al.*, 2017) pour réduire ces effets délétères la consommation du miel en particulier le miel de montagnes (Roch et Fardet, 2014) est recommandé car elle donne un bon effet antioxydant et réduit le déséquilibre oxydatif (Chang *et al.*, 2011) par l'action des polyphénols et flavonoïdes qui piègent directement les ERO ou par l'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et par la chélation des traces métalliques responsables de la production des ERO (Ghedira, 2005).

1.7.3. Activité antibactérienne

Le miel est une solution concentrée de sucre ayant un pH acide entre 3-4, cette propriété inhibe la croissance des bactéries. La principale activité antibactérienne du miel est liée à la

production enzymatique de peroxyde d'hydrogène. La glucose oxydase est une enzyme qui est sécrétée par les glandes hyopharyngiennes des abeilles. Cette enzyme s'ajoute au mélange sucré qui va devenir le miel (Hoyet, 2005). Il existe d'autres molécules antibactériennes dans le miel à l'état naturel comme les flavonoïdes, les enzymes telles que la catalase et la peroxydase, les acides phénoliques et la proline pour assurer la protection antioxydant du miel (Meda *et al.*, 2005).

1.7.4. Propriétés thérapeutique de miel

Le miel a été utilisé pendant des siècles dans la médecine traditionnelle. Un très grand nombre de propriétés thérapeutiques lui sont attribuées (antiseptique, antianémique et antitussive....etc.) (Guarch, 2008 ; Ahmad et Kumaran, 2015).

-L'activité antioxydante : Les actions thérapeutiques du miel résultent de la présence de diverses molécules antioxydantes (Doukani *et al.*, 2014) telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les acides ascorbiques ainsi qu'en d'autres composés antioxydants (Gheldof, 2003; Sharma *et al.*, 2020).

-Activité antiseptique et antibiotique. Le miel lutte efficacement contre les bactéries, les champignons ainsi que les virus (Chang, 2011);

-Activité anti-inflammatoire : le mécanisme supposé serait une action sur la production de radicaux libres agissant sur l'inflammation des tissus.;

- Activité cicatrisante : effet cicatrisant contre les brûlures et les plaies via le miel pur ou par les pommades à base de miel (Al-Waili, 2011).

2.1. Réglementation et législation du miel

En Algérie, il n'existe pas de législation concernant les miels produits par les apiculteurs, pourtant ils doivent répondre à certaines exigences et règles sur le plan juridique et législatif, concernant leur produit qui est le miel. D'une façon particulière, l'apiculteur algérien et les différents organismes responsables du contrôle de qualité et de la répression des fraudes dans la vente des marchandises et des falsifications des denrées alimentaires sont obligés d'appliquer la réglementation française (Boufenara, 2009). Les miels se vendent sans aucun étiquetage, ces miels sont en majorité non soumis aux analyses physico-chimiques et la détermination de leur origine botanique nécessite des connaissances préalables et des formations spécialisées pour les apiculteurs (Amri, 2006).

2.2. Qualité du miel

C'est la propriété d'un miel d'être sain, extrait dans de bonnes conditions d'hygiène, emballer convenablement, et capable de préserver ses propriétés d'origine pendant une longue durée possible. Il doit contenir le moins possible ou pas de polluants : pesticides, antibiotiques, métaux lourds (Schweitzer, 2005).

La qualité du miel dépend des paramètres physico-chimiques suivants; eau, sucre, HMF, acidité, cendre, (teneur en minéraux), densité, conductivité électrique, activité invertase et niveau de diastase. Le miel à haute teneur en eau, à faible densité et à haute intensité électrique fermente facilement et dégrade la qualité, ce qui réduit la durée de conservation. (Naila *et al.*, 2018).

2.3. Hygiène du miel

Il est conseillé que les produits alimentaires soient préparés et manipulés conformément aux sections appropriées des Principes généraux d'hygiène alimentaire recommandés par la Commission du Codex Alimentarius.

Le miel vendu au consommateur ne doit pas contenir de composants organiques ou inorganiques tels que des insectes, partis d'insectes, couvain ou grains de sable.

Il ne doit pas contenir de microorganismes, de parasites et de substances provenant de microorganismes et de plantes susceptibles de menacer la santé de l'homme (Codex Alimentarius, 2001).

2.4. Emballage du miel

Les contenants doivent être imperméables à l'eau et à l'air pour éviter toute pénétration d'humidité dans le miel. Les contenants et cuves en fer blanc, en aluminium, en acier chromé, en plastique et en verre (qualité alimentaire) conviennent parfaitement à cet usage

(Schweitzer, 2005). Par contre les contenants en paraffine sont interdits car cette dernière contient des substances toxiques qui vont influencer la qualité du miel (Bogdanov *et al.*, 1999).

2.5. Etiquetage du miel

L'étiquetage est obligatoire pour tous les produits alimentaires destinés à la vente. Il vise à garantir que les consommateurs disposent d'une information complète sur le contenu et la composition de ces produits, afin de protéger leur santé et leurs intérêts (Boufenara, 2009).

2.6. Labels et certificats

Les quatre normes de qualité distinguée par la réglementation internationale sont : Les Appellation d'Origine Protégée (AOP) ; les labels agricoles ; les produits de l'agriculture biologique ; la certification de conformité des produits.

Le label est un moyen d'information du consommateur sur les propriétés et les qualités d'un produit alimentaire en le distinguant des produits similaires ;

Ces labels et autres signes sont destinés à mettre en confiance l'usage de consommateur d'un produit qui est désigné comme étant de qualité supérieure (Boufenara, 2009).

2.7. Fraudes, analyses et contrôles

Le miel est un produits noble et onéreux ce qui l'expose à de multiples fraudes telle que l'adultération qui consiste à l'ajout des sirops de sucre au miel après la récolte, ou directement durant la miellée (Cotte *et al.*, 2003) ; la fraude peut s'effectuer par une fausse indication d'origine botanique et la non-conformité de l'année ; les fraudes par contamination se fait la présences des résidus de pesticides utilisée les organismes nuisibles aux cultures et pour prévenir les maladies des abeilles les pesticides les plus fréquemment dans le miel sont les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates (Bogdanov, 2006) ou par une contamination bactériologique qui est rare chez les abeilles car le miel est bactériostatique (Gilliam *et al.*, 1987 ; Adjlane *et al.*, 2014).Cependant les micro-organismes sporulés peuvent survivre dans le miel à basse température. (Al-Waili *et al.*, 2011).

2.7.1. Moyens de détection des fraudes

Divers paramètres chimiques nous permettent d'identifier la qualité du miel, et permettent la détection de son éventuelle non-conformité. Ces paramètres réglementaires sont les suivants:

-L'HMF: permet de juger du traitement thermique du miel et éventuellement de son vieillissement ;

-L'acidité libre : permet de juger du vieillissement du miel ;

- La teneur en cendre** : méthode ancienne pour détecter un ajout dans le miel (farine, sucre...etc.) pour ajouter du poids dans ce dernier ;
- Le dosage d'enzyme (l'amylase)**: détection d'un chauffage trop important du miel ;
- L'humidité** : permet d'évaluer les conditions de stockage, les risques de fermentation et le comportement de cristallisation ;
- **Le taux de sucres et les sucres spécifiques** : la détection du glucose, fructose et de saccharose permet de détecter l'ajout du sirop (Bartholomeus, 2010).

En plus des détections traditionnelles s'ajoute des méthodes plus récentes et plus sophistiquée telle que chromatographie pulsée par échange d'anions (HPAEC-PAD) a été utilisée dans la détection du sirop de maïs à haute teneur en fructose (HFCS) et du sirop de maïs (CS). Les méthodes utilisées pour détecter les matières adultères du miel ont été résumées par (Naila et al., 2018). Ces dernières sont : l'analyse électrochimique, les méthodes enzymatiques, la chromatographie sur couche mince (CCM), la Chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie liquide par échange d'anions (LC), la spectroscopie infrarouge (FTIR), la mesure par calorimètre différentiel (DSC), la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN).

Partie II :
Partie expérimentale

Les analyses physicochimiques des différents échantillons de miel ont été réalisées au niveau du laboratoire de Biochimie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomique de Tizi-Ouzou et l'activité antimicrobienne du miel est effectuée au niveau du laboratoire de Microbiologie de la même faculté.

2. Matériel et méthodes

2.1. Echantillonnage

Les essais ont été effectués sur 6 échantillons de miel provenant de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou. Le choix de nos échantillons s'est basé sur l'origine géographique (tableau II).

Tableau II : Présentation des échantillons étudiés

Numéros des échantillons	Date de récolte	Origine géographique	Origine florale
E1	2021	FREHA (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs
E2	2021	Larba Nath Irathen, Ichariden (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs
E3	2021	Beni Douala, Beni- Z'menzar (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs
E4	2021	Oued Aissi (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs
E5	2021	FREHA (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs
E6	2021	Djurdjura (Tizi-Ouzou)	Miel de toutes fleurs

2.2. Réactifs utilisés

L'acide 3,5-dinitrosalicylate(DNS), DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl), Folin-Ciocalteu), Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Hydroxyde de sodium (NaOH), solution Carrez I, solution Carrez II et la solution bisulfite sulfite de sodium dont les préparations sont représentées en annexe IV.

2.3. Appareillage utilisés

Le tableau III, présente l'appareillage utilisé pour la réalisation des analyses physicochimiques des différents échantillons de miels.

Tableau III : Les appareils utilisés pour les analyses physico chimiques.

Appareils	Marque
Agitateurs magnétiques/ Plaques chauffantes	LABINCO
Bain marie	MEMMERT
Balance de précision	DENVER INSTRUMENT
Conductimètre	HANNA INSTRUMENTS
Distillateur	GFL
pH-mètre	ADWA-AD1030
Spectrophotomètre UV-Visible	THERMO-SCIENTIFIC
Refractomètre à miel	RHB-90ATC
Plaque agitatrice	VARIOMAG
Mélangeur vortex	VISION
Four à moufle	NABERTHERM

2.4. Analyses physicochimiques

Les analyses physicochimiques sont accréditées selon la norme (ISO, 2005).

2.4.1. Détermination de la densité du miel

La densité est le rapport de masse d'un volume de miel et la masse d'un même volume est exprimée en g/cm³.

➤ Mode opératoire

5 ml de miel ont été pesé dans une éprouvette en parallèle dans une autre éprouvette un même volume a été aussi pesé.

➤ Expression des résultats

Les densités des échantillons sont exprimées à l'aide la formule suivante :

$$D = m' / m$$

D : Densité ;

m' : masse de 5 ml de miel en gramme ;

m : masse de 5 ml d'eau en gramme.

2.4.2. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

C'est une méthode potentiométrique qui est réalisée à l'aide d'un pH-mètre (Louveau, 1985).

➤ Mode opératoire

- 5 g de miel ont été pesé dans un bécher, puis 70 ml d'eau distillée ont été ajouté à l'aide d'une burette. La solution a été agitée et bien homogénéisée;
- Le bécher a été déposé sur une plaque d'agitation puis la pointe de l'électrode du pH-mètre a été immergée dans la solution ;
- La valeur du pH est directement lue sur l'écran du pH-mètre.

2.4.3. Détermination de la conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique est effectuée à l'aide d'un conductimètre électrique, pour chaque échantillon de miel à 20 °C ± 0,5 °C. La lecture est faite directement après immersion de l'électrode du conductimètre dans la solution. Elle est exprimée en milli-siemens par centimètre (ms/cm).

➤ Mode opératoire

- 6 g de miel ont été dilué dans un petit volume d'eau distillé puis compléter à 25 ml dans un bécher de 80 ml. La solution du miel a été bien homogénéisée ;

- L'électrode du conductimètre a été immergé dans la solution lorsque la température est à 20 °C;
- La cellule du conductimètre a été rincée soigneusement avec de l'eau distillée avant chaque mesure ;
- La valeur de la conductivité est directement lue sur l'écran du conductimètre.

2.4.4. Détermination de la teneur en eau et du Degré Brix par réfractométrie

C'est la mesure optique de l'indice de réfraction qui varie en fonction de la concentration en matière sèche du produit à analyser (Miel) et de la température (Louveaux, 1985). On déduit le taux d'humidité et de matière sèche ou « Degré Brix » de nos échantillons par l'échelle du réfractomètre (Harmonised, 2002).

➤ Mode opératoire

- Une goutte de miel est déposée sur le prisme du réfractomètre et répartie en couche mince ;
- Si le miel est cristallisé on le fait fondre dans un bain marie à moins de 50 °C;
- L'indice de réfraction et de degré de brix sont lus sur l'échelle du réfractomètre.

➤ Expression des résultats

$$\text{Pourcentage d'humidité} = (- 0,2681 - \text{LOG} (\text{IR} - 1)) / 0,002243.$$

IR : Indice de réfraction.

2.4.5. Acidité libre

L'acidité libre est la quantité d'acide titrable par une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'au point équivalent.

➤ Mode opératoire

- 10 g de miel ont été dissoute dans 75 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer.

L'erlenmeyer a été ensuite déposé sur une plaque d'agitation puis la pointe de l'électrode du pH-mètre a été immergée dans la solution.

- la solution de titration (NaOH 0,01N) a été ajouté continuellement, jusqu'à la lecture d'un pH de 8,5 sur le pH-mètre.

➤ Expression des résultats

L'acidité libre est obtenue avec cette formule:

$$AL = V \times M$$

AL : Acidité libre exprimé en milliéquivalents d'acides libre par kg de miel ;

V : Volume en ml de NaOH 0,01 N utilisées pour neutraliser 10 g de miel ;

M : Masse de miel (10 g).

2.4.6. Détermination de la teneur en cendres

La quantité de cendres représente la fraction inorganique renfermant les minéraux contenus dans les miels, cette dernière est obtenue après calcination du miel avec précaution dans un four à moufle à 550 °C jusqu'à l'obtention de cendres blanches ou grises (Clément, 2015).

➤ Mode opératoire

- 3 g du miel sont pesés dans un creuset;
- Les creusets contenant les différents échantillons de miels ont été déposés dans un four à moufle et réglé à 200 °C (Figure 1) au départ pour assurer la carbonisation des échantillons, puis augmenter la température à 550 °C pour avoir une calcination totale de l'échantillon et obtenir des cendres blanches ou grises au bout de 5 heures ;
- Après calcination, les creusets seront refroidis dans un dessiccateur pour être enfin pesés avec précision avec leurs résidus.



Figure 1 : Four à moufle et balance de précision utilisés.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante et les résultats sont exprimés en g/100 g de miel

$$W = \frac{M_1 - M_2}{M_0} \times 100$$

W : teneur en cendres en gramme (g);

M₁ : masse du creuset après calcination en gramme (g) ;

M₂ : masse du creuset vide en gramme (g) ;

M₀ : masse initiale de miel (3 g).

2.4.7. Dosage des sucres réducteurs

C'est l'utilisation des propriétés réductrices du glucose à chaud en milieu alcalin, Le sucre réducteur réduit l'acide 3,5-dinitrosalicylate (DNS) en 3-amino-5-nitrosalicyclique qui joue un rôle d'oxydant (Khalil *et al.*, 2001).

L'intensité de coloration rouge est proportionnelle à la concentration des sucres réducteurs contenus dans les échantillons analysés, cette méthode est colorimétrique.

➤ **Mode opératoire**

- Préparation de nos échantillons 0,1 g /ml ;
- 2 ml de réactif est ajouté à 1 ml de la solution d'échantillon ;
- Boucher les tubes, les portés 5 min au bain-marie puis refroidir à l'eau de robinet ;
- 7 ml d'eau distillé est ajouté à nos solution d'échantillon ;
- Lecture à 540 nm.

NB : Pour les échantillons concentrés, effectuer des dilutions décimales nécessaires.

➤ **Expression des résultats**

Les concentrations de nos échantillons sont obtenues selon l'équation de régression obtenue par la courbe d'étalonnage du fructose (Annexe I).

2.4.8. Détermination du taux de l'Hydroxy-méthyl-furfural

L'estimation du taux de l'Hydroxy-méthyl-furfural (HMF) dans le miel est déterminée par la mesure de l'absorbance des solutions de miel et de la solution de référence à deux longueurs d'ondes (284 nm puis 336 nm) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Amri *et al.*, 2007).

➤ **Mode opératoire**

- 5 g de miel est dissout dans 25 ml d'eau distillée, le mélange a été versé dans une fiole jaugée de 50 ml ;
 - 0,5 ml de solution carrez I est ajouté;
 - 0,5 ml de carrez II est ajouté et mélangé puis complété au trait de jauge ;
 - la solution est filtrée à l'aide du papier filtre whatman N° 02 ;
 - 5 ml du filtrat sont pipetés dans un tube à essai et 5 ml d'eau sont ajoutés le tout est mélangé pour avoir la solution d'échantillon ;
 - 5 ml du filtrat sont pipetés dans un tube à essai puis 5 ml de la solution de bisulfite à 0,2 % ont été ajoutés et mélangés pour finaliser la solution de référence ;
- Les détails des préparations sont décrits ci-dessous.

Solution de carrez 1	Solution de carrez 2
<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 3,75 g d'hexacyanoferrate $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ dans l'eau à compléter à 25 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • dissoudre 7,5 g d'acétate de zinc $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ dans l'eau à compléter à 25 ml
Réactifs	
<ul style="list-style-type: none"> • Solution de bisulfite de sodium (0,2 g /100 ml) →dissoudre 0,2 g de métabisulfite de sodium $Na_2S_2O_5$, dans 100 ml d'eau solution fraîchement préparer. 	
Solution échantillon	Solution de référence
<ul style="list-style-type: none"> • 5 ml solution de miel • 5 ml d'eau 	<ul style="list-style-type: none"> • 5 ml de solution de bisulfite de sodium (0,2 %)

- La préparation est Incubée pendant 60 minutes ;
- La lecture des densités optiques est faite à 284 nm et 336 nm.

➤ **Expression des résultats**

Le taux de HMF est déduit selon l'équation suivante :

$$\text{HMF mg /Kg} = (\text{Abs } 284 - \text{Abs } 336) \times 149,7 \times D$$

Abs 284 : L'absorbance à 284 nm;

Abs 336 : L'absorbance à 366 nm;

D : Le facteur de dilution (si la dilution est nécessaire);

2.4.9. Détermination des polyphénols totaux

Ils sont déterminés selon la méthode de (Singleton *et al.*, 1998). Avec quelques modifications. Cette dernière est basée sur la réaction colorée des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui est utilisée pour déterminer les polyphénols totaux dans l'échantillon du miel. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

➤ Mode opératoire

- Une solution de miel (0,5 g dans 1 ml d'eau distillé) a été mélangé avec 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 2 N et incubé pendant 5 minutes ;
- 2 ml de solution de carbonate de sodium à 4 % ont été ajoutés ;
- La lecture a été effectuée à 765 nm ; après incubation pendant 2 heures à l'obscurité (figure 02).

NB : L'acide gallique a été utilisé comme produit chimique standard pour la gamme d'étalonnage.

➤ Expression des résultats

Les concentrations de nos échantillons sont obtenues selon l'équation de régression obtenue par la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Annexe I).

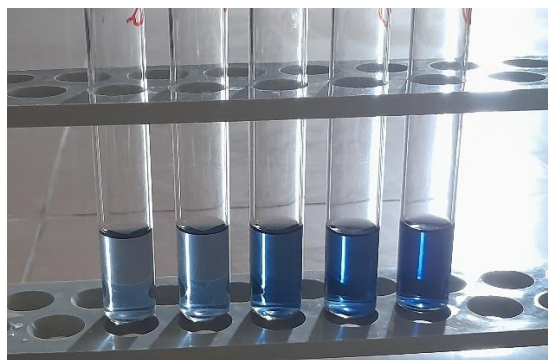


Figure 2 : Variation de la couleur selon la teneur en polyphénols.

2.4.10. Mesure de la couleur

La mesure de la couleur est effectuée par spectroscopie, lorsque l'absorbance de l'échantillon est mesurée et que la valeur Pfund est calculée à partir de l'absorbance obtenue à 635 nm (Bodor *et al.*, 2021).

Pfund scale est une échelle utilisée dans l'industrie du miel pour décrire la couleur du miel, cette échelle a été obtenue en mesurant la densité optique d'une solution fraîchement

préparé de caramel et glycérine comme indique sur le tableau IV (United States Standards for Grades of Extracted Honey, 1985).

➤ **Mode opératoire**

- 5 g de miel ont été mélangés dans 10 ml d'eau distillée à une température de 40 à 50 °C ;
- une première filtration a été réalisée avec papier whatman N° 02, une 2ème filtration a été réalisée avec un microfiltre de 0,22 µm ;
- les filtras ont été recouvert avec du papier aluminium pour éviter toutes oxydation ;
- la lecture a été faite à 365 nm.

➤ **Expression des résultats**

Puis Instruisez le résultat dans cette formule pour avoir la correspondance de la densité optique avec la couleur à l'aide du classeur de Pfund.

$$\text{mmPfund} = -38.7 + 371.39 \times \text{Abs.}$$

mmPfund : Echelle de détection de la couleur en millimètre ;

Abs : Absorbance lue à 635 nm.

Tableau IV: Echelle pfund (United States Standards for Grades of Extracted Honey, 1985).

Intensité de la couleur	Echelle pfund, millimètre	Densité optique
Blanc d'eau	<9	0,0945
Extra blanc	9-17	0,189
Blanche	18-34	0,378
Ambre extra clair	35-50	0,595
Ambre clair	51-85	1389
Ambre	86-114	3,008
Ambre foncé	>114	-

2.5. Evaluation de l'activité du piégeage du radical DPPH

Le DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable. La solution du DPPH possède une coloration violette (figure 3) et une absorbance caractéristique à 517 nm. Quand la solution du DPPH est mélangé une substance antioxydante donneuse d'atome d'hydrogène, il y'aura la formation d'une forme réduite. Ceci provoque le changement de la coloration violette vers la couleur jaune dans l'intensité est lisible dans la même longueur d'onde qui est de 517 nm (Ibrahim *et al.*, 2012).

Une activité élevée du piégeage du radical libre confère une activité antioxydante élevée de l'échantillon testé.

➤ Mode opératoire

- 1,2 g de miel ont été pesé dans un bécher ; 10 ml d'eau distillé ont été ajouté (solution mère) ;
- 2,4 mg de DPPH ont été dilués dans 100 ml de Méthanol (solution de DPPH) ;

Concentration (mg/ml)	20	40	60	80	100	120
Solution miel (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
DPPH (ml)	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7

- La lecture a été effectuée à 517 nm ; après incubation pendant 15 min.

➤ Expression des résultats

Nos résultats ont été exprimés selon l'équation suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = ((\text{Abs DPPH} - \text{Abs ech}) / \text{Abs DPPH}) \times 100.$$

DPPH (%) : Pourcentage de piégeage du radical

Abs DPPH: L'absorbance de la solution DPPH.

Abs ech: L'absorbance de l'échantillon.

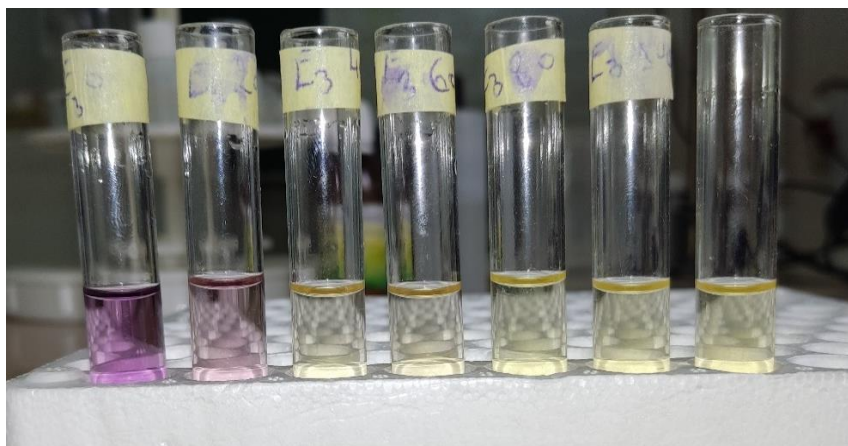


Figure 3 : Activité de piégeage des radicaux pour E3.

2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des miels

• Les souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des six échantillons de miels sont comme suit :

ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>

NB : Les souches bactériennes utilisées sont des souches de références d'origine clinique, elles ont été purifiées et identifiées.

➤ Modes opératoire

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été mise en évidence à l'aide d'un antibiogramme. Principe de l'antibiogramme ;

Préparation de l'inoculum

❖ Réactivation des souches

- Les bactéries ont été ensemencées dans un milieu BHIB (liquide) qui a été incubé pendant 18 à 24 h ;
- Après incubation les souches ont été prélevées du milieu BHIB et ont été ensemencées respectivement dans la gélose Chapman pour les *Staphylococcus aureus* et la gélose Hektoen pour *Escherichia coli*.

❖ Préparation de la suspension bactérienne

- 2 à 3 colonies ont été prélevé à l'aide d'une anse ou une pipette pasteur ;
- L'anse a été déchargée dans 4 à 5 ml d'eau physiologique stérile contenue dans un tube à vice stérile, le tout a été bien homogénéisé.

❖ La standardisation

- La densité optique de la suspension a été mesurée à 625 nm et a été estimé à (0,08 à 0,1).

❖ L'ensemencement

- Un écouvillon stérile a été trempé dans l'inoculum et a été essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube afin de le décharger de l'excédent d'eau ;
- L'écouvillon a été ensuite frotté sur la totalité de la surface de la gélose Muller Hinton de haut en bas en stries serrées, l'opération a été répétée deux fois en tournant la boîte d'un angle de 60 ° à chaque fois l'écouvillon a été tourné sur lui-même.

❖ Dépôt de l'extrait

- La gélose Muller Hinton a été perforée à l'aide de la partie supérieure d'une pipette pasteur (6 millimètres de diamètre) préalablement stérilisée ;
- Les puits ont été remplis avec les extraits purs de chaque échantillon de miel ;
- Le tout a été incubé à 37 °C pendant 24 heures.

➤ Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été appréciée par la mesure des diamètres des zones claires qui se forment autour des puits à l'aide d'une règle graduée, les résultats sont exprimés en millimètres.

2.7. Analyse statistique

L'ACP est utilisée pour visualiser des corrélations entre les variables, et identifier des groupes homogènes ou à l'inverse des observations atypiques, en particulier des profils à première vue cachés à l'intérieur d'un jeu de données (Béguin et Pumain, 2000).

Partie III :
Résultats et discussions

III. Résultats et discussion

3.1. Résultats et discussion des analyses physico-chimiques

3.1.1. La Densité

Les résultats de la densité des six échantillons de miels analysés sont illustrés par la figure 4. Les échantillons de miels analysés présentent une densité qui varie entre $1,30 \pm 0,00$ g/cm^3 à $1,76 \pm 0,00$ g/cm^3 , ces résultats répondent aux normes qui varient de $1,39$ à $1,41$ g/cm^3 préconisées par le règlement de l'Union européenne (UE) (Directive européenne, 2001). La densité de l'échantillon E1 est largement plus élevée.

Selon Louveaux (1959), le poids spécifique du miel peut varier légèrement selon l'origine florale et aussi selon la teneur en matières minérales. La densité varie aussi en fonction de la teneur en eau du miel, de la température, de la composition biochimique et des impuretés contenues dans le miel (Gonnet, 1995).

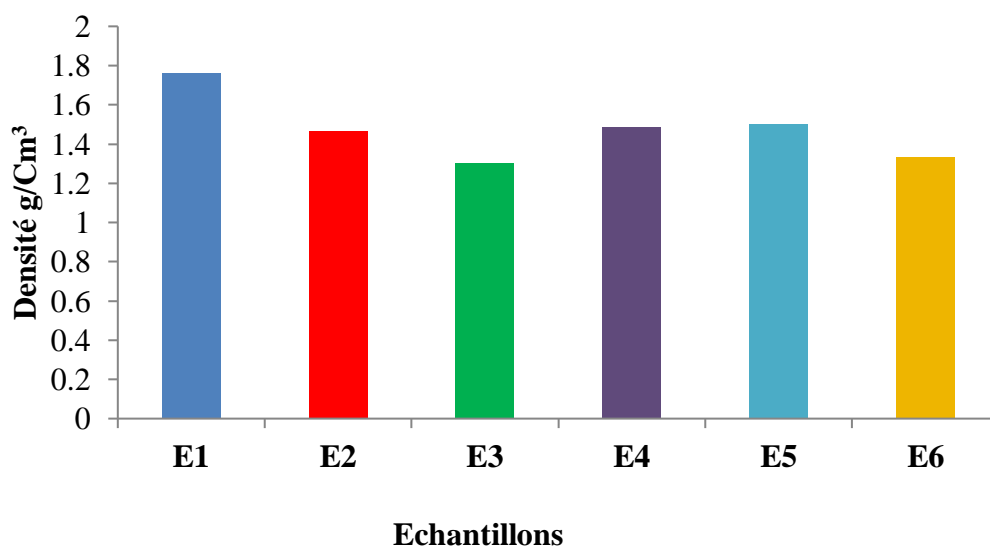


Figure 4 : Représentation graphique des densités des miels analysés.

Les résultats des densités obtenus dans cette étude se rapprochent de ceux rapportés par Bouzid (2016) dans le cadre d'une étude physicochimique de 23 échantillons de miels de Tizi-Ouzou (Algérie) avec des valeurs comprises entre 1 et $1,51$ g/cm^3 .

Norjihada *et al.* (2021) dans son étude de miel de Malaisie a obtenu des valeurs allant de $1,27$ à $1,57$ g/cm^3 , l'auteur a estimé que les miels ayant une densité la plus faible ont une teneur en humidité élevée, la saison de récolte, les facteurs climatiques et le degré de maturité atteint dans la ruche, semblent avoir leur impact sur le paramètre densité.

3.1.2. Le potentiel d'hydrogène

Les pH des miels présentent en général des pH acides, allant de pH 4 dans le cas des miels de nectar à des pH supérieurs à 5 pour ceux des miellats. Cette propriété est due à la présence d'acides organiques dans le miel tels que l'acide gluconique (Marcet, 2017). Le pH des miels analysés sont compris entre 3,61 et 4,47 est représentés dans la figure 5. Tous les miels analysés sont en conformité avec les normes du Codex alimentarius (2001).

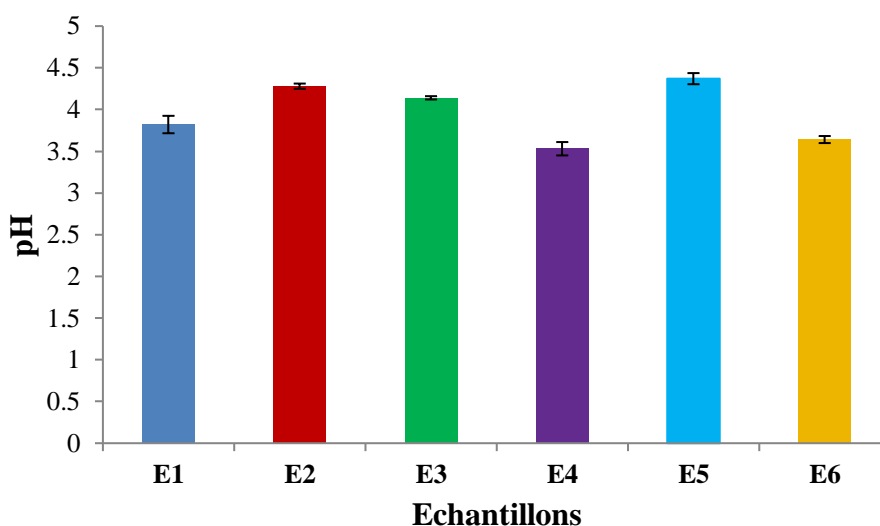


Figure 5: Représentation graphique des pH des miels analysés.

Selon l'étude d'Amri (2006), les miels de nectar avec un léger mélange de miellat ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Ce qui nous a permis de dire que les échantillons de miels analysés dans notre étude sont probablement des mélanges de miellat. Ces valeurs de pH sont similaires à celles rapportées pour d'autres échantillons de miels provenant de l'Inde, du Brésil, de l'Espagne et de la Turquie qui auraient un pH entre 3,49 et 4,70 (Azeredo *et al.*, 2003 ; Saxena *et al.*, 2010).

Les valeurs obtenues dans cette étude et qui se situent entre 3,6 à 4,4 peuvent dépendre aussi de l'âge et la fraîcheur du miel comme rapporté par Lequet (2010). Des valeurs similaires ont été retrouvées par d'autres auteurs pour les miels Algériens (3,72 - 4,85), Iraniens (4,1 - 5,5), Marocains (3,52 - 5,13), Malaisiens (3,22 - 4,03).

3.1.3. La conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre de détermination de l'origine botanique du miel (Bogdanov, 2003) ; elle est liée à la concentration des sels minéraux et d'acides organiques (Zerrouk *et al.*, 2011). Les résultats obtenus sont représentés par la figure 6.

La totalité des miels analysés 66,66 % (soit 4/6), ont des valeurs inférieures à 0,8 ms/cm. Ces valeurs sont en conformité avec les normes fixées par le Codex Alimentarius (2001). Les valeurs obtenues sont comparables à celles obtenues par Chaouia (2014) sur son étude portée sur les analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel poly floral de la région d'Ain Zaâtout située au sud Algérien, avec des valeurs qui varient entre 0,15 ms/cm et 0,72 ms/cm ; ainsi que celles rapportées par Chaouche et Bounsiar (2017) sur le contrôle de qualité des miels multi floral de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou avec des valeurs comprises entre 0,223 ms/cm et 1,52 ms/cm et aussi comparables avec les valeurs obtenues par Mohammed *et al.* (2013) des miels Malaisiens (monofloraux) avec des valeurs comprises entre 0,41 ms/cm et 0,79 ms/cm.

Le reste des échantillons qui représentent 33,33 % ont des valeurs supérieures à la norme 0,8 ms/cm, ce qui pourrait être dû probablement à la présence massive de minéraux dans ces derniers (Bogdanov *et al.*, 2004).

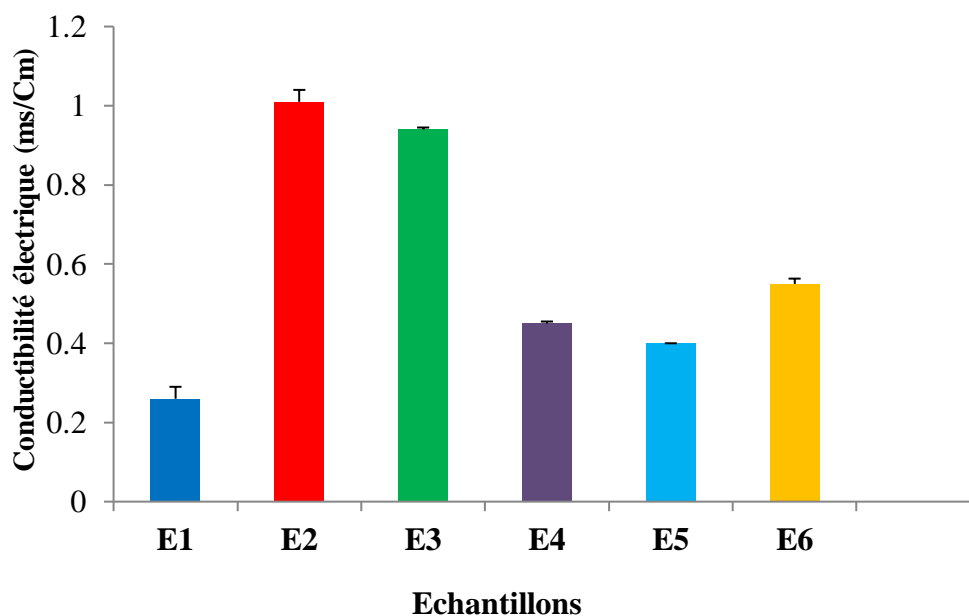


Figure 6 : Représentation graphique de la conductivité électrique des échantillons de miel analysés.

3.1.4. Teneur en eau

La teneur en eau, nous renseigne sur le taux d'humidité, la stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours de stockage (Gonnet, 2004). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 7.

La teneur en eau dans les échantillons étudiés varie entre 7,08 % à 12,37 % (figure 15); ce qui est dans les normes (≤ 21 g / 100 g) selon le Journal officiel des communautés européennes (2001), et proche des valeurs trouvés par Ibrahim *et al.* (2012) dans son étude

portée sur les propriétés physico-chimiques et antioxydantes du miel algérien qui varie entre 11,59 % et 14,13 % et proche de celles de Yaiche Achour *et al.*(2014) dans son étude portée sur la composition physicochimique des miels de différentes régions algériennes (Laghout, Httatba, Mitija, Oued Mazafran et Médea) avec des valeurs comprises entre 13 % et 15% avec une moyenne de 13,84 %.

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Mohammed *et al.*(2013) avec des valeurs comprises entre 11,59 % et 19,06 %, ce qui peut être dû à leurs sources florales différentes. Le taux d'humidité du miel (E1) est de 7,08 %, ce qui est le plus bas taux enregistré parmi les échantillons testés (Tableau VIII), cette propriété lui permet d'être protégé des attaques microbiennes pendant une longue durée de stockage (Moniruzzaman *et al.*, 2013). En effet une teneur en eau élevée peut entraîner une fermentation indésirable du miel pendant le stockage (Chirife *et al.*, 2006). En outre, la teneur en eau dépend de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité dans la ruche et les facteurs climatiques (Finola *et al.*, 2007).

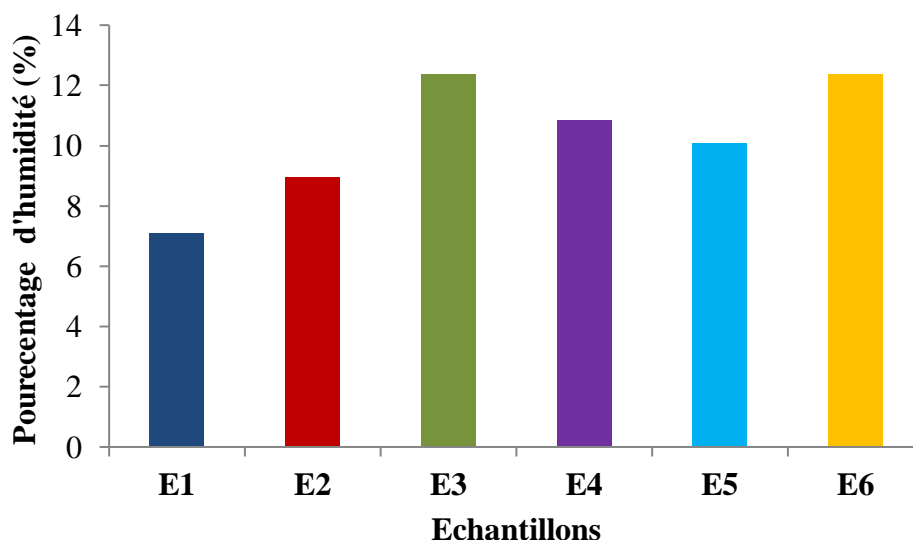


Figure 7 : Représentation graphique de la teneur en eau des miels analysés.

3.1.5. Degré brix

Les sucres sont des composants essentiels du miel, mais leur quantité varie selon la variété et le sucre d'un nectar peut varier énormément d'une fleur à une autre. Le Brix aussi de l'augmentation de la teneur en sucre (Geană *et al.*, 2020). Le degré Brix indique la quantité de sucre en gramme contenue dans 100 g de miel.

La moyenne des degrés de Brix obtenus sont autour de 87,75% (Figure 8), cette valeur est proche de celle trouvée par Chaouche et Bounsiar (2017), pour des miels de la même région est qui est de 80 %.

Selon les normes du *Codex Alimentarius* et le projet de l'Union européenne, la teneur en sucre du miel ne doit pas dépasser une valeur de 82,5 % pour les miels du nectar et entre 60 - 81 % pour le miellat. Nos résultats dépassant la limite maximale recommandée par le *Codex Alimentarius*, Ceci peut être justifié par une fraude d'ajout du sirop de sucre dans les miels analysés (Bartholomeus, 2010). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 8.

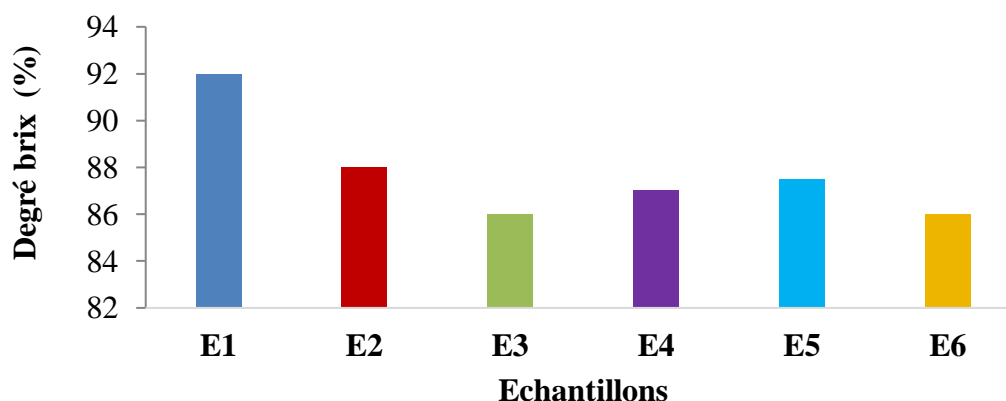


Figure 8 : Représentation graphique de la teneur en sucre Brix des échantillons de miel analysés.

Les valeurs obtenues sont supérieures de celles enregistrées sur quelques types de miels Algériens (77,93 % à 82,80 %), et aussi pour les miels importés en Algérie (Yaiche et Khali, 2014; Abersi *et al.*, 2016).

3.1.6. L'acidité libre

L'acidité est un critère important de qualité, il nous renseigne sur l'état du miel durant son extraction et son stockage, en raison de son influence sur sa texture et sa stabilité (Bogdanov *et al.*, 1995). L'acidité des miels est conférée par l'acide gluconique, ce dernier est produit à partir du glucose sa formation s'accompagne de dégagement du peroxyde hydrogène (eau oxygénée), sous l'action de l'enzyme « glucose-oxydase » sécrétée par l'abeille, la présence d'eau oxygénée assure au miel des propriétés antiseptiques (Schweitzer, 2005).

Les valeurs de l'acidité des miels analysés varient de $5,25 \pm 0,25$ à $16,50 \pm 1,5$ meq/kg avec une moyenne de $11,45 \pm 1,95$ meq/kg. L'ensemble des résultats obtenus sont illustrés

dans la figure 9. Les valeurs obtenues sont inférieures à la norme fixée par le Codex Alimentarius (2001) qui est de 50 meq/kg. Cela indique l'absence de fermentations indésirables dans nos échantillons.

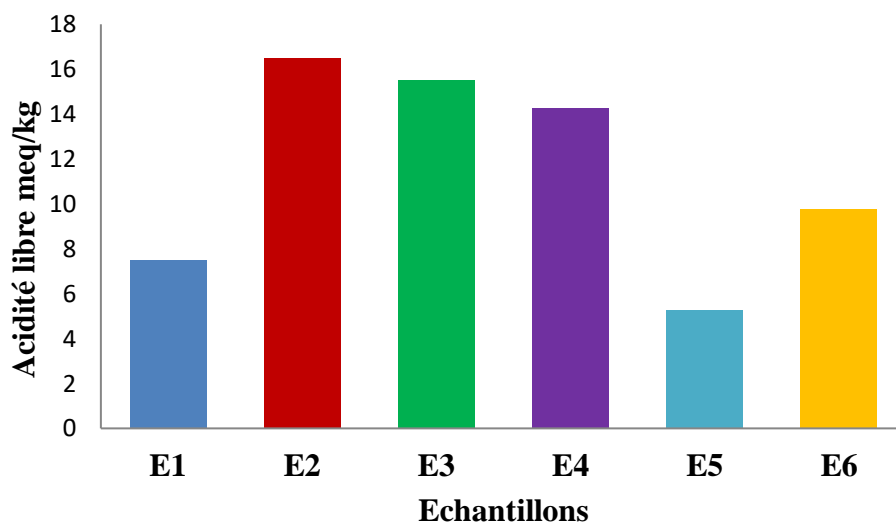


Figure 9 : Représentation graphique de l'acidité libre des miels analysés.

Les valeurs enregistrées de l'acidité des miels analysés par Yahia *et al.* (2015) varient de 15,5 à 40 meq /kg. Les valeurs obtenues dans cette étude sont plus élevées que celles retrouvées dans notre étude, on remarque que leurs valeurs minimales se rapprochent de nos valeurs maximales tout en restant dans la limite du cadre légal.

Norjihada *et al.* (2021) ont enregistré dans leur étude sur la comparaison du profil physicochimique, de la quantité de protéines et d'antioxydantes de dix-sept échantillons de miel collectés dans plusieurs régions de Malaisie, des valeurs de 10,80 à 53,20 meq/kg, ces résultats sont largement supérieures que celles enregistrées dans notre étude, l'auteur estime que ces valeurs élevées sont dues à une augmentation de l'oxydation du glucose et de l'activité fermentaire.

3.1.7. Teneur en cendres

La teneur en cendres recouvre l'origine botanique et géographique du miel qui déduit sa qualité (Elsouhaimy *et al.*, 2015). Les résultats obtenus sont représentés par la Figure 10.

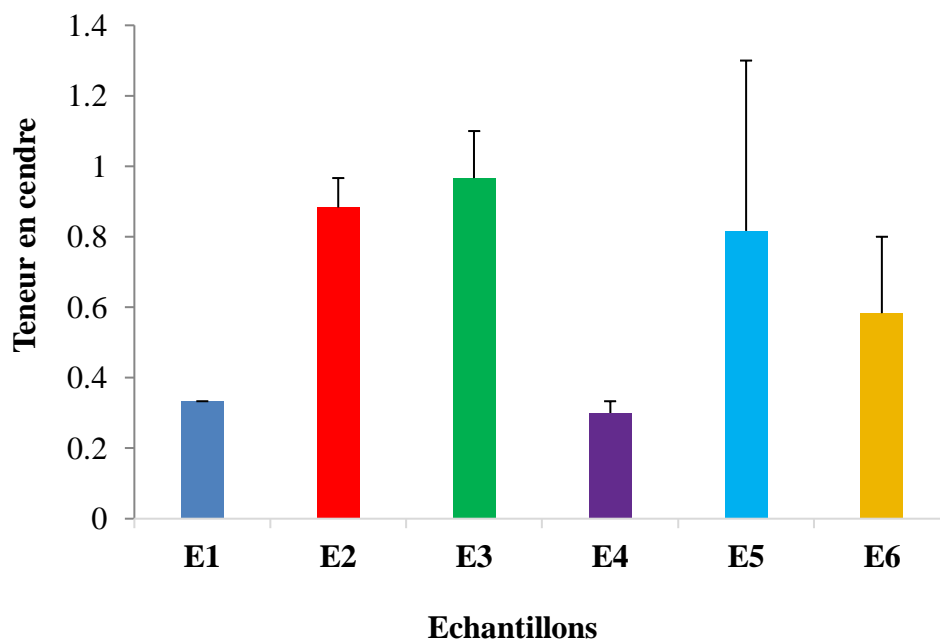


Figure 10 : Représentation graphique de la teneur en cendres des échantillons du miel analysés.

Les échantillons de miel analysés sont riches en matière minérale, selon les normes de codex alimentarius (2001) qui varient entre 0,02 % à 1,03 % ; Nos valeurs sont comprises entre 0,33 % et 1,03 % ceci indique que ce sont des mélanges du miellat avec du nectar.

Les valeurs obtenues (Tableau XI) sont en moyenne supérieures à celles obtenues par Ouchemoukh *et al.* (2007) et qui se situent entre 0,06% à 0,54% et de celles de Amri (2016) pour le miel d'Espagne qui a présenté un taux plus faible en teneur en cendres et qui est de 0,019 %.

La teneur en cendres varie selon les procédés de récolte, les techniques de l'apiculture et les matériels collectés par les abeilles lors de la recherche de sa nourriture sur la fleur, le sol, le climat caractéristique et l'origine botanique du miel (Bogdanov, 2003; Bakchiche *et al.*, 2017).

3.1.8. Teneur en sucres réducteurs

Les résultats obtenus de l'analyse des échantillons de miel sont représentés dans la figure 11.

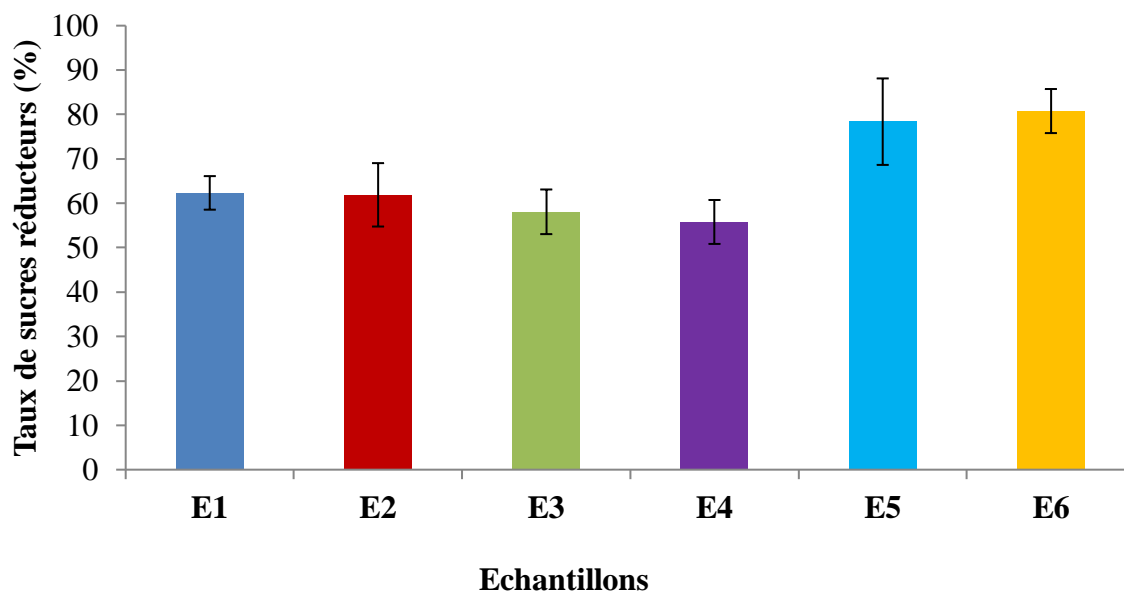


Figure 11 : Représentation graphique de la teneur en sucres réducteurs des échantillons de miel analysés

La teneur en sucre réducteur nous permet dans certains cas d'identifier l'origine botanique de quelques miels monofloraux et la proportion des différents sucres présents dans un miel (Louveaux, 1968).

Selon la norme recommandée par le Codex Alimentarius et les Directives européennes 2001/110/CE (Conseil de l'Union européenne, 2001) préconisant une valeur seuil fixée à un taux $> 60 \%$ pour le miel de nectar et $> 45 \%$ pour les miels de miellat, tous nos résultats varient de $55,79 \%$ à $80,76 \%$ et sont en accord avec la norme décrite. Il est possible d'avoir un mélange de miellat et de nectar, du fait que les miels sont issus d'un écosystème forestier.

La moyenne de nos résultats est de $66,20 \%$ du point de vue législatif, concordent aux normes et aux résultats de Gonnet (1982). Les résultats obtenus nous confirment que les sucres sont les composants essentiels et majoritaires dans le miel.

Le chauffage et la conservation du miel à une longue période induisent la conversion des sucres en HMF ou en acides inorganique (Saxena *et al.*, 2010).

3.1.9. La teneur en composés phénoliques

Les polyphénols constituent l'une des plus importantes classes de composés présents dans le miel, leurs concentrations sont liées fortement à leur origine végétale (Ibrahim *et al.*, 2012).

Dans notre étude, les polyphénols totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG / 100 g). Les valeurs sont déterminées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. Les résultats obtenus sont représentés la figure 12.

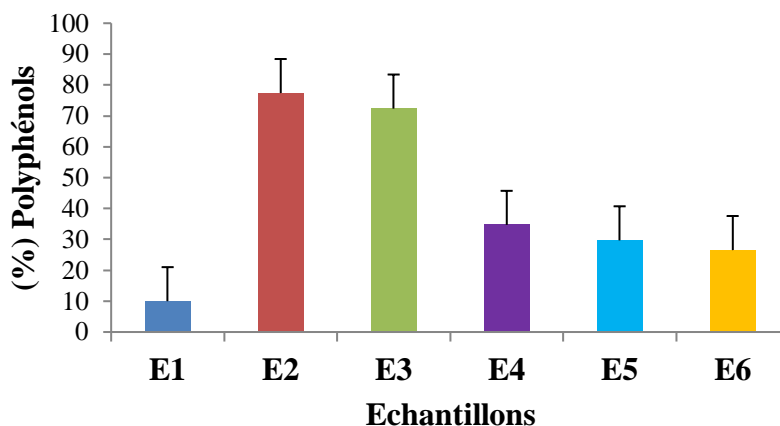


Figure 12 : Représentation graphique de la teneur en polyphénols totaux des miels analysés.

Les teneurs en composés phénoliques des miels analysés varient de 1,99 mg / 100 g (E1) à 15,48 mg / 100 g (E2). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Amessis et Mansour (2015) sur vingt échantillons de miel toutes fleurs de différentes régions d'Algérie; et inférieurs à ceux obtenus par Ibrahim *et al.* (2012) sur les propriétés physicochimiques et antioxydantes de quatre variétés du miel Algérien, qui varient de 41,1 mg / 100 g à 49,8 mg / 100 g ; la variation de ces teneurs en polyphénols pourrait être due à leur composition chimique, comme les acides organiques, les acides aminés, les produits de la réaction de Maillard, l'acide ascorbique (Meda *et al.*, 2005) ; plus que les polyphénols sont associés à un grand nombre de composés chimiques dus à leurs origines géographiques y'aura une activité antioxydante importante (Sochaet *al.*, 2009).

La teneur en composés phénoliques dans les miels est aussi liée à la couleur foncé des miels (Jasicka *et al.*, 2011). Tous nos échantillons été de couleur ambre à ambre foncé, et les valeurs les plus élevées obtenus été pour (E2) et (E3).

3.1.10. Résultats des taux d'hydroxymethylfurfural

L'hydroxymethylfurfural est un indice de vieillissement qui s'accroît avec le stockage prolongé lors d'un chauffage ce qui le qualifie d'un critère important pour la

détection des miels surchauffés, il est aussi un indice de fraîcheur qui témoigne de la dégradation éventuelle du miel (SPMF,2016; Chambrey, 2019).

Les recommandations du codex alimentarius (2001) fixe un maximum de 40 mg d' HMF/kg de miel, suite à cela nous avons constaté que tous nos échantillons de miel répondent à cette recommandation certifiant ainsi la fraîcheur et les bonnes conditions de stockage des miels analysés avec des valeurs qui varie entre $0,84 \pm 0,43$ à $17,51 \pm 4,19$ mg /kgavec une moyenne de $5,13 \pm 4,19$ mg/kg l'ensemble des résultats obtenues pour ce paramètre est illustré dans la figure 13.

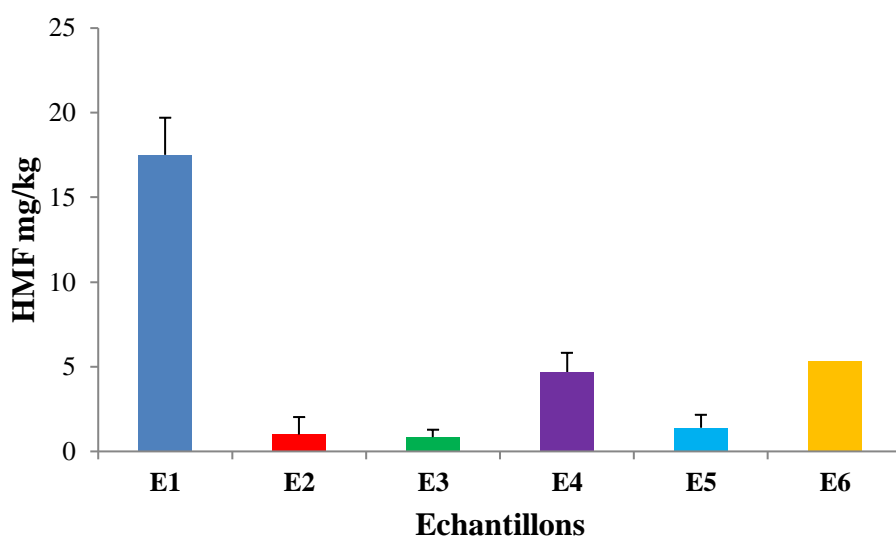


Figure 13 : Représentation graphique des teneurs en HMF des miels analysés.

Belhadj *et al.*(2015) ont analysées cinq échantillons de miels provenant de la région de Tadla-Azilal du Maroc, en vue de déterminer leurs caractéristiques physico-chimiques, l'analyse du taux HMF a donnée des résultats qui varie entre 3,87 et 100 mg / kg ce qui leurs donnent des miel conformes à la norme fixé 40-80 mg / kg ces résultats attestent leurs fraîcheurs contrairement au miel qui a eu 100 mg / kg de résultats qui dépasse la normes ce qui signifie que ce dernier a subits un chauffage. Comparant à nos résultats ces derniers sont très élevés aux nôtres.

Amri *et al.*(2007) ont enregistré des valeurs respectivement de $1,12 \pm 0,11$ mg /kg et $38,599 \pm 1,678$ mg/ kgsur l'analyse des miels de l'est Algérien. Ces valeurs se rapprochent de nous résultats.Les résultats obtenus montrent la fraîcheur de leurs miels.

3.1.11. La couleur

En fonction de l'origine et la composition du miel la couleur peut varier du jaune très pâle (transparent) au brun très foncé en passant par toutes les gammes de jaunes, d'oranges, de marrons et même parfois de verts. Si le nectar ou le miellat n'ont pas de pigments, les miels liquides seront incolores et les miels cristallisés seront blancs (Bruneau, 2002).

Selon Louveaux (1968), la couleur du miel est liée à la teneur en matière minérale et en protéines. Ainsi les miels foncés sont plus riches en cendres, en protéines et en colloïdes.

Les valeurs obtenues pour la couleur se situent entre 0,66 mm Pfund et 286,11 mm Pfund, ce qui signifie que nos échantillons représentent une variabilité de couleurs qui varie du plus clair au plus foncé.

Les couleurs des miels analysés sont confirmées par les normes de Codex Alimentarius (2001) qui indique que les miels clairs ont des valeurs des couleurs entre 0 et 85 mm Pfund et les miels foncés supérieurs à 114 mm Pfund.

Scherzad *et al.* (2015) dans son étude sur la caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie, a analysé trente-huit échantillons de miels produits dans onze localités de la région steppique semi-aride de Djelfa. De faibles variations de couleurs allant de 55 à 99 mm Pfund ont été enregistrées. Ces miels sont des miels clairs contrairement à nos échantillons qui renferment plusieurs gammes de couleurs en allant du plus clair au plus foncé.

Norjihada *et al.* (2021) en analysant le paramètre de couleur de dix-sept échantillons de miel originaire de Malaisie a noté des valeurs de couleur allant de 51 à 150 mm Pfund avec des variations de couleurs allant du plus clair au plus foncé ce qui se rapproche de nos résultats observés. L'auteur a rapporté aussi que les miels de couleur foncée auraient une teneur en minéraux plus élevée.

3.2. Résultats et discussion des activités biologiques des miels analysés

3.2.1. L'activité du piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est un radical de couleur violet intense, largement utilisé pour tester la capacité à piéger des radicaux libres, donc d'arrêter la propagation de la réaction en chaîne de l'oxydation (Bouyahya *et al.*, 2017).

L'activité de piégeage du radical DPPH des échantillons de miels testés a été mesurée aux concentrations de ; 20, 40, 60, 80, 100, 120 mg/ml. Les résultats du test ont démontré que les pourcentages du piégeage du radical DPPH sont dose-dépendants pour tous les échantillons testés, ce qui est similaire avec les résultats obtenus par Ibrahim *et al.* (2012) sur

son étude sur les propriétés physicochimiques et antioxydantes du miel Algérien avec les mêmes concentrations testées.

Le pourcentage de piégeage le plus élevé a été observé à la concentration de 120 mg/ml pour tous les échantillons de miel testés (figure 14).

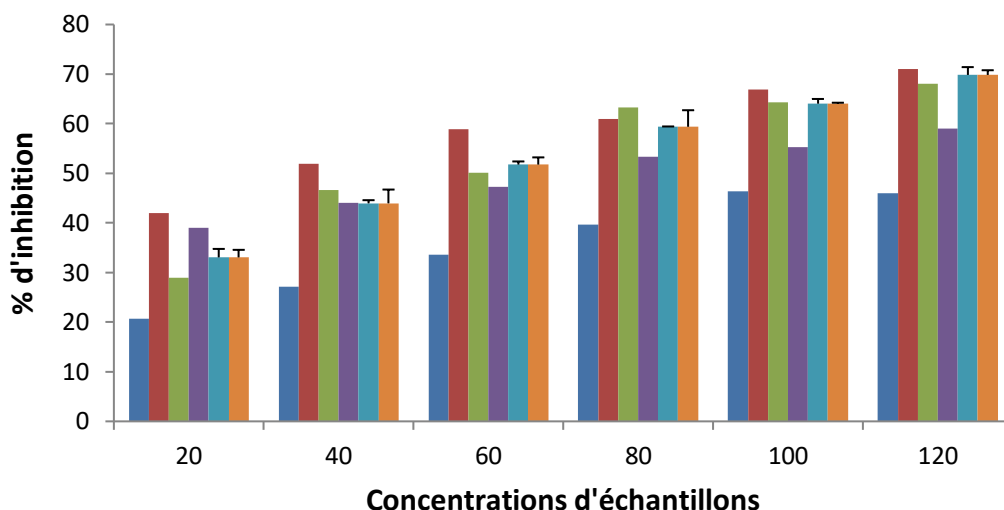


Figure 14: Représentation graphique du pourcentage (%) d'inhibition de l'activité du radical DPPH

Les résultats obtenus varient de 46,01 % pour le miel E1 ayant la teneur la plus faible en composés phénoliques totaux et de 70,96 % pour le miel E2 ayant la teneur la plus élevée en composés phénoliques totaux, ce qui est du probablement à la forte teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes présents dans le miel (Beretta *et al.*, 2005), la quantité de ces composants varie en fonction de l'origine florale et géographique du miel (Gheldof *et al.*, 2002). Une forte corrélation a été trouvée entre l'activité antioxydante, teneur en composés phénoliques et la couleur du miel (Al-Mamary *et al.*, 2002). En effet, les miels de couleur foncée ont une teneur élevée en composés phénoliques totaux, donc une capacité antioxydante élevée (Beretta *et al.*, 2005).

La richesse du miel en antioxydants naturels, réduit le risque de maladies cardiaques, de cancer, de faiblesse du système immunitaire et de différents processus inflammatoires (Gheldof *et al.*, 2002). Une activité élevée du piégeage des radicaux libres confère au miel une activité antioxydante élevée (Sagdic *et al.*, 2013).

3.2.2. Résultat de l'activité antibactérienne des miels analysés

D'après Kerkvliet (1996), l'effet antibactérien du miel peut partiellement être expliqué par la présence d'une quantité importante d'enzymes telle que la glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des six échantillons de miel testés sont résumés par la figure 15 et la figure 16. Les résultats obtenus démontrent une bonne inhibition de nos échantillons de la souche d'*Escherichia coli* avec des zones d'inhibition qui varient de $8,66 \pm 0,44$ mm de Ø à $10,33 \pm 0,44$ mm de Ø avec une moyenne de $9,11 \pm 0,88$ mm de Ø et une inhibition importante contre la souche de *Staphylococcus aureus* qui varie de $11,66 \pm 0,44$ mm de Ø à $16,66 \pm 0,88$ mm de Ø avec une moyenne de $12,05 \pm 1,96$ mm de Ø. Nos résultats démontrent une sensibilité des deux souches étudiées avec les six échantillons de miels. *Staphylococcus aureus* est plus sensible vis-à-vis des six miels que *Escherichia coli* qui présente une faible sensibilité avec des zones d'inhibitions qui ne dépassent pas les 10 mm de Ø.

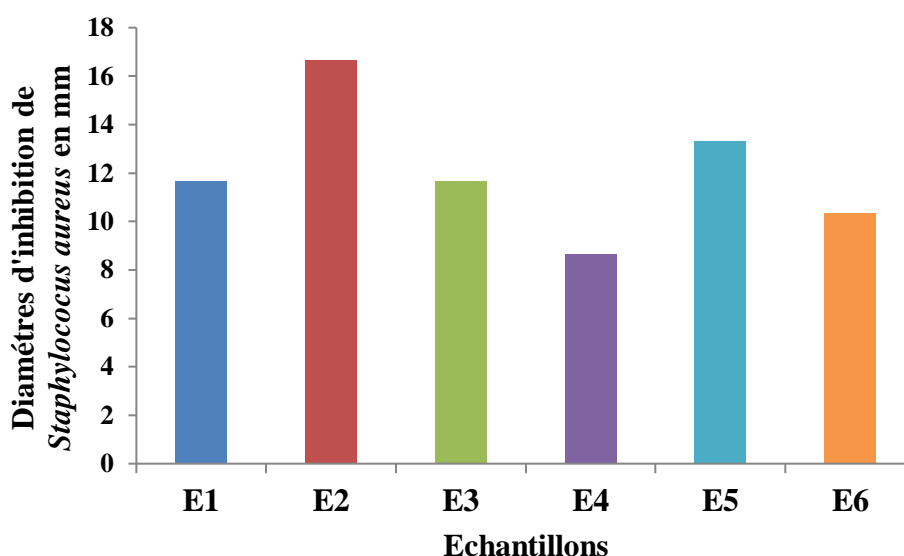


Figure 15 : Valeurs des diamètres d'inhibitions des six échantillons vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

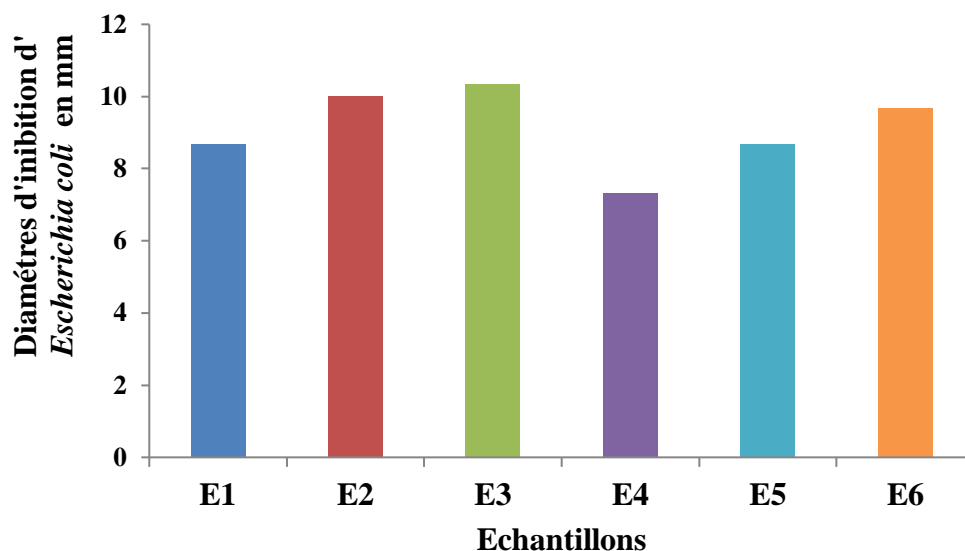


Figure 16 : Valeurs des diamètres d'inhibitions des six échantillons vis-à-vis *Escherichia coli*.

Dans le cadre d'une contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocain de huit échantillons de miel sur trois souches bactériennes *E. coli*, *Salmonella spp* et *S. aureus* en utilisant la méthode des puits Belahadj *et al.* (2016) a enregistré les résultats des zones d'inhibition qui varient de 0 à 44 mm de diamètre suivant pour *S. aureus*, en utilisant des miels sans dilution (purs) et de 10 à 44 mm de diamètre pour *E. coli*. Les diamètres enregistrés ont été plus élevés que les valeurs que nous avons enregistrées avec les mêmes souches.

Merah *et al.* (2010), ont rapporté que *E. coli* est moins résistante à l'effet antimicrobien de trois types de miel naturel collecté en Algérie suite à leur étude qui consiste à l'évaluation de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel récoltés de trois sites du territoire Algérien de Tizi-Ouzou, Sidi Bel Abbès et Jijel et un échantillon de miel importé de l'Arabie Saoudite (Alshifa). Les quatre échantillons sont testés sur cinq souches microbiennes à caractère pathogène (quatre souches bactériennes et un champignon), *Staphylococcus aureus* s'est avérée moyennement sensible aux différents miels testés. Les appréciations émises se rapprochent de nos observations, les auteurs pensent que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram+ et non sur les bactéries à Gram-, ni sur le champignon testé, et d'autre part de la composition du miel lui-même.

Une autre étude encadrée par Amit Kumar *et al.* (2021) sur l'activité antibactérienne du miel indien issu de l'espèce d'abeille *Apis Dorsata* ces abeilles géantes sont des abeilles

migratrices qui vivent dans le sous-continent indien destiné. Leur miel est très utilisé dans le domaine médicale et a révélé son efficacité contre les espèces *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Klebsiella* avec une zone d'inhibition variait de 16 à 22 mm de Ø. Ces résultats sont plus élevés que ceux trouvés dans notre étude. Les auteurs ont rapportés aussi des propriétés anti-biofilm de ce miel. Il a été aussi démontrées dans la littérature que divers souches sensibles et résistantes aux antibiotiques sont inhibés par le miel *in vitro* et que l'activité antimicrobienne du miel est due à son faible pH, à son effet osmotique et également à la production de peroxyde d'hydrogène.

Belhadj *et al.* (2016) ont rapporté que le peroxyde d'hydrogène est à l'origine de l'inhibition retrouvée dans la plupart des miels. Il est le produit de la réaction enzymatique entre le glucose et la glucose-oxydase, en présence d'eau et d'oxygène. Cette enzyme n'est pas active dans le miel pur, par contre, elle le devient dans le miel dilué. De plus, la formation d'acide gluconique accroît l'acidité du miel limitant ainsi la croissance de microorganismes. D'après Bogdanov et Blumer (2001), il n'y a pas que le peroxyde d'hydrogène qui exerce principalement l'effet antimicrobien dans le miel. Ils estiment que d'autres substances peuvent contribuer à cette inhibition, tel que les acides, les bases, les substances neutres et volatiles qui occupent une place importante dans l'activité biologique du miel, elles proviennent de la flore mellifère avec la contribution de l'abeille ; leur importance est due à leur insensibilité à la chaleur, à la lumière et la durée du stockage. Pour que ces facteurs n'entravent pas la formation d'eau oxygénée dans le miel, il doit être stocké dans un endroit frais et à l'abri de la lumière.

3.3. Résultats de l'Analyse statistique

Afin de classer les 6 échantillons de miels nous avons conduit une étude statistique par Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des principaux paramètres des miels analysés figure 17 et de la distribution des miels analysés figure 18.

C'est une méthode d'analyse de données multivariées les plus fréquemment utilisées. Cette dernière permet d'étudier des ensembles de données multidimensionnelles avec des variables quantitatives. Les dimensions de l'ACP sont également appelées axes ou facteurs. Le cercle de corrélation ou graphique des variables montre les corrélations entre les composantes et les variables initiales.

Les deux axes de l'ACP représentés par la figure 17, expliquent 75,81% de la variance de la matrice analysée :

-L'axe 1 (55,11 %) ;

-L'axe 2 (20,70 %).

La confrontation des résultats obtenus dans cette étude à l'aide de cette méthode nous a permis de constater que le DPPH, les Polyphénols, la conductivité électrique, les cendres et la couleur, sont très proches du cercle de corrélation et donc très bien représentés sur ce dernier. Ces cinq variables sont assez bien corrélées entre elles. En revanche, ces mêmes variables sont indépendantes de l'HMF, du degré brix et de la densité.

Pour la teneur en eau est corrélée négativement avec le degré brix.

L'analyse statistique a montré une corrélation des sept paramètres physicochimiques pour l'échantillon E2, ce qui nous permet de le qualifier parmi les miels de meilleure qualité.

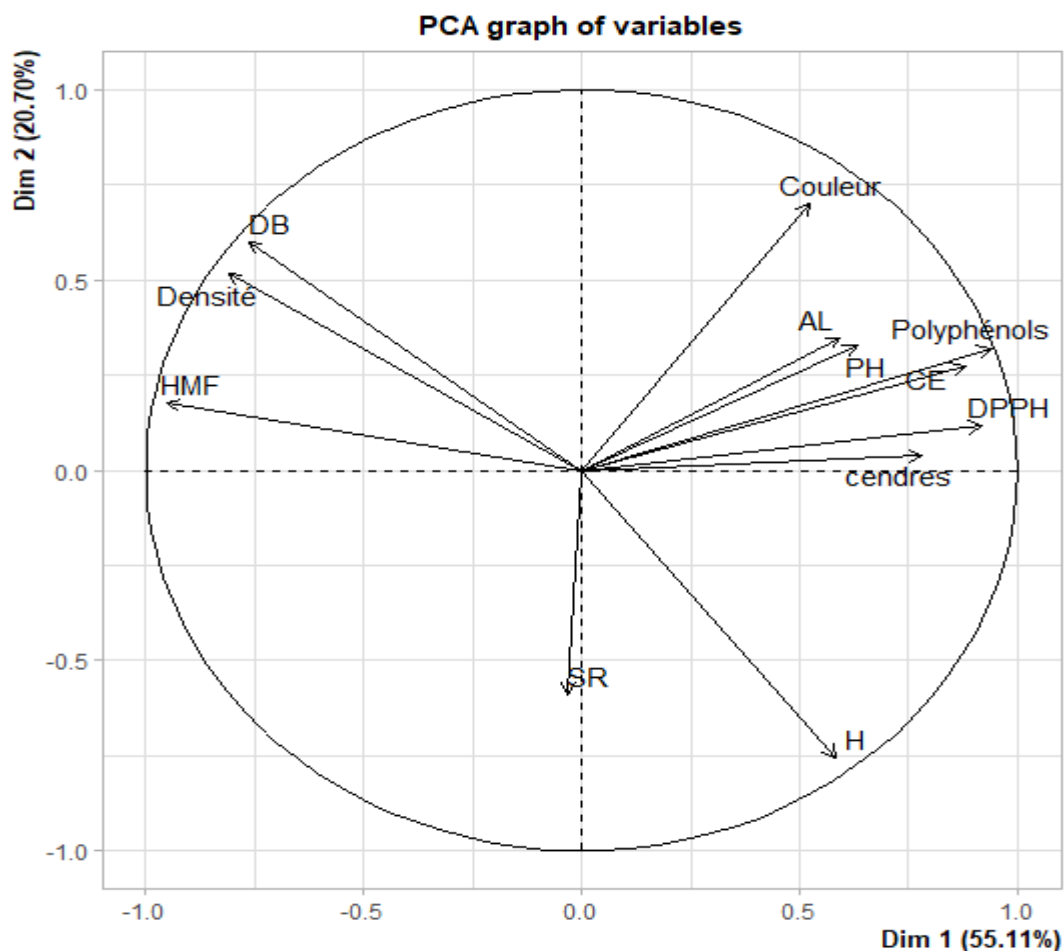


Figure 17 : Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des principaux paramètres des miels analysés.

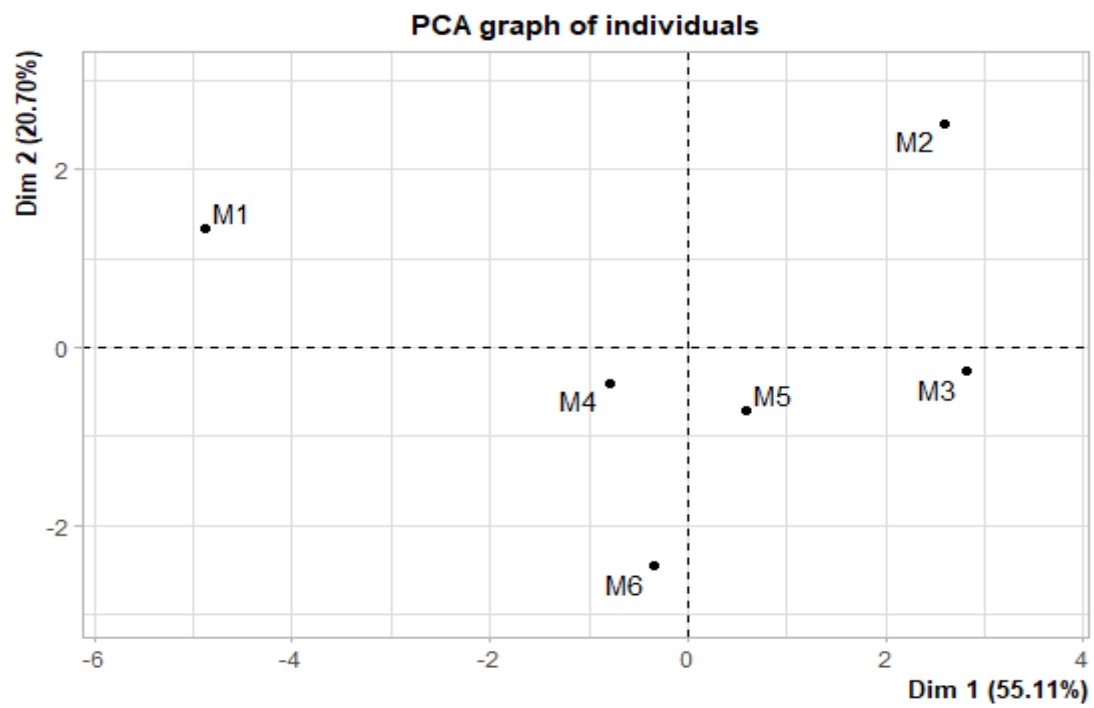


Figure 18 : Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des miels analysés.

Conclusion

Cette étude nous a permis d'évaluer quelques paramètres physico-chimiques et l'activité biologique d'échantillons de miels provenant de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou, au nord Algérien. Cette analyse physico-chimique a apporté des résultats très intéressants et exploitables dans le domaine agro-alimentaire et de la santé.

En effet l'étude physico-chimique a montré que la détermination de la teneur en eau dans les variétés de miels étudiés est importante pour la qualité du miel. Elle nous a permis de connaître les conditions de stockage et le degré de fermentation des miels. Les résultats obtenus montrent que toutes les variétés de miel analysé ont des taux d'humidité inférieurs à 13 %. La détermination de la conductivité électrique et le contenu des cendres dans les variétés de miel analysées nous a permis de connaître l'origine des miels et ainsi que leur composition minéral de nectar. Les résultats des conductivités électriques et les teneurs en cendres obtenues révèlent que toutes les miels analysés sont des miels de nectar sauf pour l'échantillon E2 et E3.

Les résultats du pH ont révélé que les miels été acides avec $\text{pH} \leq 5$ et une acidité libre qui est ≤ 50 méq / kg, qui les orientent vers des miels à nectar.

Les valeurs en sucre réducteurs obtenues varient entre 55,79 % et 80,76 %.

Les critères de qualité tels que l'hydroxy-méthyl-furfural (HMF) utilisés pour apprécier les détériorations dues au stockage et à la chaleur indiquent que nos miels sont frais et riches.

L'analyse de l'activité biologique de nos échantillons a révélé des activités antioxydantes et antibactériennes intéressantes pour la plupart des miels avec des degrés différents. Le taux de piégeage du DPPH était de 40 % pour E1 et 70,96 % pour E2. Concernant l'activité antibactérienne tous nos échantillons ont présenté une inhibition pour les deux souches bactériennes utilisé la plus grande activité est attribué à l'inhibition du *Staphylococcus aureus* avec 8,66 mm pour E4 et 16,66 mm pour E2.

Les différents paramètres étudiés ont montré que les miels analysés sont de bonne qualité, le E2 provenant de la région de L.N.I semble être le miel le plus riche, ceci est confirmé par l'analyse statistique qui a montré une corrélation des sept paramètres physicochimiques pour ce dernier. Il est admis que la qualité du miel est affectée par différents facteurs dont l'origine botanique, géographique, les conditions environnementales, les méthodes d'extraction, de stockage et de transport.

Cette étude est concluante, mais il serait intéressant de l'élargir, en s'intéressant à d'autres paramètres d'évaluation à savoir la présence des contaminants tels que les résidus d'antibiotiques, pesticides et de métaux lourds.

Annexe I

Annexe I : Courbes d'étalonnages.

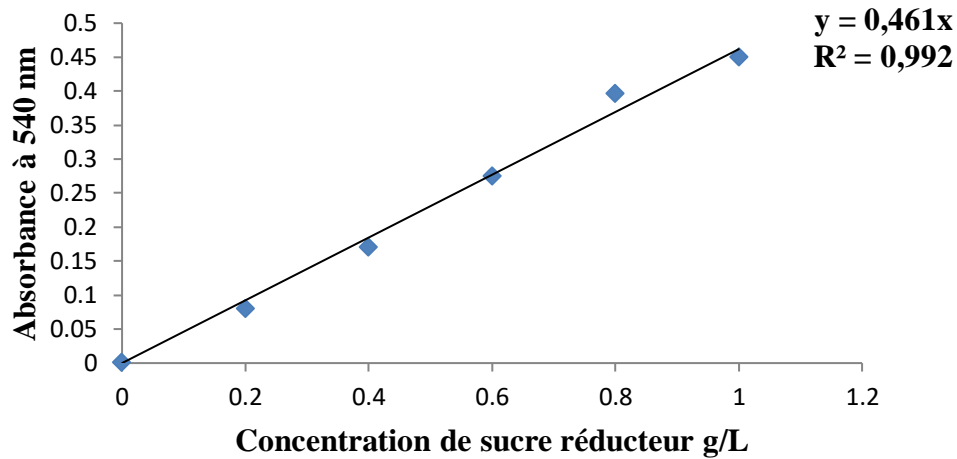


Figure 01 : Courbe d'étalonnage de sucres réducteurs.

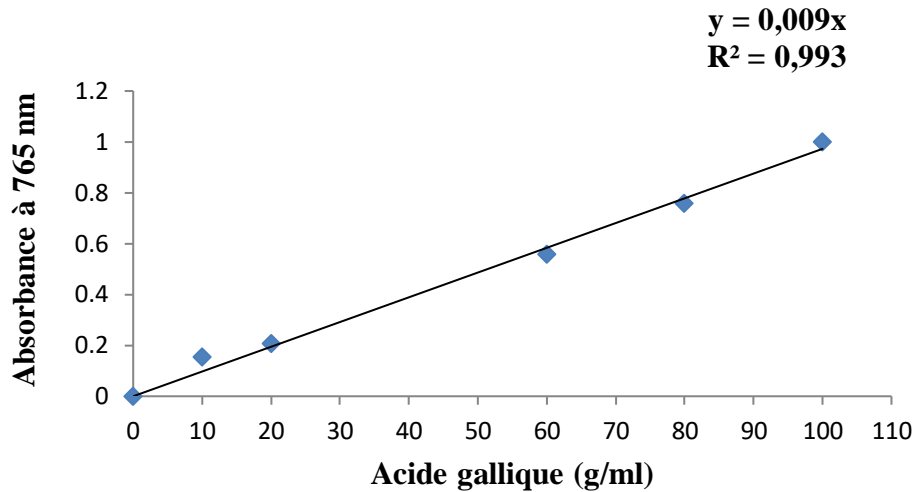


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

Annexe II

Tableau N° II : Les sels minéraux et les oligo-éléments dans le miel de différentes provenances (Bogdanov, 2004)

Les sels minéraux et les oligo-éléments	Mg/kg	Les sels minéraux et les oligo-éléments	mg/kg
Potassium	200 – 1500	Manganèse	0,2 – 10
Sodium	16 – 170	Chrome	0,1 – 0,3
Calcium	40 – 300	Cobalt	0,01 – 0,5
Magnésium	7 – 130	Nickel	0,3 – 1,3
Fer	0,3 – 40	Aluminium	3 – 60
Zinc	0,5 – 20 ≤ 0,02	Cuivre	0,2 – 6,0
Plomb	0,8	Cadmium	≤ 0,005 – 0,15

Tableau N° III : Durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF / kg de miel en fonction de la température de stockage (White *et al.*, 1964)

Température (°C)	Durée pour la formation de 40 mg HMF/kg
4	20 – 80 ans
20	2 – 4 ans
30	0,5 – 1 an
40	1 – 2 mois
50	5 – 10 jours
60	1 – 2 jours
70	6 – 20 heures

Annexe III

Tableau IV : Réactifs utilisés et leurs préparations.

Réactifs	Préparation
Solution de réactif au 3,5-DNS.	<ul style="list-style-type: none">• Solution de glucose à 0,005 mol/L• Solution de DNS (pour 100 ml)<ul style="list-style-type: none">○ 1 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique○ 20 ml de solution NaOH 2 M○ 30 g de tartrate de sodium-potassium tétrahydraté○ Eau distillé jusqu'à 100 ml
DPPH.	2,4 mg de DPPH dilué dans 100 ml de méthanol.
Folin-ciocalteu.	Préparer une dilution de 10 % (10 ml du folin-ciocalteu dans 90 ml d'eau distillé).
Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 10 %.	Dissoudre 20 g de (Na_2CO_3) dans 500 ml d'eau distillé).
Hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1N.	Dissoudre 0,4 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillé.
solution Carrez I.	Ferrocyanure de potassium 15 g dans 100 ml d'eau distillée.
solution Carrez II.	Acétate de zinc 30 g dans 100 ml d'eau distillée.
Solution de bisulfite sulfite de sodium (NaHSO_3) à 0,20 %.	Dissoudre 0,2 g de NaHSO_3 dans 100 ml de l'eau distillée.

Références bibliographiques

A

A.D. M. et Cunha, M.A. A.D. (2018). Blueberry and honey vinegar: successive batch production, antioxidant potential and antimicrobial ability. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21.

Abersi D., Henna K. et Rahem A. (2016). Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de certains miels locaux et importés: Etude de cas. Mémoire de master en sciences alimentation humaine et qualité des produits non publié, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.51.

Adjlane N., Hadda N., Ameer K., Kesraoui S. et Moussaoui D. (2014). Physicochemical and microbiological characteristics of some samples of honey produced by beekeepers in Algeria. *Acta Technologica Agriculturae*, 17(1),1-5.

Ahmad S. et Kumaran N. (2015). Studies on the effects of honey incorporation on quality and shelf life of aonla preserve. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1009334.

Al-Mamary M., Al-Meera A. et Al-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition research*, 22, 1041-1047.

Al-Waili N., Salom K. et Al-Ghamdi, A.A. (2011). Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns : Data Supporting Its Use in Clinical Practice. *The Scientific World Journal*. 11, 766–787.

Amit Kumar C.J., Apoorva H.C., Sangeetha S. et Richa Kurian. (2021). Activité antibactérienne du miel indien de qualité médicale. *International Journal of Medical Science and Clinical Research*. 3 (2), 21-23.

Amr E., Murkovic M. et Siegmund B. (2007). Application of Headspace-Solid-Phase Microextraction and HPLC For the aroma volatile Components Of treacle and determination of its content of 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). *Science Direct Food Chemistry* 104, 1310-1314.

Amri A. (2006). Evaluation physico chimique et détermination de l'origine botanique de quelque variété du miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de magistère en Biochimie appliquée en agroalimentaire et santé. Université Badji Mokhtar; Annaba.

Amri A., Ladjama A. et Ali Tahar M. (2007). Etude de quelques miels produits à l'est Algérien: Aspect physico-chimique et biochimique. *Revue Synthèse*, 17, 57-63.

Azeredo L., Azeredo M., Desouza S. et Dutra V. (2003). Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249-254.

B

Bakchiche B., Habatii M., Benmebarek A. et Gherib A. (2017). Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(1), 118-123.

Belhadj O., El Abbadi I. et Ouchbani T. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. *Revue Marocaine des Sciences Agronomique et Vétérinaires*, 4(3), 12-22.

Belhadj O., Oumato J. et Zrira S. (2015). Etude Physico-chimique de quelques types de miels Marocains. *Revue Marocaines des sciences agronomique et vétérinaire*, 3 (3), 71-75.

Belkhairi N. (2010). Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes. Thèse de Doctorat en Chimie-Biologie-Santé, Université de Toulouse, France.

Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M. et Facino R. (2005). M. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric / fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 185-191.

Blanc M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat en Pharmacie, Faculté de Médecine et pharmacie, Université de Limoges, France.142.

Bogdanov S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37 (1) ,1–18.

Bogdanov S., Bieri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Känzig A., Stöckli H. et Zürche K. (1995). Miel: définition et directives pour l’analyse et l’appréciation. *Centre Suisse de Recherches Apicoles*, 1-26.

Bogdanov S. et Blumer P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Centre suisse de recherché apicoles*, 98 (3), 107-114.

Bogdanov S., Imdorf A., Charrière J., Kilchenmann V. et Fluri P. (2003). Alternative strategy in central Europe for the control of varroa destructor in honeybee colonies. *Apiacta*, 38 (3), 258-278.

Bogdanov S., Lullman C. et Martin P.(1999). Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la Commission Internationale du miel. *Bee World*, 80,61-69.

Bogdanov S., Ruoff K. et Oddo L. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys. *A review Apidologie*, 35(1), S4-S17.

Bonte F.et Desmouliere A. (2013). Le miel: origine et composition. *Actualités pharmaceutiques* ,52 (531), 18-21. Service de physiologie, Faculté de pharmacie, Université de Limoges, France.

Bouet Kouanou E ., Belco Latifou A., Adda C ., Edah L ., Vissienon C., Vissienon Z. et Ahyi V.(2020). Le Miel: Facteurs Influençant sa Qualité *.International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT):* 2509-0119.

Boufenara M. (2009). Gestion de la qualité des aliments. Mémoire de stage diplôme de post-graduation spécialisé, en Sciences Alimentaires et Nutrition ; option : Alimentation, Nutrition et Santé, Constantine.

Boussaid A. et Hamdi S. (2018). Physicochemical And Bioactive Properties Of Six Honey Samples From Various Floral Origins From Tunisia. *Arabian journal of chemistry* , 11,265274.

Bouزيد O. (2016). Contribution à l'analyse physicochimique de quelques types de miels de la Wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master en Ressources Animale en Zone de Montagne, Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Tizi-Ouzou.

Bradbear N. (2005). Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 64.

C

Candiracci M., Piatti E., Dominguez B M., Garcia A D. et Morgado B. (2012). Anti-inflammatory Activity of a Honey Flavonoid Extract on Lipopolysaccharide-Activated N 13 Microglial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,60 (50), 12304–12311

Chambrey C. (2019). Analyse de miels Interprétation des résultats. *Centre d'Apiculture et Réseau d'épidémiologie Apicole*. https://www.technopole.nc/sites/default/files/cpa-analyses_de_miel-interpretation.pdf

Chang X., Wang J., Yang S., Chen S. et Song Y. (2011). Antioxidative Antibrowning and Antibacterial Activities of Sixteen Floral Honeys. *Food and Function*. 541.

Chaouche L. et Bounsiar N. (2017). Contrôle de qualité des miels locaux et importés. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de médecine, Tizi-Ouzou.

Chaouia A. (2014). Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire de magistère en biologie appliquée, Faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, Biskra, 40-56.

Chirife J., Zamora M. et Motto A. (2006). La corrélation entre l'activité de l'eau et les pourcentages d'humidité dans le miel : aspects fondamentaux et application aux miels d'Argentine. *Journal Food Engineering*, 72(3), 287-292.

Clement. (2015). *Le Guide Des Miels : 50 Miels A Découvrir* (Editions Fleurus). Paris, France.

Codex Alimentarius. (2001). Programme Mixte FAO/OMS Sur Les Normes Alimentaires. Commission du Codex Alimentarius. ALINORM01/25,1-31.

Codex alimentarius. (2019). Norme pour le miel. CXS 12-1981. Adoptée en 1981. Révisée en (1987) et (2001). Amendée en(2019).

Cotte JF., Casabianca H., Chardon S., Lheritier J. et Grenier- Loustalot MF. (2003). Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity. *Journal of Chromatography A*. 1021 (1-2), 145-55.

Coulibaly B., Diomandé M., Konaté I. et Bohoua L. (2019). Qualité Microbiologique, Propriétés Physicochimiques et Profil Sensoriel de Miels de la Région du Worodougou, Côte-d'Ivoire. *Journal Scientifique Européen*, 15(30), 1857-7431.

D

Da silva P., Gauche C., Valdemiro L., Costa Ana Carolina O .et Fett R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* ,196, 309-323.

Doukani K., Tabak S., Derriche A. et Hacini Z. (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, (10),1112-5888.

E

El-Sohaimy S.A., Masry S.H.D. et Shehata M.G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60 (2), 279-287.

Emmanuelle H., Julie C. et Laurent G. (1996). Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. Apiservices, Galerie Virtuelle apicole.

Ezéchielle F. B. K., Akim B,L., Christiane A., Lucienne E., Cica V., Zachari V. et Ahyi V. (2020). Le miel: facteurs influançant sa qualité. *International journal of progressive sciences and technologies*, 21, 79-1

F

Finola M., Lasago M. et Marioli J. (2007). Caractérisation microbiologique et chimique des miels du centre de l'Argentine. *Food Chemistry*, 100(4),1649-1653.

Fonseca, M.D.S., Santos,V.A.Q., Calegari G.C., Dekker R.F.H., Barbosa-Dekker, Frédéric B.et Alexis D. (2013). Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531),18-21.

G

Geana E., Ciucure C., Costine I.D. et Ionete R. (2020).Evaluation of honey in terms of quality and authenticity based on the general physicochemical pattern ,major sugar composition and $\delta^{13}\text{C}$ signature.*FoodControl*,109,106-919.

Gharbi M. (2011). Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire .Thèse de DoctoratVétérinaire.UniversitéClaude-Bernard-Lyon1, 234.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique etemploienthérapeutique.*Phytotherapie*,3(4),162–169.

Gheldof N., Wang H. et Engeseth N. (2002). Identification et quantification de composés

Antioxydants de miels provenant de diverses sources florales. *Journal de la chimie agricole et alimentaire*, 50,5870-5877.

Gheldof N., Wang, X.H., Engeseth, N.J. (2003). Buckwheat Honey Increases Serum Antioxydant Capacity in Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (5),1500–1505.

Gilliam M. et Prest D.B. (1987). Microbiology of feces of the larval honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 49, 70-75.

Gomes S., Luis G.D, Leandro L, Rodrigues P.et Estevinho L. (2010).Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of comercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicologie*, 48(2), 544-548.

Gomez –Caravaca A M., Gomez-Romero M., Arraezroman M., Segura-Carretero A. et Fernandez-Gutierrez A. (2006). Advances in analysis of phénolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.

Gonnet M. (1982). Le miel: composition, propriétés, conservation. *Edition Echauffour* Argentan Ornes 9-12.

Gonnet M. (1995). Préserver la qualité du miel. Edition *Vida Apicola*, (72), 50-55.

Guarch C.etLe Coze G. (2008). Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, 69.

Guerriat H. (2000).Être performant en Apiculture. Édition *Rucher du Tilleul*.416.

H

Hoyet C. (2005). Le miel : De la source à la thérapeutique. Thèse d'Etat en pharmacie. Faculté de Pharmacie de Nancy 1. France.

Huchet E., Couste I.J. et Guinot L. (1996). Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.France.16.

Humme I.R. et Feltin M. (2014) .Produire un miel de qualité quand on est apiculteur débutant. Syndicat des apiculteurs de Thann et Environ.

http://rucherecole68.thann.free.fr/Calendrier%20apicole/Produire_un_miel_de_qualite.pdf

I

ISO17025.(2005). Exigence générale concernant la compétence des laboratoires de mesure et d'essai. Cette norme a été révisée par ISO/IEC17025:2017.

K

Kerkvliet JD. (1996) .Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content .*Journal of Apicultural Research*,35,110-117

Khalil M., MotalibM., Anisuzzaman A., SathiZ., Hye M.et Shahjahan M.(2001).Analyse biochimique de différentes marques de miel unifloral miel disponible dans la région nord du Bangladesh.*Science*,1(6),385-388.

L

Lemineur T., Deby-Dupont G .et Preiser J.C. (2006). Biomarkers of oxidative stress in critically ill patients: what should be measured, when and how?. *National Center for Biotechnology Information*, 9, 704-710.

Lequet L. (2010) .Du Nectar au Miel de Qualité: Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'intention de l'Apiculteur Amateur .Thèse de Doctorat Vétérinaire .Université Claude-Bernard Lyon I, France, 46-121.

Louveaux J. (1959) .La Technologie Du Miel. Les Annales de l'Abeille, *Institut National De La Recherche Agronomique*, 2(4) ,343-354.

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

Louveaux J.(1985).Les abeilles et leur élevage .*Edition Opida*. 165-181.

M

Marcet M. (2017). La cicatrisation des brulures par le miel. Thèse de doctorat en pharmacies. Université de bordeaux college sciences de la sant UFR Des Sciences Pharmaceutiques, 75-98.

Meda A., Lamien C. E., Romito M., Millogo J. et Nacoulma O. G. (2005). Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radicals cavenging activity .*FoodChemistry*,91,571-577.

Merah m., bensaci bachagha m. et bouderhem a. (2010). Etude de l'effet antimicrobien de trois échenillons du miel naturel récoltes du territoire Algérien. *Annales des Sciences et Technologie*, 2, (2), 115-125.

Mohammed M., Siti Amrah S., Ibrahim K. et Siew G. (2013). Evaluation des proprietes physicochimiques et antioxydantes des miels malaisiens ,Monoforale. *Chemistry central journal*, 10.

Molan P.C.(2013). The role of honey in the management of wounds .*Journal of wound care*, 8(8), 415-417.

Moniruzzaman M., KhalilM I., Sulaiman S. A. et Gan S. H. (2013). Proprietes physicochimiques et antioxydantes des miels malaisiens produits par *Apis cerana*, *Apis dorsata*et *Apis mellifera* .*BMC Complementary and Alternative Medicine*,13 (1),43.

N

Naila A., Flint S.H., Sulaiman A., Ajit A. et weeds Z. (2018). Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food control*, 90, 152-165.

Nair S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université d'Oran.202.

Nicolay J. (2014). Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine. Thèse de Doctorat En Pharmacie. Faculté Des Sciences Pharmaceutiques Et Ingenierie De La Santé, Université Angres.208.

Norjihada I., Mohammed Rafiq A., Razauden M.Z. et Mahaneem M.(2021) . Comparaison du profil physicochimique, de la quantité de protéines et d'antioxydants entre le miel d'Apis et le Trigona Malisie. *Journal malaisien des sciences analytiques*, 25(2), 243 – 256.

O

Ouchemoukh S., Louaileche H. et Schweitzer P. (2007). Physicochemical characteristics and pollens pectrum of some Algerian honeys. *Foodcontrol*, 18(1),52- 58

P

Prost J.(2005). Apiculture, connaitre l'abeille, conduire le rucher ,7^{ème} édition ,J.B. Baillièrre Paris,689.

R

Rossant A. (2011). Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie .Université de limoges.85,132.

Sagdic O., Silici S. et Ekici L. (2013). Evaluation of the phenolic content, antiradical, and antimicrobial activity of different floral sources of honey .*International Journal of food*

properties,16,658-666.

S

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

Saxena S., Gautam S. et Sharma A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys .*FoodChemistry*,1(202-203) ,391-397.

Schweitzer P. (2005). Un miel étrange. *Revue du Syndicat National d'Apiculture, laboratoire analyses et d'écologie apicole*.(920).

Sharma B., Vaidya D., Kaushal M., et Pratap Singh S. (2020). Utilization of Honey for Functional Food Product Development. *Acta Scientific Nutritional Health*, 4(4),184-190.

SilvaL.R., Videira R., Monterio A.P., Valentao P.et Andrade P.B.(2009). Honey from Lusoregion (Portugal). Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microbiological Journal*,93(1),73-77.

Singleton V., Orthofer R. et Lamuela-Ravenots R. (1998). Analysis of total phenols, and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*,299,152-178.

T

Terrab A.F., Recamale S., Dolores Hernanz F.J. et Heredi A. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88,537-542.

Therond P.(2006). Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins ,DNA). *Annales pharmaceutiques françaises*,64(6), 383-389.

United States Standards For Grades Of Extracted Honey USDA.(1985).

Agricultural Marketing Service.

https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Extracted_Honey_Standard%5B1%5D.

V

Vanhanen L.P., Emmerz A . et Savage G.P.(2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *FoodChemistry*,128,236-240.

Y

Yahia Mahammed S. et Yahaia Mahammed W. (2015). Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla ,Djendel, Bathia , Bourached et Miliana. Mémoire pour l'obtention diplôme de Master Sciences et techniques des productions animales.Université Djilali Bounaama khemis Miliana.

Yaiche Achour H. et Khali M.(2014). Composition Physicochimique Des Miels Algériens. Détermination Des Eléments Traces Et Des Eléments Potentiellement Toxiques. *Afrique Science*, 10(2),127-136.

Z

Zerrouk H.S., Fallico B.G., Arena E.A., Gabriele F.B. et Larbi A.B. (2011). Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. *Jordan Journal of BiologicalSciences*,243-248.

