



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence ..... / .....

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

---

Présenté et soutenu par :  
**BADACHE Fadhila**

Le : lundi 25 juin 2018

# Analyse physico-chimiques et l'étude de l'activité antibactérienne de quelques variétés du miel seules et en combinaison avec les antibiotiques et leur activité anti-oxydante.

---

### Jury :

Mme. BOUDJEDJOU Laimia	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. ARRIGUE Soulef	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. BENAMOR Bilal	MAB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

# Remerciements

*En premier lieu, je remercie Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la foi et la sagesse et nous inclinons humblement devant sa bonté, lui qui nous a donné courage et santé pour achever ce travail*

*j'adresse un vif remerciement à mon promoteur à madame Boudjoujou. L Pour l'honneur qu'il m'a accordé en M' encadrant. Ce travail témoigne de son confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'il trouve ici l'expression de ma Haute considération et ma Profonde reconnaissance.*

*Je tien aussi à remercier tout le personnels du laboratoire sur tout madame Sarah et madame saliha pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesse.*

*Un grand merci à ma belle amie Chaima Banalia qui M'a fourni les déférentes variétés des miels*

*Mes remerciements s'adressent également à les membres de jurés pour avoir acceptés d'examiner notre travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribués à notre formation durant notre cycle d'étude.*

*Enfin Un grand merci à toute personne ayant contribué à L'accomplissement de ce modeste travail*

## Merci

# Dédicace

*Tout d'abord la notre **Dieu** seul le tout puissant qui nous a éclairé le chemin et nous a guidé pour terminer notre étude. Je dédie ce travail*

*À la mémoire de ma mère qui m'a rempli d'amour et de passion qui s'est sacrifié pour mon avenir qui attendait de voir ce jour ; mais elle m'as quittée pour un monde meilleur laissant un vide immense. Qui est été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A mon cher père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Pour mon frères didin ,et mes sœurs fati, Mima , Biba, Amel et maroi .*

*A mon deuxième père et mon cher professeur Brahim bouzinawi*

*A toutes mes amies et mes collègues de promotion 2016/2017 Spécialité Biologie et physiologie animal, sur tout mes belle amies Rahma et Asma .*

*A toutes mes amies et mes collègues de promotion 2018/2019 Spécialité Biotechnologie et valorisation des plantes.*

*A les belles filles de laboratoire 01 avec lesquels j'ai passé un agréable pratique J'adresse aussi mes dédicaces à mes amis (es) avec qui j'ai passé des moments agréables, en particulier à Tahani, khawla ; Sana..., et à mon ange Khadija messaoudi qui n'ont cessé de m'encourager, et me l'aidée*

*À moi et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire. Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et soutenu. Et Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer..*

---

## Sommaire

### Remerciement

### Dédicace

### Liste des tableaux

### Liste des figures

### Liste des Abréviations

Introduction .....	1
--------------------	---

## Première partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre 01 : Généralité sur le Miel

1.1. Définition du miel.....	2
1.2. Classification des miels .....	2
1.2.1 Miel de nectar de fleurs.....	2
1.2.2 Miel du miellat.....	2
1.3. La formation de miel .....	3
1.4. Types de miel.....	3
1.4.1. Origine florale.....	4
1.4.1.1. Miel mono-floraux.....	4
1.4.1.2. Miel poly-floraux.....	4
1.4.2. Origine géographique.....	4
1.5. Composition de miel.....	4
1.5.1. L'eau .....	5
1.5.2. Glucides .....	5
1.5.3. Acides organiques .....	6
1.5.4. Enzymes.....	6
1.5.5. Protéines .....	6
1.5.6. Sels minéraux et oligo-éléments .....	6
1.5.7. Substances aromatiques .....	7
1.5.. Composés phénoliques.....	7

### Chapitre 02: Propriétés de Miel

2.1. Propriétés physico-chimique .....	8
--	---

2.1.1. Densité et viscosité .....	8
2.1.2. Acidité et pH .....	8
2.1.3. Abaissement du point de congélation .....	9
2.1.4. Conductivité électrique .....	9
2.1.5. Indice de réfraction et humidité .....	9
2.2. propriété organoleptiques .....	9
2.2.1. Pouvoir rotatoire : .....	9
2.2.2. Couleur.....	10
2.2.3. Odeur et goût.....	10
2.2.4. Cristallisation .....	10
2.3. Propriété nutritionnelle .....	11
2.4. Propriétés biologiques .....	11
2.4.1. Propriété antioxydant .....	11
2.4.2. Propriétés antibactériennes .....	12
2.4.3. Propriété anti-inflammatoire .....	12
2.4.4. Propriété anticancéreuse .....	12

## **Deuxième partie : Partie expérimentale**

### **Chapitre 03 : Matériel et Méthodes**

3.1. Echantillon de miel .....	14
3.2. Analyse physico-chimiques .....	15
3.2.1. Teneur en eau « Humidité ».....	16
3.2.2- pH .....	17
3.2.3- Degrés de Brix .....	17
3.2.3- Conductivité électrique.....	17
3.2.4- Protéines .....	18
3.2.5. Couleur .....	18
3.3. Activité antioxydante.....	18
3.3.1. Définition de la radicale DPPH.....	18
3.3.2. Test de DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl) .....	19
3.4. Activité antibactérien.....	19
3.4.1. Les souches bactériennes .....	19
3.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques « Antibiogrammes» .....	20
3.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de miel.....	21
3.4.4. Evaluation de l'effet antibactérien de l'association « Miel / antibiotiques ».....	24

**Chapitre 04 : Résultats et Discussion**

4.1. Paramètres physico-chimiques .....	26
4.1.1. La teneur en eau (humidité) .....	26
4.1.2. Le PH .....	28
4.1.3. La matière sèche (Degré Brix) .....	29
4.1.4. La conductivité électrique .....	30
4.1.5. La Couleur .....	31
4.1.6. Protéines.....	32
4.2. Evaluation de l'activité antioxydante (Pouvoir anti-radicalaire DPPH) .....	33
4.3. L'activité antibactérienne .....	35
4.3.1.L'antibiogramme.....	35
4.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne du miel.....	36
4.2.3. L'effet du test de combinaison «Miel /antibiotique » .....	39
<b>Conclusion</b> .....	45
<b>Références bibliographiques</b> .....	47
<b>Annexes</b> .....	60
<b>Résumés</b>	

Liste des Tableaux

<b>Tableau 2.</b> Présentation des échantillons des miels étudiés .....	14
<b>Tableau 3.</b> Paramètres physico chimiques analysés.....	15
<b>Tableau 4.</b> Les souches bactériennes .....	20
<b>Tableau 5.</b> Echelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce et <i>al.</i> , 2003).....	23
<b>Tableau 6.</b> Paramètres physico-chimiques des huit échantillons de miel étudiés.....	26
<b>Tableau 7.</b> Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydant des miels analysés .....	33
<b>Tableau 8.</b> Résultats de l'antibiogramme .....	35
<b>Tableau 9.</b> Résultats de test d'activité antibactérienne de miel sur les trois souches bactériennes .....	37
<b>Tableau 10.</b> Effet inhibiteur des différents types du miel sur la croissance des 3 souches bactériennes .....	38
<b>Tableau 11.</b> Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique.....	40
<b>Tableau 12.</b> Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique sur <i>E.Coli</i> .....	42
<b>Tableau 13.</b> Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique sur <i>S.aureus</i> .....	43

Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Composition moyenne d'une miel toutes fleurs (Brunea., 2011).....	5
<b>Figure 2.</b> Echantillons des miels.....	15
<b>Figure 3.</b> Les souches bactériennes .....	20
<b>Figure 4 .</b> Les étapes de la culture bactériennes .....	21
<b>Figure 5.</b> Préparation de la suspension bactérienne .....	22
<b>Figure 6.</b> L'ensemencement de la suspension bactérienne .....	23
<b>Figure 7.</b> Application des disques ATBs imprégnés de miel sur milieu gélose MH .....	24
<b>Figure 8.</b> La teneur en humidité de chaque type de miel.....	27
<b>Figure 9.</b> Le pH des échantillons de miel .....	28
<b>Figure 10.</b> La teneur en degré de Brix .....	29
<b>Figure 11.</b> Conductivité électrique des échantillons de miel.....	30
<b>Figure 12.</b> La valeur du couleur de chaque échantillon de miel.....	31
<b>Figure 13.</b> Les teneurs en protéine de chaque type de miel .....	32
<b>Figure 14.</b> Pouvoir anti-radicalaire vis à vis DPPH des miel étudiés.....	34

Liste des Abréviations

- **AA%**: activité antioxydant
- **Abs**: absorbances
- **ATBs**: antibiotiques
- **Ad** : effet additive
- **AML**: Amoxicilline
- **At** : effet antagoniste
- **ATCC**: American Type Culture Collection
- **AUG**: Augmentin
- **CE**: conductivité électrique
- **CN**: Céfaloquine
- **CZ**: Céfazoline
- **DPPH**: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- **DS** : degré de sensibilité
- **E.Coli**: *Echerichia coli*
- **EBSA**: Equivalons Serum albumin bovin
- **EC** : effet de la combinaison
- **EF**: effet
- **GN**: gélose nutritive
- **h** : heures
- **HMF** : hydroxy- methyl -furfuraldehyde
- **m/v**: masse/volume
- **M** : Miel
- **MH**: Milieu Muller Hinton
- **min** : minute
- **mM** : Milli molaire
- **MOMP** : la perméabilisations de la membrane mitochondriale
- **NaCl**: Chlorure de Sodium
- **nm**: nanomètre
- **C°**: degré Celsius

- ***P.aerogénosa***: *Pseudomonas aerogénosa*
- **pH**: potentiel d'hydrogene
- ***S.aureus***: *Staphylococcus aureus*
- **Sn** :effet synergique
- **µl** : microlitre
- **µs /cm** : microsiemens / centimètr

# **Introduction Générale**

## Introduction

Le miel, cette substance sucrée offerte à la nature par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera*, a accompagné l'homme depuis les temps les plus reculés. C'est ce qui a poussé Albert Einstein à dire : « Si l'abeille venait à disparaître, l'homme n'aurait plus que quelques années à vivre ».

L'importance des abeilles ne réside pas seulement dans la fabrication des produits précieux (miel, cire, et pollen ...) mais aussi considéré comme élément essentiel au maintien d'une biodiversité végétale très importante pour l'homme.

Le miel est le produit noble de la ruche le plus utilisé par l'homme, grâce à ces propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. Le Saint Coran et le Hadith du prophète présentent le miel en tant que guérisseur des maladies (Sourate «El-Nahl» verset 68-69) et comme a dit le prophète (bénédiction et paix sur lui) : "Le miel est un remède pour chaque maladie et le Coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le Coran et le miel" (RAPPORTE PAR L'IMAM BUKHARI).

Pour une meilleure connaissance des activités biologiques, ce travail est mené en vue d'étudier la qualité physico-chimique et les activités antioxydants et antibactériennes de 8 échantillons de miels naturels de provenances différentes. C'est pourquoi, ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- Dans la première partie, les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du miel, ses différents types, sa composition biochimique et ses propriétés physico-chimiques, organoleptiques, notionnelle et biologiques.
- Dans la deuxième partie, le matériel d'étude et les méthodes analytiques utilisées pour les analyses physico-chimiques, l'activité antioxydante (pouvoir anti-radicalaire) ainsi que l'activité antibactérienne des miels seules et en combinaison avec antibiotiques sont décrits.
- La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats obtenus et leur discussion.
- Ce manuscrit est clôturé par une conclusion et les perspectives.

# **Partie**

# **Bibliographique**

# **Chapitre 01:**

## **Généralités sur le miel**

## 1.1. Définition du miel

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles *Apis mellifera* Apidae, à partir du nectar des fleurs ou des exsudats d'arbres et des plantes donnant des miels de nectar ou de miellat respectivement (Liu et *al.*, 2013). Cette denrée peut-être fluide, épaisse ou cristallisée » (Blanc, 2010).

## 1.2. Classification des miels

Selon Sanz et *al.*(2005), le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou du miellat recueilli sur la plantes .donc d'après leur origine botanique les miels peuvent être classifiés en :

### 1.2.1 Miel de nectar de fleurs

Le nectar, qui est en générale la source principale de miel, est le liquide sucré sécrété par les glandes dites nectarifères, présentes sur de nombreuses plantes. Les nectaires qui abritent ces glandes sont situés le plus souvent dans les fleurs, mais peuvent aussi se trouver à la base de certaines feuilles (Marchenay et Berard, 2007).

Les nectaires produisent le nectar à partir de la sève brute ou élaborée afin d'attirer les insectes pollinisateurs destinés à provoquer la fécondation de la fleur (Bruneau et Gharb,2011). Le nectar est une solution aqueuse et acide dont la composition varie en fonction de l'espèce florale et des conditions climatiques. Elle contient entre 40 et 70 % d'eau, des sucres (qui représentent entre 90 et 99 % de la matière sèche) ainsi que des traces d'acides aminés, de minéraux, d'hormones végétales, de pigments et de vitamines (Lequet , 2010).

### 1.2.2 Miel du miellat

Pour certains miels (le miel de sapin par exemple) la principale source sucrée est le miellat. Il s'agit des excréments d'insectes suceurs parasites des végétaux (pucerons, cochenilles, cicadelles) qui se nourrissent de sève élaborée. Cette sève est digérée puis excrétée par les parasites sous forme de gouttelettes sirupeuses récoltées par les butineuses (Gharbi , 2011).

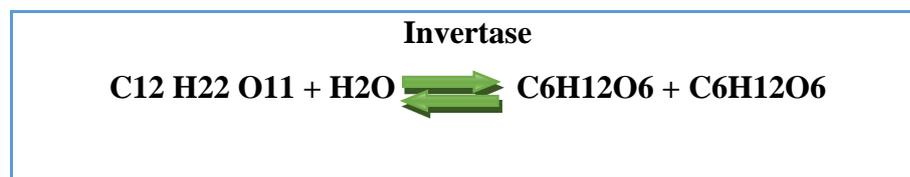
Il est difficile d'observer les abeilles effectuer ce type de butinage. Il a été montré qu'en présence d'une grande quantité de nectar, elles délaissent le miellat. Cependant, lorsque les

conditions climatiques défavorables, le miellat peut représenter une source nutritive intéressante pour l'abeille (Clément , 2006).

La composition du miellat est plus proche de celle de la sève végétale que celle du nectar : il est plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux. On y trouve également plus de sucres complexes (qui ont été synthétisés dans le tube digestif des insectes suceurs) tels que le mélizitose et l'erlose (Bruneau , 2011).

### 1.3. La formation de miel

D'après Ouchemoukh (2012), le miel est produit selon le processus suivant : L'abeille butineuse aspire le nectar des fleurs ou le miellat qu'elle emmagasine dans son jabot avec sa salive, ce qui le permet de s'enrichir en enzymes. L'élaboration du miel commence dans le jabot de la butineuse. En effet, une enzyme, l'invertase, est sécrétée dans le jabot de l'abeille s'ajoute au nectar, ce qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et en fructose selon la réaction chimique suivante :



Une fois arrivée à la ruche, la butineuse transmet le nectar ingéré aux ouvrières, qui le régurgitent encore puis le passent à d'autres abeilles et ainsi de suite (phénomène de trophallaxie). La teneur en eau du liquide sucré s'abaisse progressivement jusqu'à atteindre environ 18 % et s'enrichit en même temps en sucs gastriques et en substances salivaires. Il est ensuite déposé dans des alvéoles qui seront operculées par une couche de cire afin d'assurer sa conservation (Alvarez, 2010 ; Hoyet, 2005).

### 1.4. Types de miel

Il existe plusieurs centaines de variétés de miel, chacun de ces miels provenant d'une source florale distincte ou issus d'un traitement différent.

### 1.4.1. Origine florale

Le miel peut avoir une origine florale mais aussi animale. Par exemple, la présence de mélézitose est caractéristique du miellat, absente chez les miels de fleurs (Blanc, 2010).

La majorité des miels proviennent d'une flore bien diversifiée. Il est courant que les abeilles visitent à la fois une dizaine ou une vingtaine d'espèces végétales fleurissant en même temps dans leur secteur de butinage (Emmanuelle et *al.*, 1996).

#### 1.4.1.1 Miels mono-floraux

Les miels mono-floraux sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale et cela nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. Par exemple ; le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (Rossant, 2011).

#### 1.4.1.2 Miels poly-floraux

Ces miels sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent leur origine géographique. Celle-ci indique soit l'aire de production) région, département, massif (Rossant, 2011).

### 1.4.2. Origine géographique

Certains miels poly-floraux ont acquis une réputation particulière qui est liée à leur origine géographique, qu'il s'agisse d'une petite région, d'une province d'un continent. Par contre, il n'est pas impossible qu'une origine florale soit associée avec une région (Emmanuelle et *al.*, 1996).

## 1.5. Composition de miel

La composition chimique du miel diffère selon plusieurs facteurs dont l'origine florale et/ou Géographique de ce miel (**figure 01**).

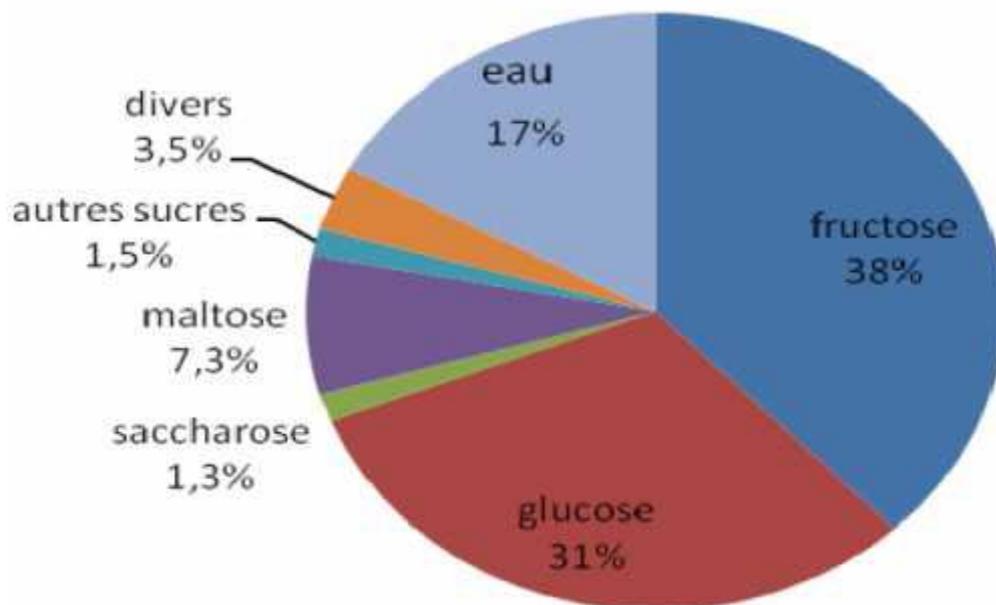


Figure 1. Composition moyenne d'un miel toutes fleurs (Brunea, 2011)

### 1.5.1. L'eau

La teneur en eau est l'une des caractéristiques la plus importante des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique, et dans certaine mesure sa cristallisation (Terrab et *al.*, 2002). Le miel est operculé par les abeilles lorsque sa teneur en eau atteint en moyenne 17 à 18% ( Bogdanov et *al.*, 2005).

### 1.5.2. Glucides

Les sucres représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. Chaque miel susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont des mono, di, tri, ou polysaccharides représentaient les 80% du poids total de miel. Deux d'entre eux ; le glucose et le fructose, dominant nettement et représentent près de 80 % (Gleiter et *al.*, 2006). Les proportions en glucose et fructose ne sont jamais équilibrées, (Miriam et *al.*, 2005).

D'autres sucres tels que le maltose 7,2%, le saccharose 1,5% et quelque oligosaccharide 4,2% sont présents dans le miel (Shin et Ustinol, 2005).

### 1.5.3. Acides organiques

Une vingtaine d'acides organiques sous forme libre ou combinée sont présents dans le miel tels que les acides acétique, benzoïque, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique (Bonté et Désomulière, 2013).

L'acide gluconique présente 70 à 90 % de la teneur du miel en acides organiques, il est issu du D-glucose transformé par la glucose oxydase d'où la forte acidité du miel (Moreira et *al.*, 2007 ; Moniruzzaman et *al.*, 2013).

### 1.5.4. Enzymes

Le miel contient plusieurs enzymes dont la présence est à rattacher à l'origine double du miel : végétale et animale. On sait que le nectar contient dès sa récolte des enzymes qui agissent sur les sucres ; les sécrétions de l'abeille viennent y ajouter les enzymes des glandes pharyngiennes. Les principaux enzymes des miels sont : l'invertase ( $\alpha$ -1,4 glucosidase), l'amylase ( $\alpha$  amylase ; diastase), glucose oxydase, catalase et phosphatase. Elle proviennent principalement des abeilles ; l'invertase et l'amylase sont importantes pour l'appréciation du miel (Serrano et *al.*, 2007).

### 1.2.7.5. Protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%). Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel. La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/ kg (Meda et *al.*, 2005).

### 1.5.6. Sels minéraux et oligo-éléments

Les miels de fleurs contiennent 0.1 à 0.35 g de sels minéraux et d'oligo-éléments par 100 g de miel, le miel de châtaignier et les miels de miellat avec plus de 1g/100g. Sels minéraux et oligo-éléments du miel est indiqués dans le tableau :

Tableau .Sels minéraux et oligo-élément du miels (Mores et *al.*, 1980 )

Les constituants Minéraux	Quantité en mg/kg	Les constituants minéraux	Quantité en mg/kg
Potassium	200-1500	Manganèse	0.2-10
Plomb	<0.02-0.8	Cadmium	<0.005-0.15
Sodium	16-170	Chrome	0.1-0.3
Calcium	40-300	Cobalt	0.01-0.5
Magnésium	7-130	Nickel	0.3-1.3
Fer	0.3-40	Aluminium	60
Zinc	0.5-20	Cuivre	0.2-6.0

### 1.5.7. Substances aromatiques

Les substances aromatiques sont, comme leur nom l'indique, à l'origine de l'arôme du miel. Seules quelques-unes ont été identifiées, notamment l'anthranilate de méthyle, le diacétyl, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone et l'isobutyraldéhyde. Depuis quelques années, plusieurs auteurs s'efforcent de trouver des marqueurs de l'origine florale des miels. Certains pensent que les substances aromatiques sont de bons candidats. (Sesta et *al.*, 2008)

### 1.5.8. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont présents dans le miel en faibles quantités. Leur principale origine est le nectar et les sécrétions végétales (Al-Mamary et *al.*, 2002 ; Bogdanov et *al.*, 2004). Dans le miel, la plupart des composés phénoliques sont sous forme de flavonoïdes, les plus répandus sont : l'apigénine, la pinocembrine et la quercétine. Il existe aussi des acides phénoliques tels que les acides caféique, ferrulique, coumarique et benzoïque.

Généralement, les miels les plus foncés contiennent des quantités en polyphénols supérieures aux miels plus clairs, ainsi qu'une plus grande capacité antioxydant (Canadanovic-Brunet, 2014).

# **Chapitre 02 :**

# **Propriétés de Miel**

## 2.1. Propriétés physico-chimique

### 2.1.1. Densité et viscosité

Les deux propriétés, densité et viscosité, dépendent fortement de la teneur en eau de la température et à moindre degré de la composition chimique du miel (Gidamis et *al.*, 2004).

La densité varie entre 1,39 à 1,44 à 20 °C (Al-khalifa et Al-Arifi, 1999 ; Jean-Prost et Médori, 2005). D'après Henni (1997), la densité des miels algériens varie entre 1,4221 et 1,4328 cité par (Benrahal,1997).

La viscosité est l'une des caractéristiques physiques la plus significative, car elle affecte la qualité du produit et la conception des équipements de traitement. Elle est influencée par la température, l'humidité et la présence des sucres ( Recondo et *al.*, 2006).

La majorité des miels ont une viscosité normale, d'autres possèdent une viscosité anormale ; ils sont thixotropes. Cette propriété est due à la présence de protéines particulières (miel de Callune) (Gonnet, 1982 ; Ozcan et *al.*, 2006 ; Yanniotis et *al.*, 2006).

### 2.1.2. Acidité et pH

Tous les miels sont acides. En effet, leur pH varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux du miellat. Cette acidité est due principalement à la teneur du miel en acide gluconique (Cavia et *al.*, 2007).

Le pH influence la stabilité du miel et ses conditions de conservation. Les miels à pH bas accélère le processus de la formation de l'HMF, ce qui il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation (Khalil et *al.* , 2012).

L'acidité du miel est due à la présence des acides organiques ainsi que d'ions inorganiques (Terrab et *al.*, 2002). Cette acidité contribue à la saveur du miel et aux activités antibactériennes et antioxydantes. Sa variation peut-être due aux types floraux des plantes (Cavia et *al.*, 2007).

### 2.1.3. Abaissement du point de congélation

L'abaissement du point de congélation dépend de la proportion de glucose et de lévulose ainsi que de la teneur en saccharose et en dextrines sur 10 échantillons de miel, ils ont obtenu un abaissement de 1.42 °C à 1.53 °C en solution à 15% et 2,75 °C à 3,15 °C en solution à 25% (Bogdanov et al., 2004).

### 2.1.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre efficace pour la distinction entre les miels floraux et les miels de miellats. Elle dépend de la teneur du miel en minéraux et en acidité (la présence des acides organiques et des protéines) (Yucel et Sultanoglu, 2013). En général, la conductivité électrique du miel est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée (Acquarone et al., 2007). Ce paramètre est en rapport avec la couleur du miel. Selon Belay et al. (2013), les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs (Alqarni et al., 2012).

### 2.1.5. Indice de réfraction et humidité

L'indice de réfraction permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau. Il est d'autant plus élevé que la teneur du miel en eau est faible. Il oscille entre 1,47 et 1,50 à une température de 20 °C. La teneur en eau d'un miel provient essentiellement de l'humidité du nectar mais elle peut être aussi influencée par de nombreux autres facteurs parmi lesquels: les conditions climatiques lors de la récolte et les conditions de stockage (Lazarević et al., 2012 ; Belay et al., 2013).

## 2.2. Propriété organoleptiques

### 2.2.1. Pouvoir rotatoire :

Le pouvoir rotatoire est un des paramètres qui permet la distinction entre les miels de miellat et les miels de nectar, en se basant sur la caractéristique optique des sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. En effet, la majorité des miels font tourner à gauche la lumière polarisée (miel de nectar), mais il existe des miels dextrogyres (miel de miellat), qui par conséquent font tourner le plan de polarisation à droite (Bogdanov et al., 2004).

### 2.2.2. Couleur

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement (Blanc, 2010). La couleur du miel est un autre paramètre de qualité. Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs (Alvarez, 2010), Les diverses couleur du miel sont généralement toutes des nuances du jaune brun. Cependant, il existe des miels de couleur moins commun tel que les miels grisâtres (tournesol) et les miels verdâtres (miellat) (Mouhoubi, 2007). En général, la couleur foncée du miel indique un taux élevé en polyphénols totaux et par conséquent une forte capacité antioxydante. D'autre part, Lazaridou et *al.* (2004) ont constaté que la couleur du miel dépend de sa teneur en HMF, en minéraux et en pollens.

### 2.2.3. Odeur et goût

L'odeur du miel est variable (Blanc, 2010). L'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les tournesols, par exemple, donne un miel jaune d'or ; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate ( Bradbear, 2005).

### 2.2.4. Cristallisation

La cristallisation est un phénomène physique, naturel et non une altération. Cependant, dans la ruche à 36 C°, le miel est liquide mais une fois récolté il peut se cristalliser (Ouchemoukh et *al.*, 2012).

La vitesse de cristallisation dépend de la température de conservation et de la nature des sucres ainsi que leur solubilité dans l'eau (Gonnet, 1982).

Selon Jean-Prost et Médori (2005), les miels riches en glucose cristallisent beaucoup plus vite que ceux riches en fructose. La pasteurisation permet d'éviter la fermentation et la cristallisation du miel. En effet, l'application de la température de 78 C° pendant 5 à 6 minutes détruit les levures et entraîne la fonte des microcristaux primaires de glucose (Ouchemoukh et *al.*, 2012).

### 2.3. Propriété nutritionnelle

Le miel est un aliment très énergétique (310 calories/100g) car il est très riche en glucides simples, ce qui le rend directement assimilable par l'organisme (il ne passe pas par un processus complexe de digestion). D'une manière générale, le miel est un bon complément pour lutter contre la fatigue quelqu'un soit son origine : physique, intellectuelle, postopératoire... (Rossant, 2011). Le miel favorise la croissance des os en améliorant la fixation du calcium sur celle-ci notamment chez les jeunes enfants mais aussi il intervient dans la prévention ou encore le traitement de l'anémie (Irlande, 2010).

### 2.4. Propriétés biologiques

Le miel est considéré comme un aliment et comme un médicament en raison de ses vertus curatives. Par sa composition très variée (sucres, vitamines, polyphénols...), il possède plusieurs propriétés justifiant ainsi ses applications innombrables.

#### 2.4.1. Propriété antioxydante

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres (molécules hautement réactives) dans l'organisme, qui sont produits suite à un stress oxydant (Ouchemoukh, 2012).

En général, l'activité anti-oxydante du miel résulte de la combinaison d'une large gamme d'activité de ces composés. Elle est variable d'un miel à l'autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants. En effet, le miel est connu pour être riche en antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, notamment la glucose-oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les acides phénoliques et les flavonoïdes (Beretta *et al.*, 2005 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2010). Les caractéristiques du miel nous permettent de comprendre mieux leurs propriétés anti-oxydantes. Par conséquent, il est utilisé comme un aliment naturel et une source d'antioxydants dans la nutrition humaine. Le potentiel antioxydant d'un produit ne dépend pas seulement de son contenu en composés phénoliques, mais aussi d'autres composés chimiques (Bouyahya, 2016)

### 2.4.2. Propriétés antibactériennes

L'activité antibactérienne du miel varie d'un miel à un autre selon la source du nectar et de miellat et de la teneur en différents antioxydants (Al-Mamary et *al.*, 2002). Les flavonoïdes et les acides phénoliques du miel possèdent des propriétés antibactériennes importantes (Blanc, 2010).

Les facteurs physiques : l'osmolarité, la viscosité et l'acidité élevée du miel contribuent également à l'inhibition de nombreuses espèces bactériennes (Basualdo et *al.*, 2007).

Le miel du fait de son osmolarité conséquente à sa forte teneur en sucre, crée un appauvrissement de l'eau disponible pour les germes et bactéries mettant en péril leur vie (Nathalie, 2012). Par sa viscosité, le miel forme une barrière protectrice sur les plaies qui prévient ainsi la formation du biofilm (agrégats complexes de nombreuses espèces bactériennes) (Nathalie, 2012).

### 2.4.3. Propriété anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaires à des stimuli nuisibles, tels que les radicaux libres. Elle peut devenir délétère et empêche la guérison lorsqu'elle est excessive et prolongée, ce qui peut provoquer le cancer. En outre, des études ont montré que le miel peut jouer un rôle dans l'atténuation de l'inflammation par divers mécanismes : il agit en inactivant le facteur de transcription NF-kB qui régule l'expression de plusieurs gènes qui codifient des molécules pro-inflammatoires comme l'enzyme cyclo-oxygénase-2 (COX-2), des facteurs de croissance et des cytokines (Hussein et *al.*, 2013).

Le miel peut aussi, par le biais de sa propriété anti-oxydante, réduire l'inflammation en éliminant les radicaux libres des tissus enflammés et en évitant leurs effets néfastes (Benhanifia et *al.*, 2011).

### 2.4.4. Propriété anticancéreuse

Le miel contient des teneurs élevées en composés phénoliques, principales acteurs de son activité anti-oxydante. Cette dernière peut avoir un potentiel préventif dans le développement du cancer. Parmi les mécanismes proposés par lesquels le miel peut exercer ses effets anticancéreux, il y a celui de l'induction de l'apoptose (Erejuwa et *al.*, 2014).

L'apoptose, mort cellulaire programmée, est un processus par lequel des cellules endommagées déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. Toutefois, plusieurs voies apoptotiques sont déréglementées dans les cellules cancéreuses, ce qui favorise leur survie et leur immortalité (O'Connor, 2011). Une de ces voies altérée est celle qui implique la perméabilisations de la membrane mitochondriale (MOMP), qui est réactivée par le miel dans diverses lignées cellulaires cancéreuses, par la réduction du potentiel membranaire mitochondriale, ce qui conduit à une fuite de protéines pro-apoptotiques telles que le cytochrome C et entraînant ainsi la mort cellulaire (Chipuk et *al.*, 2006 ; Fauzi et *al.*, 2011 ).

# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre 03 :**

## **Matériel & Méthodes**

L'objectif principal de cette partie est l'identification et l'évaluation de la qualité des miels dans différentes régions de l'Algérie afin de vérifier si les miels sont :

- Conformes aux normes du *Codex Alimentarius*.
- Doués d'activité antibactérienne et antioxydant.
- Evaluer l'effet de l'association « Miel/antibiotique » sur les souches bactériennes étudiées.

### 3.1. Echantillon de miel

Notre étude a porté sur Huit échantillons de miel provenant de différentes régions d'Algérie : Boumerdes ; Tizi-Ouzou, Tiaret ; Tamenghasset et Biskra (Tolga), collectés en 2017. Les échantillons ont été conditionnés dans des bocaux en verre hermétique et conservés à 4°C jusqu'à l'analyse.

Le tableau suivant donne le codage utilisé pour ces différents échantillons, leur provenance géographique, leur Origine botanique, leur couleur ainsi que leur texture.

Tableau 1. Présentation des échantillons des miels étudiés

Échantillon	Provenance géographique	Origine Botanique	Couleur	Texture
Miel 1	Boumerdes	Eucalyptus	Maroon Clair	Semi Liquid
Miel 2	Tiaret	Multi-Fleurs	Marron clair	Semi cristallisé
Miel 3	Boumerdes	Euphorbe	Maroon Clair	Semi cristallisé
Miel 4	Tizi-Ouzou	Motarde-sauvage	Marron clair	Cristallisé
Miel 5	Boumerdes	Jujubier de Nord	Marron clair	Semi Liquid
Miel 6	Biskra( Tolga )	Datte	Marron foncé	Semi Liquid
Miel 7	Boumerdes	Agrumes	Maroon Clair	Semi Liquid
Miel 8	Tamenghasset	Jujubier de sud	Marron clair	Semi Liquid

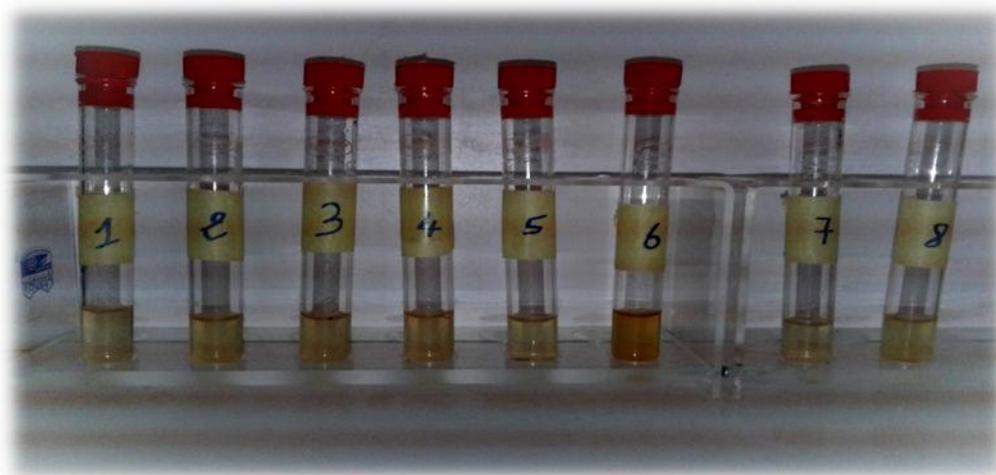


Figure 2. Echantillons des miels

### 3.2. Analyse physico-chimiques

Six paramètres physico-chimiques sont analysés dont certains d'entre eux sont réalisés selon les recommandations de la Commission Internationale du miel (Bogdanov et *al.*, 1997) : humidité et brix, pH, conductivité électrique, Protéines et la coloration. Ces paramètres sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Paramètres physico chimiques analysés

Paramètres	Objectif
Teneur en eau” humidité “	*Détermine la qualité de produit, les conditions de la conservation, son poids et sa cristallisation. *Elle conditionne la durée de conservation
pH	*Connaitre l’origine de miel : -pour les miels de miellats, il situe entre 4,5 et 5,5. -pour les miels de nectars, il situe entre 3,5 et 4,5.
Degrés de Brix	Déterminer la teneur en matière sèche (les sucres totaux).
Conductivité électrique	Permet la détermination de l’origine botanique de miel.

<b>Coloration</b>	<p>*Déterminer l'origine florale de Miel et leur composition (minéral, pollen, pigments...)</p> <p>*joue un rôle essentiel dans la détermination de la capacité antioxydant du miel (Un miel foncé indique une forte activité antioxydant)</p>
<b>Teneur en protéines</b>	<p>*Déterminer la source des protéines qui proviennent de grains de pollens, du nectar et de sécrétions de l'abeille ouvrière, de l'origine florale du miel et de la force de colonies d'abeilles.</p>

### 3.2.1. Teneur en eau « Humidité »

La teneur en eau du miel est le critère de qualité qui détermine la capacité du miel à rester stable et influe sur la fermentation du miel pendant le stockage, cette dernière est mesurée avec le réfractomètre RHB-90 ATC (ATC = compensateur de température ambiante, sans cela et en fonction de la température du lieu où vous réalisez votre analyse, vous devrez utiliser une table de correspondance fournie avec votre réfractomètre afin de compenser les données analysées).

L'échantillon du miel à analyser doit être homogénéisé et parfaitement liquide. Si le produit se trouve cristallisé, il est nécessaire de le refondre dans un bain marie à moins de 50°C.

Après refroidissement à une température ambiante, on dépose un peu de miel au centre de la zone d'analyse du réfractomètre. Nous fermons délicatement le capot, ainsi le miel va se déployer sur toute la zone d'analyse, il reste à attendre quelques secondes afin que le miel se mette à la température du réfractomètre, puis regardez par la lentille et lisez la ligne limite de réfraction où le blanc et le bleu se rejoignent.

Ce type de réfractomètre indique trois valeurs :

- Le degré Baumé indique la concentration en sucre

- Le degré Brix indique la quantité de sucre (en g) contenue dans 100 g de miel refroidi à 20 C°.

- Le pourcentage d'eau indique la quantité d'eau contenu dans le miel

-L'échantillon de miel a un pourcentage d'eau de moins de 18%, il se conservera sans problème. Les calculs sont effectués en se référant à la table de CHATAWAY (Annexe 01).

### 3.2.2- pH

C'est la mesure du potentiel d'hydrogène d'une solution de miel a 10%(m/v) à l'aide d'un pH mètre. Après avoir dissoudre 2,5 g de miel dans 25 ml d'eau distillée, la valeur du pH de la solution est déterminée après l'immersion de la cellule du pH-mètre dans celle-ci ; La valeur de PH s'affiche directement sur l'écran de pH-mètre lorsqu'on plonge l'électrode dans la solution de miel. Elle se varie entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectars et entre 4,5 et 5,5 pour les miels de miellats.

### 3.2.3- Degrés de Brix

La mesure des degrés BRIX est une application bien connue dans le secteur agroalimentaire.

À proprement parler, la mesure des degrés BRIX est la détermination du taux de saccharose pur dans l'eau (1 degré Brix = 1 g de saccharose dans 100 g de solution), cette dernière est mesurée avec Réfractomètre numérique à main PAL<PAL-2, 3>

On applique le miel sur la surface du prisme avec une cuillère en plastique. Si des bulles d'air sont présentes, remuez avec une cuillère en plastique pour les expulser, puis appuyez sur le bouton "DEPART". La valeur du Brix (%) est affichée en 3 secondes

Le Brix d'échantillons de miel est variées entre 70 à 80 %.

### 3.2.3- Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la capacité d'un échantillon de miel à transmettre un flux électrique. La conductivité électrique est la mesure de la capacité d'un échantillon de miel à transmettre un flux électrique. Elle est déterminée par une analyse conductimétrique à 20 C° d'une solution aqueuse de miel à 20 % de la matière sèche.

Une quantité de 1g de miel de chaque échantillon est dissoute dans 5 ml d'eau distillée puis la mesure est faite par immersion de la cellule du conductimètre dans la solution du miel.

### **3.2.4- Protéines**

Selon Azeredo *et al.* (2003) , après avoir modifié le protocole de la méthode de Bradford (1976) les protéines sont dosées comme suit :

Un volume de 0,1 ml (100 µl) de la solution du miel (50 %) est additionné à 5 ml du réactif Bradford. Après agitation et une durée de temps d'incubation de 2 min, l'absorbance est lue par spectrophotomètre à 595 nm. La courbe d'étalonnage est réalisée avec le sérum albumine bovine et les résultats sont déterminés en se référant à celle-ci. (Annexe 02).

### **3.2.5. Couleur**

D'après Bath et Singh (1999), la couleur des miels est déterminée selon le protocole suivant : après homogénéisation d'une solution contenant 1g de miel dissout dans 4ml d'eau distillée, la densité optique est lue à 450 nm.

## **3.3. Activité antioxydante**

De nombreux auteurs ont démontré que le miel est une source d'antioxydants naturels, qui sont efficaces pour réduire le risque de maladie cardiaque, cancer, système immunitaire et les différents processus inflammatoires (Gheldof *et al.*, 2002).

### **3.3.1. Définition de la radicale DPPH**

Le DPPH est un radical à base d'azote stable qui est largement utilisé pour tester le piègeur de radicaux libres et la capacité de diverses substances. Une forte activité de piégeage de DPPH confère des niveaux élevés d'activité antioxydant de l'échantillon (Koula, 2014).

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la Simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008).

### 3.3.2. Test de DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl)

Le DPPH (2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl) est caractérisé par une couleur violette, en présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH\*est réduit en sa forme non radicalaire de couleur jaune pale (forme d'hydrazine) .Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction du DPPH (Lee et *al.*, 1986).

L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benariba et *al.* (2013) avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100ml du méthanol.

Un volume de 100µl de la solution de miel (2g/1ml) est ajouté à 900 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,1 mM) fraîchement préparée. Le contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µl du méthanol avec 900µl d'une solution méthanolique de DPPH. Les tubes sont incubés incubation pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm.

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est exprimée en pourcentage et donnée par la formule suivante :

$$AA\% = \frac{Abs_{517\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon } 517}}{Abs_{517\text{ contrôle}}} \times 100$$

## 3.4. Activité antibactérien

### 3.4.1. Les souches bactériennes

Le choix des souches bactériennes a été effectué sur la base de la recherche bibliographique sur leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et de leur Pathogénicité .Ces souches sont repiquées quotidiennement dans des bouillons nutritifs pour des utilisations ultérieures. Elles ont été fournies par le laboratoire d'hôpital Hakim Saaden (Biskra).

Il s'agit d'isolats cliniques responsables d'infections nosocomiales. Ainsi nous avons retenu les espèces suivantes citées dans le Tableau 04 et la figure 03 :

Tableau 3. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes	Référence	Famille
<i>Echerichia coli</i>	ATCC25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Pseudomonas Aerogénosa</i>	ATCC27853	<i>Pseudomonadaceae</i>

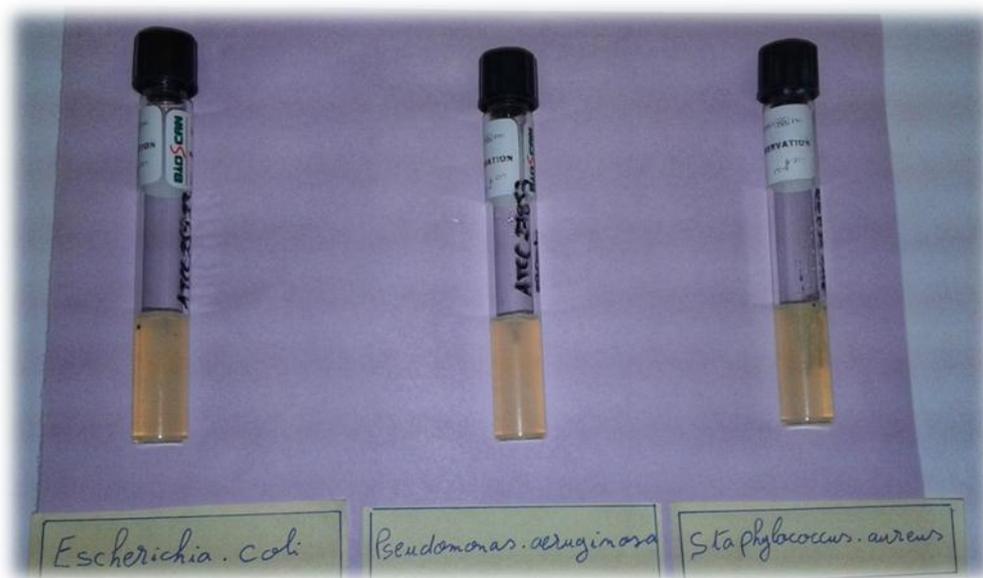


Figure 3. Les souches bactériennes

La sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques est étudiée en adoptant la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.

### 3.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques « Antibiogrammes »

Dans un premier temps, les boîtes de pétri contenant la gélose nutritive sont ensemencées par les souches bactériennes à tester. Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 C° , afin d'avoir de nouvelles colonies plus performantes.

A partir de ces cultures bactériennes, un inoculum est réalisé en ajoutant quelques colonies de bactéries à une solution saline stérile (NaCl 0,9 %). L'inoculum doit avoir une densité optique de 0.8 à 1 Mc Ferland.

A partir la suspension bactérienne préparée on réalise un ensemencement en tapis sur le milieu Muller Hinton (MH) gélosé dans des boîtes de Pétri. Les disques d'antibiotiques (Céfazoline **CZ**, Céfaloquine **CN**, Amoxicilline **AML**, Augmentin **AUG**) imprégnés d'une dose connue 30 µg sont ensuite déposés à l'aide d'une pince. Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37 °C. Le diamètre des zones d'inhibition entourant le disque est mesuré à l'aide d'une règle en mm.

### 3.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de miel

L'activité antibactérienne des échantillons du miel étudiés est déterminée selon la méthode décrite par Baydar *et al.* (2004).

#### ❖ La culture de bactéries

La gélose nutritive est versée dans des boîtes de pétri stériles, une fois solidifiées on procède à l'ensemencement en surface par une anse de platine des souches bactériennes. Après quelques minutes les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 24 h pour permettre la croissance des bactéries.

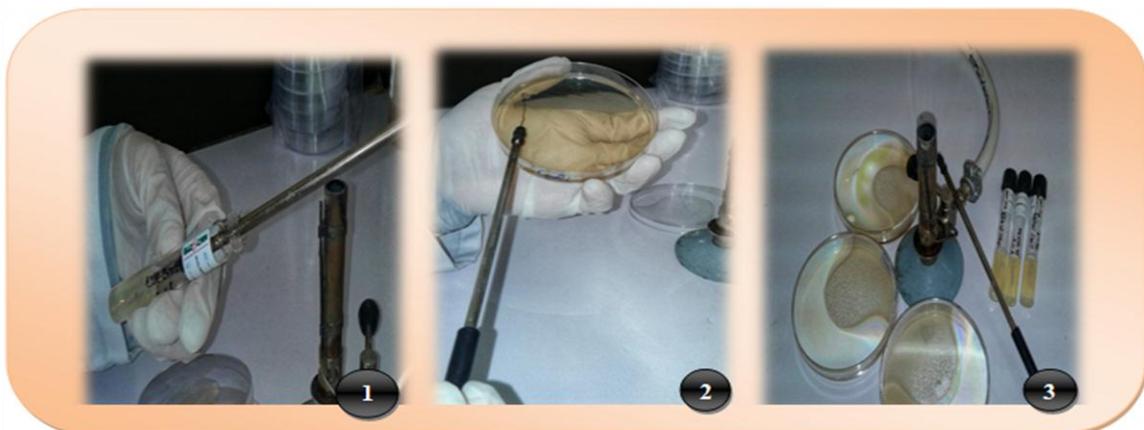


Figure 4 . Les étapes de la culture bactériennes

**❖ Préparation de la suspension bactérienne**

À l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5ml d'eau physiologique stérile.



Figure 5. Préparation de la suspension bactérienne

**❖ Préparation des disques**

Des disques d'un diamètre de 6 mm ont été préparés à partir du papier filtre de Wattman N°1, après ils sont stérilisés à l'autoclave dans un tube à essai hermétiquement fermé.

**❖ Ensemencement**

Sur des boîtes contenant le milieu gélosé (Muller Hinton) à une épaisseur de 4mm bien séchées. On réalise l'écouvillonnage de suspension bactérienne préparée sur la surface de la gélose des boîtes de pétri. Les boîtes sont mises à sécher pendant 15 min.



Figure 6. L'ensemencement de la suspension bactérienne

Les disques imprégnés des différentes variétés de miel pur et liquide (une goutte de miel liquide à la température 20 C° pendant 3 min). A l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés à la surface de chaque boîte de pétri. Ensuite les boîtes sont laissées 15 min à la température ambiante pour une bonne diffusion. Après pré diffusion des solutions du miel, les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 48h pour permettre la croissance des bactéries. Les diamètres des zones d'inhibition (diamètre du disque compris) sont mesurés en mm.

La sensibilité des deux souches vis-à-vis de différents extraits étudiés est classée selon l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne de Ponce *et al.* (2003).

Tableau 4. Echelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce *et al.*, 2003)

Activité antimicrobienne	Degré de Sensibilité	Le diamètre de la zone d'inhibition
Extrêmement sensible	+++	Plus de 20mm
Très sensible	++	15mm à 19mm
Sensible	+	8 mm à 14mm
Non sensible	-	Moins de 8 mm

#### 3.4.4. Evaluation de l'effet antibactérien de l'association « Miel / Antibiotiques »

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association Miel/ATBs est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par Halawani (2009) ; Mandal *et al.* (2010) ; Toroglu (2011). Avec quelques modifications.

Les différents disques d'antibiotiques imprégnés des différentes variétés de miel pur et liquide (une goutte de miel liquide à la température 20 °C pendant 3 min). Puis déposé à la surface des boites préalablementensemencée à l'aide d'une pince stérile.

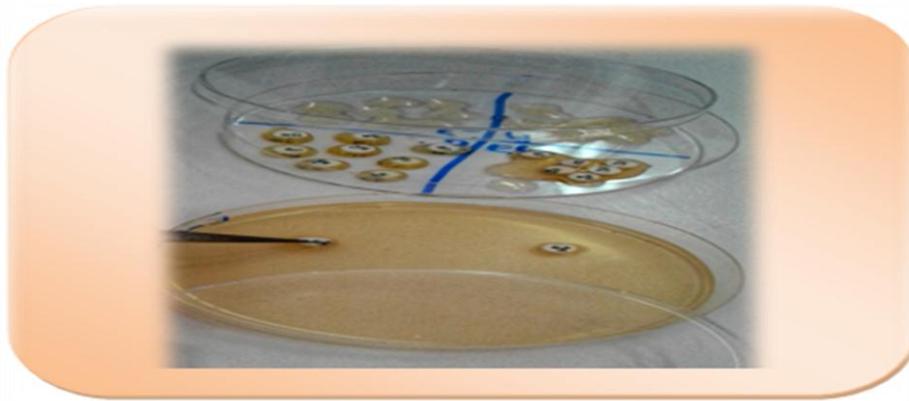


Figure 7. Application des disques ATBs imprégnés de miel sur milieu gélose MH

Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en mm. Le résultat étant la moyenne de trois essais.

L'effet antibactérien des combinaisons entre le Miel et les ABTs a été évalué par la formule suivante :

$$EC = [(E_M - D) + (E_{ATBs} - D)] / (E_{M+ATBs} - D).$$

- ✓ **EC** : Effet antibactérien de l'association de miel avec les antibiotiques.
- ✓ **E<sub>M</sub>** : Effet antibactérien des des miels.
- ✓ **E<sub>ATBs</sub>** : Effet de l'antibiotique.
- ✓ **D** : Diamètre du disque égale 6 mm.

Les données ont été analysées comme suit :

- **Addition:** la zone d'inhibition de l'association Miel/ATBs est égale à la somme des effets d'antibiotique et miel pris isolément ;
- **Antagonisme :** la zone d'inhibition de l'association Miel/ATBs est moins importante que celle de miel toute seule.
- **Synergie :** la zone d'inhibition de l'association Miel/ATBs est plus importante que celle de miel et d'antibiotique toute seule.

# **Chapitre 04 :**

# **Résultats & Discussion**

#### 4.1. Paramètres physico-chimiques

Les résultats obtenus pour les paramètres physico-chimiques sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5. Paramètres physico-chimiques des huit échantillons de miel étudiés

<b>ECH</b>	<b>Humidité(%)</b>	<b>PH</b>	<b>Brix(%)</b>	<b>CE (mS/cm)</b>	<b>Couleur</b>	<b>Protéine (mgEBSA/100g)</b>
<b>M1</b>	13.4±0.40	4.05±0.01	83.2±0.20	344±0.00	0.16±0.003	<b>53.11±0.75</b>
<b>M2</b>	16.5±0.35	4.25±0.02	83.8±0.15	259±0.02	0.19±0.018	<b>51.22±0.70</b>
<b>M3</b>	13.2±0.14	4.27±0.15	83.4±0.15	309±0.01	0.19±0.016	<b>58.22±0.63</b>
<b>M4</b>	15.6±0.15	4.11±0.10	82.8±0.15	194±0.02	0.17±0.002	<b>71.00±0.44</b>
<b>M5</b>	18.0±0.50	4.45±0.03	82.0±1.00	412±0.00	0.20±0.009	<b>54.44±0.63</b>
<b>M6</b>	19.0±0.00	4.15±0.03	82.6±0.40	475±0.01	0.13±0.004	<b>65.11±1.02</b>
<b>M7</b>	15.0±1.50	3.96±0.06	83.2±0.45	224±0.02	0.21±0.006	<b>53.78±0.25</b>
<b>M8</b>	<b>17.5±0.45</b>	<b>4.84±0.05</b>	<b>82.5±0.44</b>	<b>446±0.03</b>	<b>0.11±0.005</b>	<b>82.71±0.52</b>

##### 4.1.1. La teneur en eau (Humidité)

Le miel est une solution de sucre sursaturée avec une faible activité de l'eau, ce qui signifie qu'il n'y a pas assez d'eau disponible pour soutenir la croissance des bactéries et les levures (Malika et al., 2005)

La teneur en eau du miel est l'un des critères primordiaux de la détermination de qualité du miel. Un miel trop sec montre une viscosité élevée et peut poser des problèmes lors de la cristallisation (Moniruzzaman et al., 2014), un miel trop humide risque de se fermenter. Par conséquent, l'humidité conditionne la conservation du miel (Hummel et Feltn, 2014)

Les résultats de la teneur en eau des échantillons étudiés sont représentés dans la figure 8.

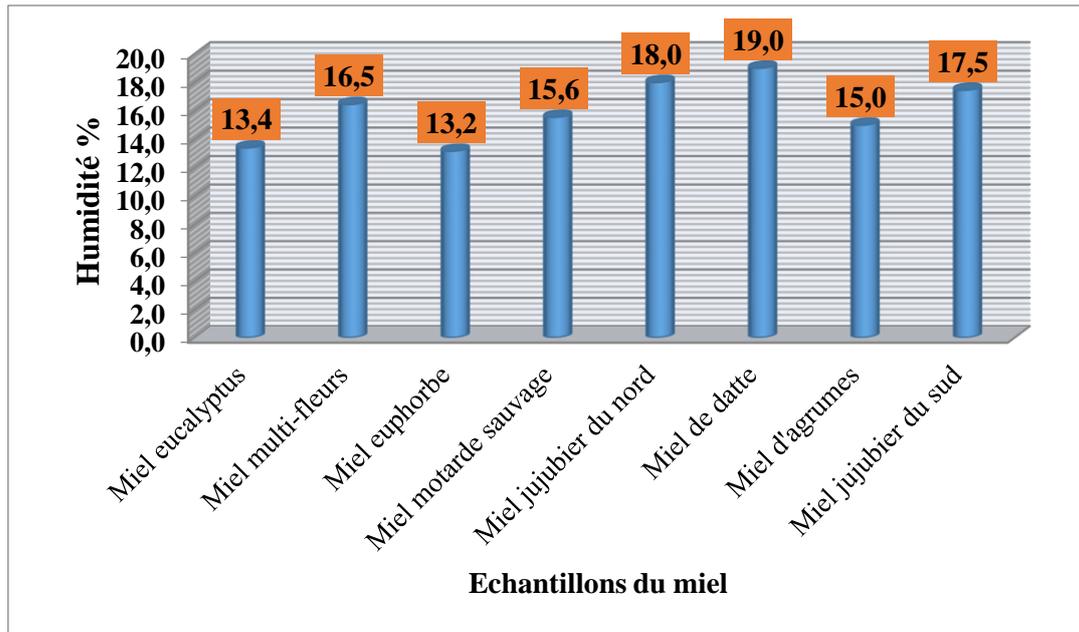


Figure 8. La teneur en humidité de chaque type de miel

Les valeurs obtenues sont comprises entre 13.2 % et 19%, avec une valeur moyenne de 16.5%. Ces valeurs sont largement en dessous de la limite maximale préconisée par Codex Alimentarius. (2001) qui est de 20% maximum. L'échantillon M3 (miel d'euphorbe) qui est provenant de la région de Boumerdes, présente la plus faible teneur en eau (13.2%).

Cela confirme que le risque de fermentation est très faible dans cet échantillon. Contrairement à l'échantillon M6 (miel de datte) qui est provenant de la région de Tolga willaya de Biskra qui présente la plus forte teneur en eau (19%) et de ce fait, contient la plus faible teneur en matières sèches. En effet, La variation en humidité est due aux différents facteurs tels que : la teneur en eau du nectar, l'origine florale des différents miels, la saison de la récolte et le degré de la maturité atteint dans la ruche (Fallico et *al.*, 2004 ; Finola et *al.*, 2007).

La teneur en eau du miel dépend de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche et les conditions environnementales, les facteurs climatiques et de la période de récolte, et il peut varier d'une année à une autre. Généralement une quantité d'eau élevée provoque la fermentation de miel et la perte de sa qualité.

L'étude effectuée par Chibane et Djillali (2007), sur des miels d'origines diverses, a révélé des valeurs comprises variant entre 13-19,2% avec une moyenne de 17%.

Ces résultats sont révélateurs d'un bon stockage des miels étudiés, et que nos échantillons peuvent être conservés sans risque d'altération de leurs propriétés physico-chimiques.

#### 4.1.2. Le pH

Le pH représente un bon critère de qualité et qui figure dans les normes internationales. Il peut être utile dans la détermination de l'origine botanique du miel.

Les valeurs de pH des miels analysés varient entre 3.96 pour M7 (miel d'agrumes) et 4.45 pour M5 (miel Jujubier du nord), avec une moyenne de 4.24 M8 (miel multi-fleurs). Elles sont en accord avec les recommandations du Codex alimentaire (2001).

Le pH de tous les échantillons de miels analysés est inférieur à 4,5, ce qui confirme le caractère acide de ces échantillons et donc que nos échantillons sont tous des miels de nectar.

Les valeurs de pH des différents échantillons étudiés sont représentées dans la figure 09.

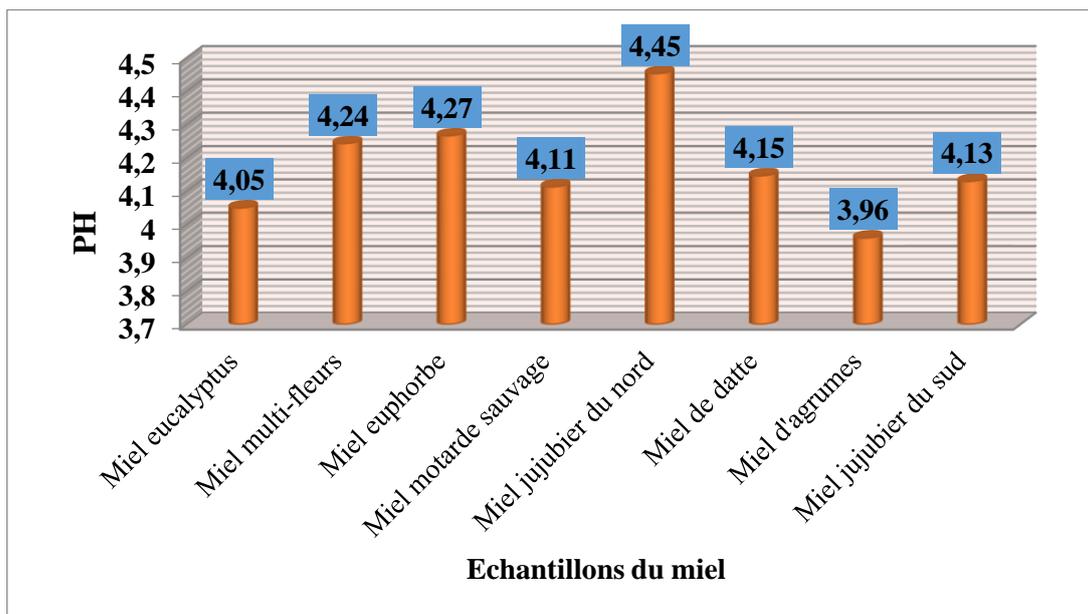


Figure 9. Le pH des échantillons de miel

L'acidité du miel est indépendante de son origine géographique, mais elle peut être attribuée à la flore butinée par l'abeille, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques pendant la transformation de la matière première (Khalil *et al.*, 2012).

Nos résultats sont conformes à ceux représentés par Bogdanov et *al.* (1999) qui ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5, par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 5 et 5,5.

D'après Doukani et *al.* (2014), tous les miels Algériens étaient de nature acide avec un pH qui varie entre 3,70 et 4,05. Ces valeurs 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).

Un pH extrême révèle une dégradation biochimique suite à de mauvaises conditions de récolte ou de conservation (Deschamps., 1998).

D'après les paramètres physico-chimiques étudiés nous pouvons dire que tous nos miels analysés sont conformes aux normes.

#### 4.1.3. La matière sèche (Degré Brix)

Le miel est une solution extrêmement concentrée de sucre simple. Parmi ces sucres figurent le fructose et le glucose que l'on trouve en quantité voisine dans les miels (Tosun., 2013).

Les résultats d'analyse de la matière sèche des différents types du miel que nous avons obtenus sont représentés sur la figure 10.

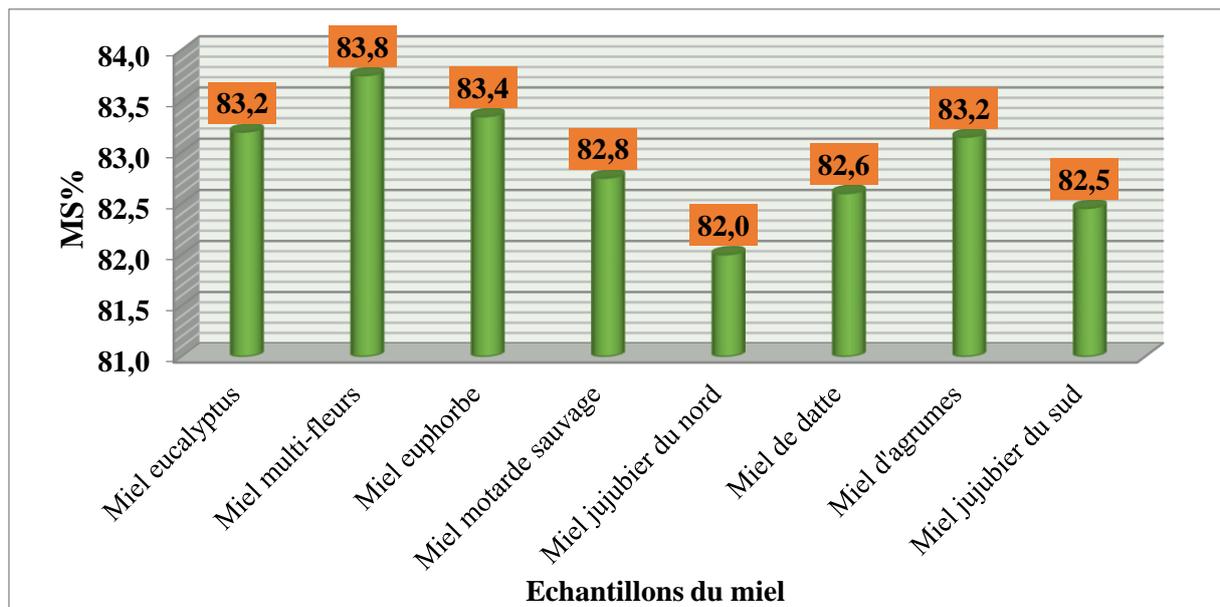


Figure 10. La teneur en degré de Brix

Le degré Brix ou pourcentage de matière sèche indique la quantité de sucres contenue dans miel. La variation du taux de matière sèche (Degré Brix ) des miels oscille entre 82 et 83.8 % avec une moyenne de 82.8%. Ces taux sont conformes aux normes du (codex Alimentarius., 2001).

La variation de la teneur en sucres totaux de nos échantillons est en relation directe avec la teneur en eau du miel. Le miel de Tiaret (Multi-fleurs) présente la plus forte valeur (83.8%), par contre le miel de jujubier de Boumerdes (du nord) présente la plus faible valeur (82%).

La matière sèche de miel est en relation inverse avec la teneur en eau. Il existe toujours une légère différence entre les variétés concernant le degré brix (le pourcentage de sucre). En effet, le pourcentage de la matière sèche est généralement de 80% (Dailly., 2008).

#### 4.1.4. La conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) apporte une indication précieuse sur l'origine botanique des miels et elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine. Elle est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et des protéines.

Les résultats de la conductivité électrique des échantillons des miels étudiés sont représentés dans la figure 11.

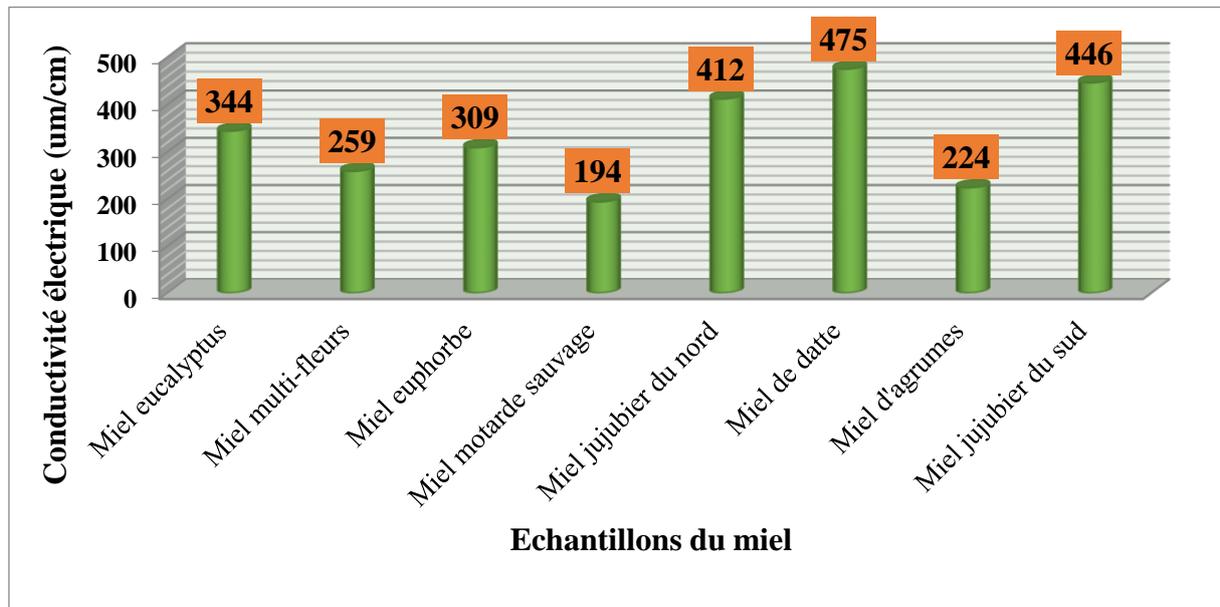


Figure 11. Conductivité électrique des échantillons de miel

D'après cette figure, les valeurs de la conductivité électrique sont comprises entre 194 us/cm et 475 us/cm avec une moyenne de 344 us/cm. Le miel de la datte (Tolga, Biskra) possède la valeur la plus élevée (475us/ cm). En revanche, le miel de la moutarde-sauvage (Tizi-Ouzou) possède la plus faible valeur (194 us/cm).

Les miels de nectar doivent avoir des valeurs de conductivité inférieures à 800 us/cm, tandis que les miels de miellats doivent avoir des valeurs supérieures à 800 us/cm (Codex Alimentarius., 2001). Donc les valeurs obtenues de tous nos échantillons du miel analysés sont inférieures à 800us/cm cela veut dire que ce sont des miels de nectars.

D'autre part la conductibilité électrique d'un miel est en rapport avec sa couleur. Selon Gonnet (1984) ; Kaskoniené et *al.*(2010) ; Louveaux (1980), les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs. Ils sont les plus riches en matières minérales ionisables, donc sont des bons conducteurs de courant (Gonnet, 1982).

#### 4.1.5. La couleur

La coloration du miel est l'une des caractéristiques physiques importantes car elle est en rapport avec leur origine florale et leur composition (minéral, pollen, pigments...) (Amiot *et al.*, 1989). Elle joue un rôle essentiel dans la détermination de la capacité antioxydant du miel. Un miel foncé indique une forte activité antioxydant et la présence des pigments (caroténoïdes, flavonoïdes) (Beretta *et al.*, 2005).

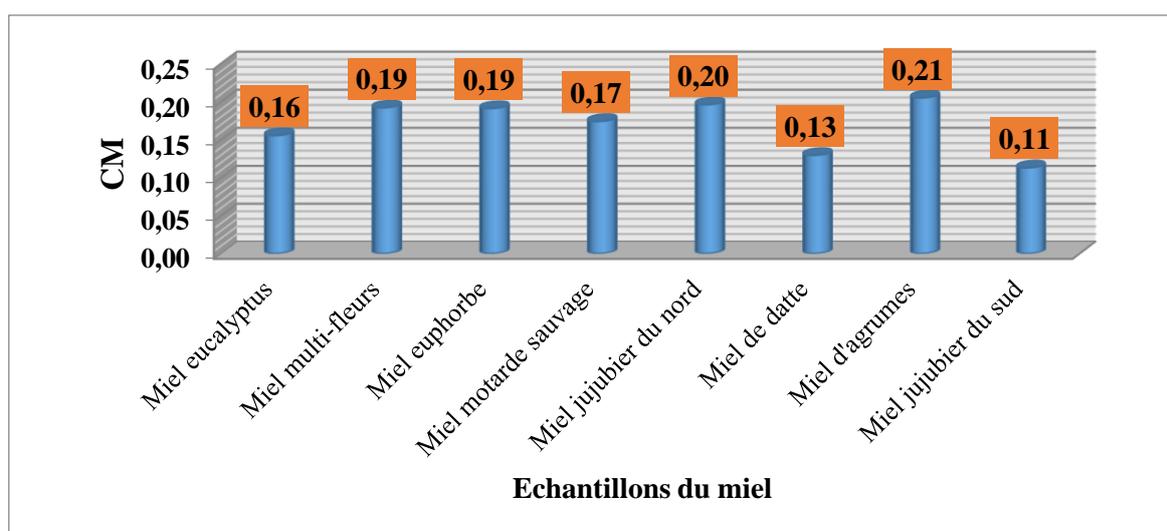


Figure 12. La valeur du couleur de chaque échantillon de miel

Les valeurs de la couleur obtenue des échantillons de miel se situent entre 0.11 E08 (miel jujubier du sud) et 0.21 E07 (miel d'agrumes) qui correspond à la couleur brun clair et marron foncé respectivement avec une moyenne de 0.16 E01 (miel d'eucalyptus).

Ces résultats sont dans l'intervalle rapporté par Mouniruzzman et *al.*(2014) et Das et *al.* (2015).

Les échantillons des miels M1 (miel d'eucalyptus) , 0,16 M4 (miel de motarde-sauvage) , 0.17 M6 (miel de datte) 0.13 M8 (miel Jujubier du sud) 0.11, présentent des absorbances minimales, tandis que M2 (miel multi-fleurs) 0.19, M3 (miel d'euphorbe) 0.19, M5 (miel jujubier du nord) 0.20, et M7 (miel d'agrumes) 0.21,) ont des grandes valeurs d'absorbance. Ceci peut être expliqué par la variabilité de la composition chimique des miels analysés.

#### 4.1.6. Protéines

Les valeurs de la teneur en protéines de nos échantillons sont illustrées dans la figure 13.

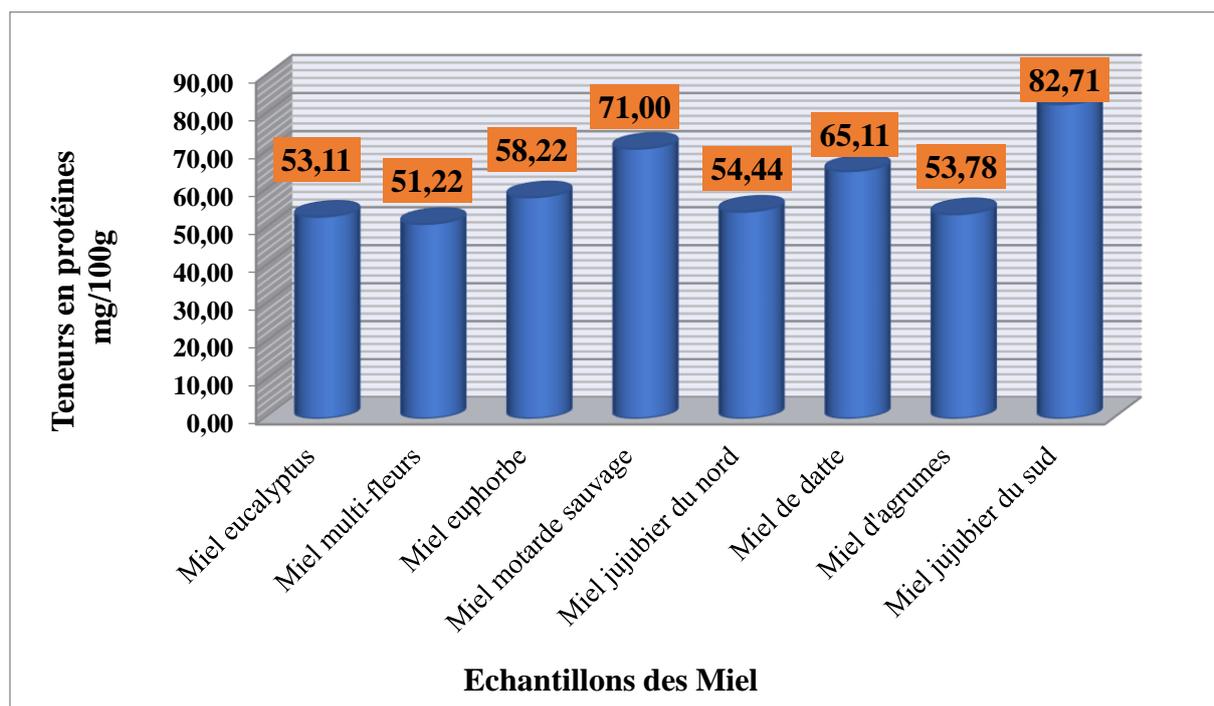


Figure 13. Les teneurs en protéine de chaque type de miel

Les teneurs en protéines des miels analysés varient entre 51.22 mg EBSA/100g pour M1 (miel multi-fleurs) et 82.71 mg EBSA/100g pour M8 (miel jujubier du sud) respectivement avec une moyenne de 65.11 mg EBSA/100g pour M6 (miel de datte)

La comparaison de ces teneurs avec celles sont rapportées par Chefrour et *al.* (2007) (220-960 mg/100 g) et Ouchemoukh (2012) (45,26 à 251,27 mg/100g), pour les miels algériens, montrent que les échantillons étudiés ont un taux faible en protéines.

Cette différence peut s'expliquer par la source des protéines, qui proviennent des grains de pollens, du nectar et des sécrétions de l'abeille ouvrière. Ces facteurs dépendent aussi de l'origine florale du miel et de la force de colonies d'abeilles.

#### 4.2. Evaluation de l'activité antioxydante (Pouvoir anti-radicalaire DPPH)

L'activité antioxydant est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH, qui est due à sa réduction en une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans les échantillons (Doukani et *al.*, 2014).

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin et *al.*, 2008).

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les échantillons des miels étudiés sont représentés dans le tableau 07 et la figure 14.

Tableau 6. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydant des miels analysés

Echantillons du miel	AA (%)
M Eucalyptus	49.70±0.06
M Multi-fleurs	61.04±0.06
M Euphorbe	45.78±0.00
M Moutarde-sauvage	63.44±0.03
M Jujubier du nord	57.42±0.01
M Datte	60.78±0.03
M Agrumes	45.21±0.01
M Jujubier du sud	54.29±0.02
AA (%)= Activité antioxydant / M = miel	

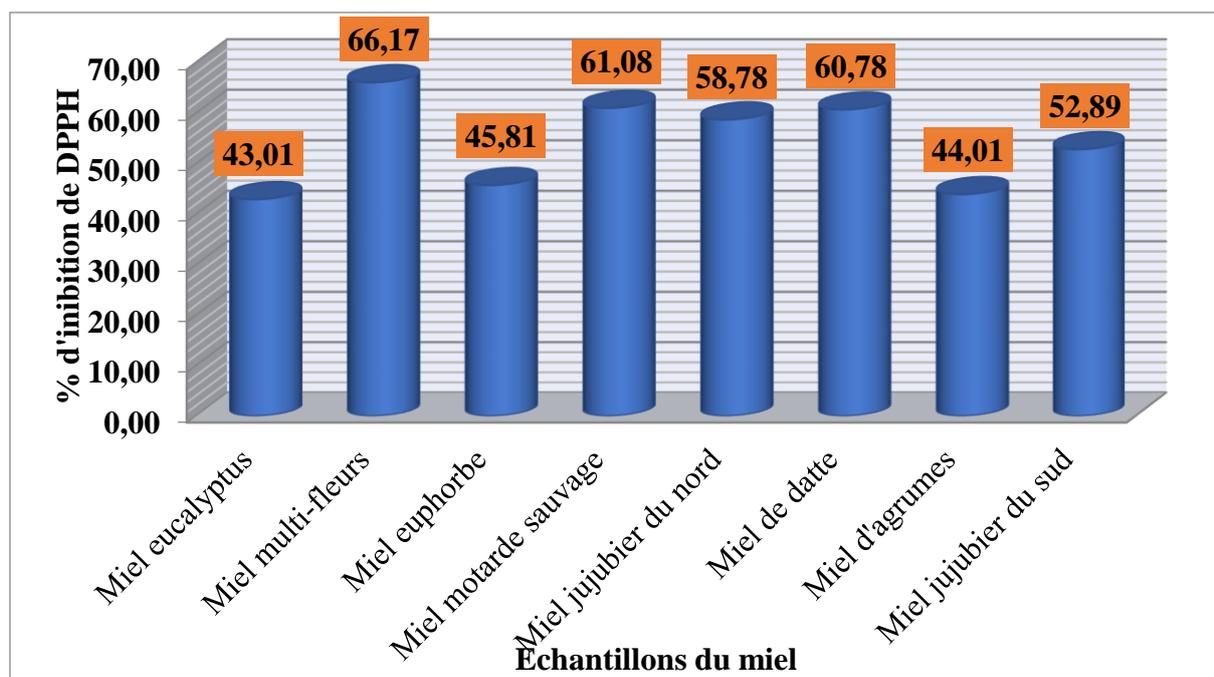


Figure 14. Pouvoir anti-radicalaire vis à vis DPPH des miel étudiés

D'après les résultats obtenus, le pouvoir anti-radicalaire des échantillons de miel étudié varie entre 43.01% (miel d'eucalyptus) et 66.17% (miel multi-fleurs) pour une concentration de 600mg/ml. La meilleure activité anti-radicalaire est enregistrée pour le miel multi-fleurs (Wilaya de Tiaret) avec un pourcentage d'inhibition de 66.17 %. La valeur la moins élevée pour le pourcentage d'inhibition est de 43.01 %, elle est enregistrée pour le miel d'eucalyptus.

Ces résultats sont inclus dans l'intervalle rapporté par Ouchemoukh (2012) et diffèrent de ceux de Doukani et *al.* (2014). Ceci témoigne que ces miels analysés possèdent le pouvoir de céder des protons et/ou des électrons.

Cette différence en ce qui concerne la capacité de la réduction du radical DPPH est probablement due à la composition chimique des miels analysés, elle-même dépend de la diversité de l'origine botanique de ces échantillons. En effet, les miels qui sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes ont une forte capacité de piger les radicaux libres et donc une activité antioxydant élevée.

Boyahya et *al.* (2017), dans leur étude réalisée sur des miels Marocains, ont rapporté des pourcentages qui varient entre 36,38% et 61,94%. Ces derniers sont proches aux résultats rapportés dans la présente étude. D'après Hogane et Lolo (2009), cette différence est due aux conditions expérimentales (la température et le temps de réaction), qui peuvent affecter les résultats de manière significative.

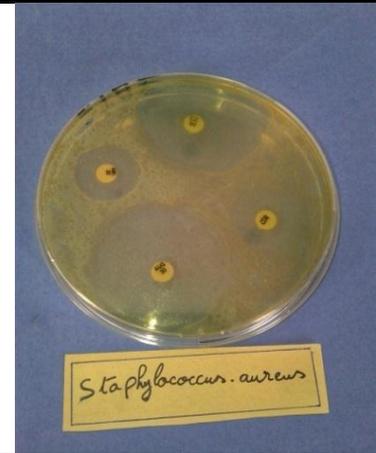
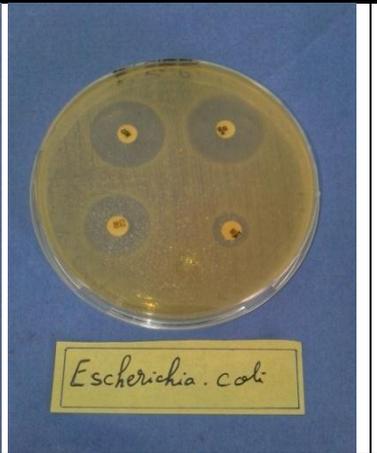
### 4.3. L'activité antibactérienne

#### 4.3.1. L'antibiogramme

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

L'antibiogramme a été réalisé en testant quatre antibiotiques sur trois souches bactériennes de référence (American Type Culture Collection), en utilisant la méthode de diffusion sur gélose. Le pouvoir antibactérien de ces antibiotiques est déterminé selon le diamètre des zones d'inhibition. Les résultats du pouvoir antibactérien des antibiotiques testés sont récapitulés dans le tableau 08 .

Tableau 7. Résultats de l'antibiogramme

Bactéries / Antibiotiques	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aerogénosa</i>	
						
Céfazoline <b>CZ</b>	30.9 ±0.49(mm)	+++	10.9±0.21(mm)	+	06( mm)	-
Céfaloquine <b>CN</b>	20±0.47(mm)	+++	20.4±0.25(mm)	+++	06(mm)	-
Amoxicilline <b>AML</b>	10.9±0.10(mm)	+	20.4±0.21(mm)	+++	06(mm)	-
Augmentin <b>AG</b>	40 ±5.28(mm)	+++	20±0.38(mm)	+++	06(mm)	-
(+++)= extrêmement sensible, (+) = sensible, (-) = no sensible, (±) = ecartype						

D'après les résultats du tableau 08, la croissance des deux souches bactériennes *E.Coli* et *Staphylococcus aureus* est affectée par tous les antibiotiques. La souche *S. aureus* s'est montrée extrêmement sensible au Céfazoline, Céfaloquine et Augmentin en produisant des diamètres de

zones d'inhibition de 30.9 mm, 20 mm et 40 mm respectivement, tandis qu'elle a manifesté un degré de sensibilité moindre vis-à-vis de l'Amoxicilline. Concernant *E.Coli* sont extrême sensibilité a été observée vis-à-vis des trois antibiotiques : Céfaloquine (20.4 mm), Augmentin (20 mm) et Amoxicilline (20.4 mm).

*Pseudomonas aerogénosa* s'est révélée insensible à tous les antibiotiques.

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des antibiotiques ont un effet antibactérien plus prononcé contre les Gram +. La résistance des Gram – est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (Wan, 1998).

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs qui conditionnent la résistance naturelle (Normak et Normak, 2002).

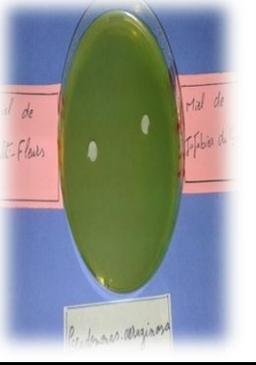
#### **4.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de miel**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons du miel testés est effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (Celiktas, 2007) sur trois souches bactériennes (*Escherichia.Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas.aerogénosa*). Cette méthode est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne, elle est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la substance naturelle à examiner (Gulçin et al., 2004).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huit échantillons de miel se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions entourant les disques en (mm), en se référants à l'échelle d'estimation donnée par Ponce et al. (2003).

Les résultats du test de l'activité antibactérienne des huit miels sont regroupés dans le Tableau 09.

**Tableau 8.** Résultats de test d'activité antibactérienne de miel sur les trois souches bactériennes

Miels Souches	Miel d'agrumes + Miel eucalyptus	Miel Motarde sauvage + Miel jujubier du nord	Miel d'euphorbe + Miel de datte	Miel multi fleurs + Miel jujubier du sud
<i>Escherichia Coli</i>	 <p>10.9 – 10.5mm</p>	 <p>20.5 – 11.5mm</p>	 <p>11.5 – 10.8mm</p>	 <p>20 – 10.9 mm</p>
<i>Staphylococcus aureus</i>	 <p>20 - 20.5 mm</p>	 <p>10 – 20.2 mm</p>	 <p>10.5 – 20.2 mm</p>	 <p>20.5 – 10 mm</p>
<i>Pseudomonas Aerogénosa</i>	 <p>0-0 mm</p>	 <p>0-0 mm</p>	 <p>0-0 mm</p>	 <p>0-0 mm</p>

Les résultats montrent que les deux souches bactériennes *Escherichia.Coli* et *Staphylococcus aureus* sont affectées par les différents miels examinés. Les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 9 à 30.33 mm pour *E. Coli*, 8 à 20,50 mm pour *S. aureus*, tandis que *Pseudomonas aerogénosa* s'est révélée résistante. Ces résultats sont résumés dans le tableau 10

**Tableau 9.** Effet inhibiteur des différents types du miel sur la croissance des 3 souches bactériennes

Echantillon	Bactrs	<i>E.coli</i>	DS	<i>S. aureus</i>	DS	<i>P.aerugénosa</i>	DS
M Eucalyptus		10,50±0.49	++	20,50±0.29	+++	00,00	-
M Multi-Fleurs		20,00±0.25	+++	20,50±0.76	+++	00,00	-
M Euphorbe		11,50±0.58	++	10,50±0.40	++	00,00	-
M.Motarde.sauvage		20.50±1.12	+++	10.00±0.17	+++	00,00	-
M Jujubier Nord		11,50±0.75	++	20.20±0.71	++	00,00	-
M Datte		10.8±0.21	++	20,20±0.80	+++	00,00	-
M Agrumes		10,50±0.29	++	20,00±1.04	+++	00,00	-
M Jujubier sud		10.90±0.52	++	10,00±0.46	++	00,00	-
DS= degré de sensibilité, (+)= sensible, (++) = plus sensible, (+++) =extrêmement sensible, ± = ecartype							

Tous les échantillons de miel se sont manifestés actifs contre la souche *E.Coli*. L'effet inhibiteur le plus prononcé est obtenu avec le miel de moutarde sauvage avec un diamètre qui est de 20.50 mm, suivi par les échantillons: Miel multi-Fleurs ( 20,00 mm) > Miel Jujubier du Nord et euphorbe (11,50 mm) > Miel d'agrumes et jujubier de sud (10,90 mm) > Miel de datte (10.80 mm) > Miel d'eucalyptus (10.50 mm) respectivement.

La meilleure activité inhibitrice de *S.aureus* est marquée pour l'échantillon de miel de d'eucalyptus et Miel multi-Fleurs où la bactérie s'est manifestée extrêmement sensible à toutes les variétés. La même souche s'est révélée moins sensible aux deux variétés : miel de moutarde sauvage et miel du jujubier de sud par rapport aux six variétés restantes.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les miels de jujubier du sud, agrumes, jujubier du nord, eucalyptus, euphorbe, datte, et jujubier du nord sont proches à ceux rapportés

par Bonté et Desmolière (2013) (7,66 à 11,66 mm), sur *Escherichia coli*. Tandis que pour le miel de moutarde-sauvage les diamètres sont supérieurs.

Pour *Staphylococcus aureus*, les diamètres des zones d'inhibition des échantillons de miel de moutarde-sauvage et jujubier de sud sont proches à celui rapportés par Voidarou et *al.* (2014) (0,9 à 12,88 mm). Pour les autres variétés, les diamètres obtenus dans la présente étude ont plus grands que ceux obtenus par Voidarou et *al.* (2014).

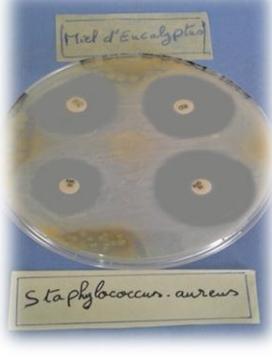
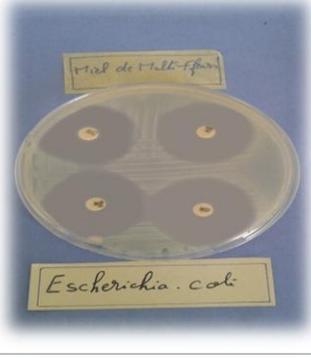
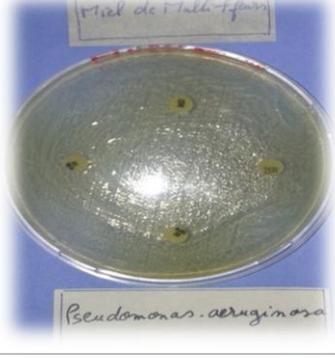
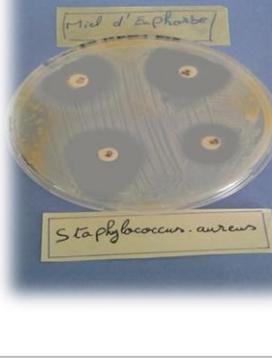
Selon Merah et *al.* (2010), l'action du miel naturel sur les bactéries dépend de la composition et la nature du miel qui sont influencés par plusieurs facteurs tels que la durée et les conditions de conservation.

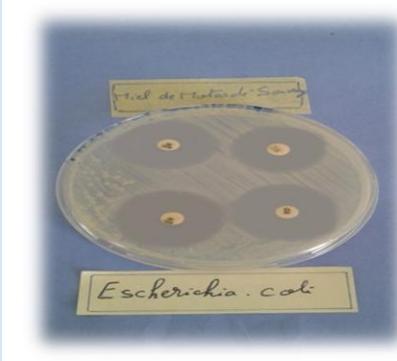
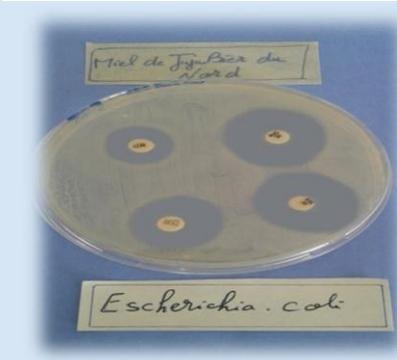
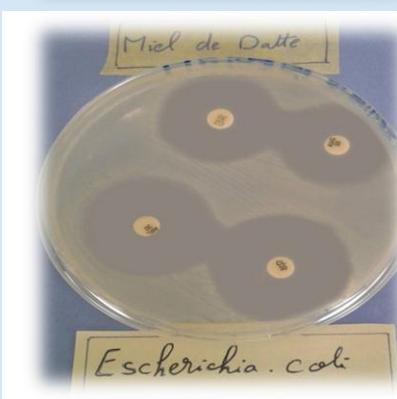
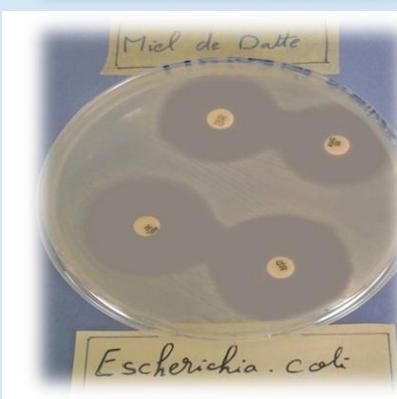
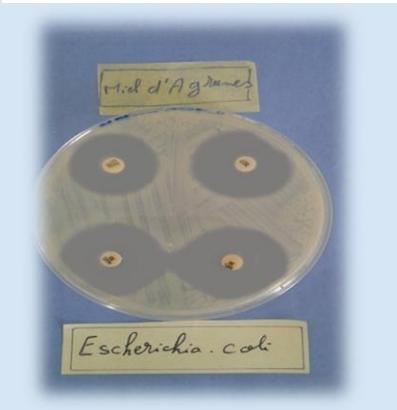
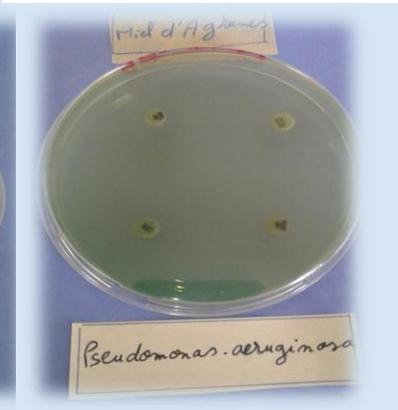
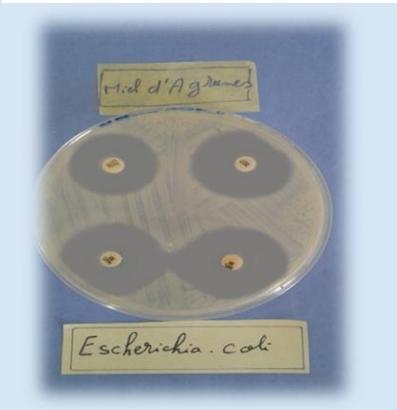
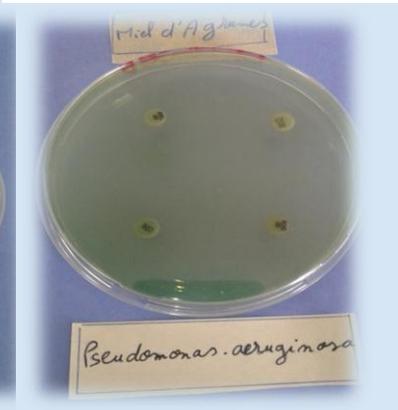
D'après AL-Habsi et Niranjana (2012), l'effet antibactérien du miel peut être expliqué par le contenu important en enzymes et les propriétés physiques du miel. De même Kerkliet (1996) qui rapporte que l'effet antibactérien du miel peut être interprété par son contenu important en enzyme glucose oxydase qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.

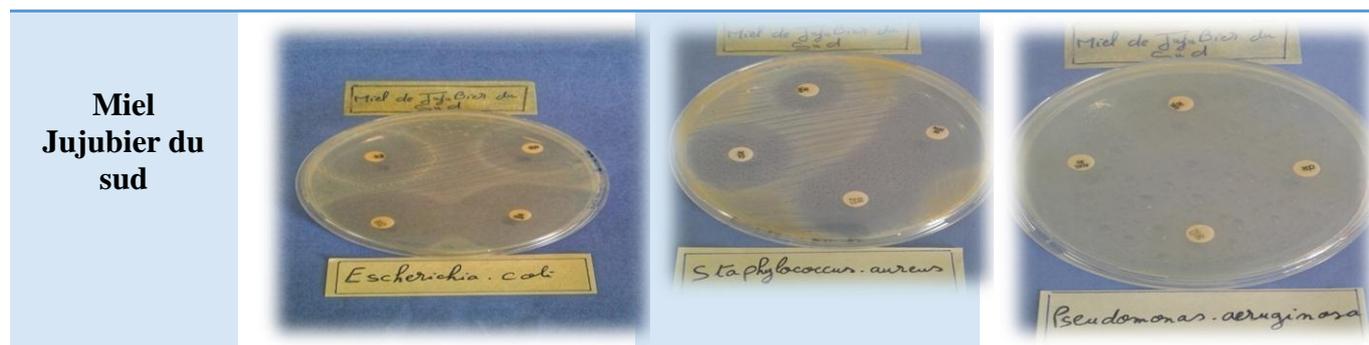
#### **4.2.3. L'effet du test de combinaison «Miel /antibiotique »**

Le test de la combinaison a été effectué en combinant de miel avec les 4 antibiotiques. Les résultats de ce test sont rapportés dans le tableau 11.

Tableau 10. Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique

Bctrs Echantillons	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aerogénosa</i>
Miel D'eucalyptus			
Miel multi fleurs			
Miel d'euphorbe			

Bctrs	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aerogénosa</i>
<b>Echantillons</b>			
<b>Miel</b>			
<b>Motarde sauvage</b>			
<b>Miel</b>			
<b>Jujubier du nord</b>			
<b>Miel de datte</b>			
<b>Miel de datte</b>			
<b>Miel D'agrumes</b>			
<b>Miel D'agrumes</b>			



**Tableau 11.** Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique sur *E.Coli*

Echantillons	Céfazoline CZ		Amoxicilline AML		Céfaloquine CN		Augmentin AG	
	EC	EF	EC	EF	EC	EF	EC	EF
<b>M. Agrumes</b>	0.67	Sn	0.79	Sn	0.80	Sn	0.78	Sn
<b>M. Eucalyptus</b>	0.67	Sn	1.30	At	4.02	At	1.25	At
<b>M. Motarde sauvage</b>	1.31	At	1.93	At	1.19	At	1.93	At
<b>M. jujubier de nord</b>	0.35	Sn	2.67	At	8.24	At	2.58	At
<b>M. euphorbe</b>	0.69	Sn	0.81	Sn	0.81	Sn	0.81	Sn
<b>M. de datte</b>	0.69	Sn	4.36	At	4.26	At	3.91	At
<b>M. jujubier de sud</b>	0.39	Sn	0.80	Sn	0.80	Sn	0.55	Sn
<b>M. multi fleurs</b>	1.27	At	1.17	At	1.17	At	1.16	At

ABTs = antibiotiques M = miel , EC= effet de la combinaison Miel/Antibiotiques ,EF=effet, At=effet antagoniste, Ad =effet additif, Sn= effet synergique.

Les résultats de l'association des échantillons de miels étudiés avec les différents antibiotiques ont donné diverses interactions contre *E.Coli* (15 interactions synergiques, et 17 interactions antagonistes). Ces résultats témoignent du grand potentiel que présentent les miels naturels pour accéder aux différentes cibles cellulaires.

*Pseudomonas aerogénosa* s'est révélée insensible à tous les antibiotiques. Cette souche est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques, elle est capable de s'adapter à des environnements très divers en raison de sa très grande plasticité génétique. Elle est capable de résister aux antibiotiques, soit de façon native par 3 mécanismes principaux : la faible perméabilité pariétale, l'inactivation enzymatique et les systèmes de pompes à efflux actif ; soit suite à l'exposition aux antibiotiques par l'acquisition de gènes codant pour des enzymes détruisant les antibiotiques, surexpression de pompes à efflux associées ou non à une diminution de l'expression des porines, mutation de cibles... (Mesaros et al., 2007).

Tableau 12. Les résultats du test de la combinaison miel/antibiotique sur *S.aureus*

Echantillons \ ABTs	Céfazoline CZ		Amoxicilline AML		Céfaloquine CN		Augmentin AG	
	EC	EF	EC	EF	EC	EF	EC	EF
M. Agrumes	1.62	At	1.27	At	1.91	At	3.26	At
M. Eucalyptus	2.77	At	0.78	Sn	1.87	At	2	At
M. Motarde sauvage	1.08	Ad	0.59	Sn	1.20	At	2.56	At
M. jujubier de nord	2.69	At	1.36	At	1.93	At	3.25	At
M. euphorbe	2.02	At	0.67	Sn	1.25	At	1.60	At
M. de datte	2.67	At	1.32	At	1.07	Ad	3.25	At
M. jujubier de sud	1.21	At	0.69	Sn	0.77	Sn	1.58	At
M. multi fleurs	1.58	At	0.56	Sn	1.93	At	1.95	At

ABTs = antibiotiques, M = miel, EC= effet de la combinaison Miel/Antibiotiques, EF=effet, At=effet antagoniste, Ad =effet additif, Sn =effet synergique.

L'effet de combinaisons testées contre *S.aureus* varie entre Synergie, addition, et antagonisme, pour les différentes variétés de miel. On constate l'effectif très abondant de l'effet antagonisme presque avec toutes les combinassions vis-à-vis des 8 échantillons de miel testés contre le *S.aureus*.

L'effet additif a été observé seulement 2 fois, dans la combinaison de miel de motarde-sauvage avec Céfazoline ; et le miel de datte avec Céfaloquine contre *S.aureus*.

Cependant, l'effet synergique est observé 5 fois dans la combinaison de l'Amoxicilline avec le miel d'eucalyptus, moutarde sauvage, euphorbe, jujubier de sud et miel de multi fleurs. et dans la combinaison de Céfaloquine avec le miel jujubier de sud contre le *S.aureus*.

Selon Abd-El Aal et al. (2007) ont rapporté un effet synergique lors de la combinaison du miel avec l'Amoxicilline et céfaloquine vis-à-vis de *S.aureu*.

L'effet synergique est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs effets individuels. En effet les huiles essentielles peuvent sensibiliser le microbe pathogène à un antibiotique précédemment inefficace (Aiyegoro et Okoh, 2009).

D'après Wagner and Ulrich-Merzenich (2009), l'effet synergique est produit quand les constituants du mélange agissent sur des cibles différentes, alors que l'effet antagoniste et additif est observé quand les constituants exercent leurs effets sur la même cible.

# Conclusion

## Conclusion

La présente étude est menée dans le cadre de l'évaluation de la qualité de 8 échantillons de miel récoltés en 2016 dans différentes wilayas d'Algérie (Boumerdes , Tiaret, Boumerdes , Tizi-Ouzou, Tamenrasset et Biskra ) en analysant quelques paramètres physico-chimiques, ainsi que leur activité antibactérienne seules et en combinaison avec les antibiotiques. L'activité antioxydante a été également évaluée.

Les principaux paramètres physico chimiques étudiés sont : la Teneur en eau, pH, degrés de Brix, la conductivité électrique, la coloration, et le taux des protéines). Il en ressort ce qui suit :

La teneur en eau des différentes variétés étudiées varie de 13.2 à 19 % avec un pH compris entre 3.96 à 5.45. Elles ont une conductivité électrique de 194 à 475 us/cm avec une teneur en protéines de 51.22 à 82.71 (mgEBSA/100g). Les échantillons de miel contiennent aussi 82 à 83.8 de degrés de brix, et de 0.11 à 0.21 de valeur de couleur.

Les résultats de cette étude indiquent que tous les échantillons analysés sont des miels de nectar et ils sont de bonne qualité chimique et physique qui sont conformes aux normes proposées par la commission du Codex Alimentarius.

L'analyse des paramètres physico-chimiques est un bon critère de qualité du miel, souvent utilisé dans la routine de contrôle, ils dépendent de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche, les facteurs climatiques, l'origine botanique et l'espèce d'abeille.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les échantillons des miels étudiés varie d'un miel à un autre, il est compris entre 43.01% et 66.17 %. Le miel multi-fleurs est l'échantillon le plus actif.

Les résultats de l'activité antibactérienne de huit miels analysés enregistrent des zones d'inhibitions qui varient de 10.8 à 20.5 mm pour la souche *Escherichia coli*, 10 à 20.5 mm avec la souche *Staphylococcus aureus*, et aucun effet d'inhibition n'a été observé pour la souche *Pseudomonas.aerogénosa*. En comparant ces résultats aux antibiotiques utilisés, on conclut que les miels analysés présentent une valeur thérapeutique importante.

Les effets de la combinaison des échantillons de miel avec les antibiotiques sont variés entre synergique, additif et antagoniste contre *Staphylococcus aureus*, (6 interactions synergiques, 2 interactions additif et 24 interactions antagonistes). Cependant, nous n'avons observé que des interactions synergiques et antagonistes contre *Escherichia coli*. Ces résultats témoignent du grand potentiel que présentent les miels naturels pour accéder aux différentes cibles cellulaires de ce fait, la résistance aux antibiotiques sera limitée.

En termes de perspective et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- De réaliser l'activité antibactérienne sur une vaste gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des maladies.
- De faire des études sur des mélanges du miel afin d'augmenter leurs pouvoirs thérapeutiques.
- Nous recommandons également une étude de conception d'une formule médicamenteuse qui combine entre les antibiotiques et le miel présentant des effets synergiques en association et ce dans le but de lutter contre les bactéries manifestant une résistance aux agents antibactériens.

# **Références Bibliographiques**

A

- Acquarone, C., Buera, P et Elizalde, B (2007). Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*, 101: 695–703.
- Aiyegoro OA et Okoh AI (2009). Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(13), 1147-1152.
- Al-Habsi, N., A & Niranjana, K (2012). Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food chemistry*, 135(3), p:1448-1454.
- Al-Khalifa A.S., Al-Arif I.A (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry* 67,21-25
- Al-Mamary M., Al-Meer A et Al-Habori, M (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22: 1041–1047.
- Al-Mamary M., Al-Meer A & Al-Habori M (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition research*, 22(9), p : 1041-1047.
- Alqarni Abdulaziz S., Owayss Ayman A Mahmoud Awed A., Hannan Mohammed A (2012). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia *Journal of Saudi Chemical Society*, In Press, Corrected Proof, Available online 8 December 2012
- Alvarez L.M (2010). Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p.

- A.M Abd-El Aal., M.R El-Hadidy., N.B. El-Mashad., A.H. El-Sebaie (2007) . Antimicrobial Effect of Bee Honey in Comparison to Antibiotics on Organisms Isolated From Infected Burns. *Ann Burns Fire Disasters*, 20(2): 83–88.
- Alvarez-Suarez J.M ., Tulipani S., Diaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre, S et Battino M (2010).Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and theircorrelation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food andChemical Toxicology*, 48: 2490-2499.
- Amiot M.J ., Aubert, S., Gonnet M et Tacchini M (1989). Les composés.phénoliques des miels: étude préliminaire sur l’identification et la quantification par.familles. *Apidologie*, 20 (2): 115-125.
- Azeredo L.D.C., Azeredo M.A.A., Souza, S.R et Dutra V.M.L (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* ofdifferent floral origins. *Food Chemistry*, 80:249–254.

## B

- Basualdo C., Singh V., Finola M.S et Marioli J.M (2007).Comparaison of the antibacterial.activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology*.124:375-381.
- Bath P.K et Singh N (1999). A comparison between Helianthus annuus and Eucalyptus lanceolatus honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.
- Baydar N.G., Ozkan G et Sagdic O (2004).Total contents and antibacterial activites of grape (vitisviniferal) extracts. *Food Control*.15:335-339.
- Belay A ., Solomon, W.K ., Bultona, G., Adgaba, N et Melaku S (2013). Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.

- Belay A., Solomon W.K., Bultona G., Adgaba, N et Melaku S (2013). Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141: 3386-3392.
- Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse WJ., Sener A., 2013. Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* 3(1):35-40
- Benhanifia, M.B., Boukraâ L., Hammoudi S.M., Sulaiman S.A et Manivannan, L.; (2011). Recent Patents on Topical Application of Honey in Wound and Burn management. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 5:1.
- Benrahal. F (1997): caractérisation des miels purs et essais de détection de leur falsification courante. Mémoire. Agro. ISA. Tiaret. 41p.
- Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M et Facino R.M.; (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533: 185-191.
- Blanc M., 2010 - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ Limoges, 142 p.
- Bogdanov, 2005, Miels monofloraux suisses, Centre de recherches apicoles, Station de recherches en production animale et laitière. 55p.
- Bogdanov S., Bieri K., Kersulec B. *23A Miel*. 2004. Disponible sur : [www.Produitsapicoles23A.miel.fr](http://www.Produitsapicoles23A.miel.fr) (consulté le : 28.01.2011).
- Bogdanov S., Martin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M.; Heritier J., Vorwohl, G., Russmann H., Persano-Oddo, L., Sabatini A.G., (1997). Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie*, 1-59.
- Bogdanov S., Ruoff K et Persano Oddo L., (2004). Physico-chemical methods for characterisation of unifloral honeys. *Apidologie*, 35: 4-17.

- Bogdanov S., Ruoff, K & Oddo, L.P., (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys, a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4-S17.
- Bonté F & Desmoulière, A.; (2013). Le miel, origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), p : 18-21.
- Bouyahya A., Abrini J., Khay EO., El Issaoui K., Zinebi S (2016). Study of synergy between *Mentha pulegium* essential oil, honey and bacteriocin-like inhibitory substance E204 against *Listeria monocytogenes* CECT 4032 and *Escherichia coli* K12. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 11: 29-35.
- Bouyahya A., Abrini J., Et-Touvs, A., Lagrouh F., Dakka N and Barki, Y (2017). Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*. Lavoisier SAS.
- Bozin B., Mimica-Duric N., Samojlik I., Goran A et Igić R., 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae). *Food Chem* ; 111: 925-929.
- Brandear.N., 2005 - Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.
- Bruneu E. (2011) Chapitre IX : Les produits de la ruche. *In: Clement et al. Le traité rustica de l'apiculture*. Editions Rustica, Paris, p. 354-387.

## C

- Čanadanović-Brunet J., Četković G., Šaponjac V. T., Stajčić S., Vulić J., Djilas S & Popović B. (2014). Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, p: 62, 1-7.
- Cavia, M.M., Fernandez-Muino M.A., Alonso-Torre S.R., Huidobro J.F et Sancho M.T (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100: 1728–1733.

- Celiktas O.Y., Hameskocabas E.E., bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T et Baser K.H.C (2007).Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils Rosmarinus.
- Chefrou, A., Battesti M.J., Ait K and Tahar A. (2007). Melissopalynologic and physicochemical analysis of some northeast Algerian honeys. *European Journal of Scientific Research*, 18: 389-401.
- Chibane.Y et Djilali. S. (2007). contrôles de qualité de quelque miels d'origine diverses et étude de leur effets sur quelque micro-organisme .Mémoire . Ingénieur. U. S.T.H.B. ALGER. p 30.
- Chipuk J.E et Green D.R (2006). Dissecting p53-dependent apoptosis. *Cell Death and Differentiation*,13: 994–1002.
- Clément 2006 : Le Traité Rustica de l'Apiculture.EditionsRustica/FLER, Paris, 528p
- Codex Alimentarius Commission (2001). Revised codex standard for honey. *Revue*,12:1-7.
- CODEX ALIMKNATRIUS. Commission du Codex Alimentarius.Edition FAO.O.M.S.
- Codex, 2001 :PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES.Commission du Codex Alimentarius. ALINORM 01/25, 1-31

## D

- Dally. H (2008). Cristallisation du miel, le savoir et le faire technique. Abeille.cie N°124, p18
- Das A., Datta S., Mukherjee S., Bose, S ; Ghosh S et Dhar P (2015).Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *Food Science and Technologie*, 61: 244-250.

- Doukani K., Tabak S., Derriche A and Hacini Z., (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*.10 :37- 49.
- Doukani Koula1., Tabak Souhila1., Derriche Asma., Hacini Zahira., 2014 . Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* (10),45: 1112-5888
- Doukani K., Tabak S., Derriche A et Hacini Z., (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algeriens. *Ecologie-Environnement*, 10:1112-5888.

### E

- 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.
- Erejuwa O.O., Sulaiman S.A et Wahab, M.S.A (2014). Effects of Honey and Its.Mechanisms of Action on the Development and Progression of Cancer. *Molecules*,19: 2497-2522.

### F

- Fallico B., Zappala M., Arena E et Verzera A (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85: 305–313.
- Fauzi A.N., Norazmi, M.N et Yaacob, N.S (2011). Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 871–878.
- Finola M.S., Lasagno M.C et Marioli, J.M (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100:1649–1653.

G

- Gharbi M (2011) Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles-Composition -Propriétés thérapeutiques. API thérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse Med. Vêt. Université Claude Bernard, Lyon, 247p
- 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.
- Gidamis A. B., Chove B.E., Shayo N. B., Nnko S. A. & Bangu N.T (2004). Quality evaluation of honey harvested from selected areas in tanzania with special emphasis on hydroxymethyl furfural (HMF) levels. Plant Foods for Human Nutrition, 59, p: 129-132.
- Gleiter R.A., Horn H and Isengard H.-D (2006) Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. Food chemistry, 96: 441-445.
- Gonnet M., 1982 : le miel : composition : propriétés et conservation 2<sup>ème</sup> édition OPIDA ,p 31
- Gulcin I., Oktay M., Kirecci E et Kufrevioglu OI (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*pimpinellaanisum L*) seed extracts. Food chemistry.83:371-382.
- Gulcin I., Oktay M., Kirecci E et Kufrevioglu OI (2004). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*pimpinellaanisum L*) seed extracts. Food chemistry.83:371-382.

H

- Hogan S., Zhang L Li J., Zoecklein B et Zhou K (2009). Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitisvinifera*) wine grapes. Food Science and Technology.42,1269-1274

- Hoyet, C . (2005). Le miel: De la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université Henri Poincaré – Nancy-1, p. 87.
- Hummel R et Feltin, M (2014). Produire un miel de qualité quand on est apiculteur debutant, Syndicat des apiculteurs de Thann et environs.

### I

- Irlande D. (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées. 1-25.

### J

- Jean-Prost P et Medori P (2005). Miel. In « Apiculture ». Ed. Tec et doc : 180-424-199.
- Jean- prost, 2005 :Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier, 698p.

### K

- Kašonienė V., Venskutonis P.R., Čeksterytė V. (2010) .Carbohydrate .Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania LWT Food Science and Technology ,Volume 43,Issue 5, June 2010 ,Pages 801-807.
- Kerkvliet J.D. (1996). Screening method for the determination of peroxide accumulation in.honey and relation with HMF content. *Journal of Apiculture Res.*35 :110-117.
- Khalil M.I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M.N.,Sulaiman S.A. et Gan, S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17 (19): 11199-11215

- Khalil M.I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M.N., Sulaiman, S.A et Gan, S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17 (19): 11199-11215.

## L

- Lagarde K., Rakotovelo N., 1978. Etude de la filière apiculture en vue du-LEQUET L. (2010) Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse Med. Vet.Université Claude Bernard, Lyon, 195p.
- Lazarević K.B., Andrić F., Trifković J., Tesić Z et Milojkovic-Opsenica D. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132: 2060-2064.
- Lazaridou Athina., Biliaderis Costas G., Bacandritsos Nicolaos., Sabatini Anna Gloria (2004). Composition, thermal and rheological behavior of selected Greek honeys *Journal of Food Engineering*, Volume 64, Issue 1, p: 9-21.
- Lee J. H ., Koo N.S et Min D.J. (1986).Antioxidant protection of phospholipids bilayers by.atocopherol .*Journal of Biological Chemistry*.2 (5):12-14.
- Liu J.R., Ye Y.L., Lin T.Y., Wang Y.W and Peng C.C., 2013. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chem* ; 13 :146-174.
- Lobo A.P ., Garcia Y.D., Sanchez J.M., Madrera R.R et Valles B.S. (2009).Phenolic and.antioxidant composition of cidre. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22,644- 648.

## M

- Malika N., Faid M and El Adlouni C., 2005 - Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey *International Journal Of Agriculture & Biology*, Vol. 7, No.5, 773–776.

- Marchenay et Berard., 2007 : L'homme, l'abeille et le miel Edition De Borée 223p. BRUNEAU E. (2011) Chapitre IX : Les produits de la ruche. *In: Clement et al. Le traité rustica de l'apiculture*. Editions Rustica, Paris, p. 354-387
- Meda A., Charles EulgeLamien., Marco Romito., Jeanne Millogo., Odile Germinie Nacoulma (2005) : Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91: 571-577.
- Merah M., Bensaci Bachagha M et Boudherhem A (2010). Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récolté des terroirs algériens. *Annales des sciences et technologie*. 2 :115-125.
- Mialtovic D., Braveny I. Development of resistance during antibiotic therapy. *Ent. J. Clin. Microbiol*. 1987;6:234.
- Miriam O., Iurlina ,Rosalia Fritz (2005): Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources . *International Journal of Food Microbiology* 105(2005) 297-304.
- Moniruzzaman M., Khalil M., Sulaiman S., Gan S: Advances in the Analytical Methods for Determining the Antioxidant Properties of Honey: A Review. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 2012, 9 (1): 36-42.
- Moniruzzaman M., An C.Y., Rao P.V., Hawlader M.N., Amirah S., Bintimohd A., Sulaiman S.A et Gan, S.H. (2014). Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-13.
- Moreira I., Bastos A. O., Scapinelo C., Fraga A. L., Kutschenko M., 2007. Different types of pearl millets (*Pennisetum glaucum*(L.) R. Brown) on growing-finishing pigs feeding. *Ciencia Rural*, 37 (2): 495-501
- Morse R., Lisk DJ. (1980).Elemental analysis of honeys from several nations. *Am Bee.J.*522-523

- Mouhoubi Z & Aissani, D (2007). Stability of the Inventory-Backorder Process in the (R;S) Inventory/Production Model. *Pliska Studia Mathematica Bulgarica*, 18(1), p: 255-270.

## N

- Nathalie L. ; Isabelle D., Alain D & Julien B. (2012). Microfibrillated cellulose-Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*. 90: 735–764
- Normak HB., Normak S. (2002) Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. Intern. Med.* 252: 91-106

## O

- O'Connor O.A (2011). Apoptosis: from biology to therapeutic targeting. *Annals of Oncology*, 22 (4): 76–79.
- Ouchemoukh S. (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, p.162.
- Ozcan M.D. and Arslan D.A (2006). Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Chem.* 99:24-27.

## P

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

## R

- Roginsky V et Lessi L.A. (2005). Review of method to determine chain breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*. 96: 235-254.

- ROSSANT A., 2011- Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 132 p.
- Rossant A. (2011). Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes, Thèse en vue de l'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université de Limoges, p. 132.

## S

- Sanz., 2005 : In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey-oligosaccharides, J Agric Food Chem,
- Sanz M.L., Gonzalez M., De Lorenzo C., Sanz J et Martinez-Castro I. (2005).A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *FoodChemistry*, 91: 313-317.
- Serrano Slaud., Villarejo Marta., EspejoRoberto., Jordal Manuela L.(2007). Diastase and.invertase activities in Andalusian honeys. *Int.J.Food Sci. Technol.* 42,76-79.
- Shin H.S & Ustunol Z. (2005) . Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected instestinalbacteria : An in vitro comparison.*Food Research International* ,38:721-728 .

## T

- Terrab A., Diez MJ., Heredia FJ. (2002). Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*; 79: 337-73.
- Terrab A., González A.G., Díez M. J & Heredia, F. J (2002). Characterization of.Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *Food Chemistry*, 79, p: 373-379.
- Tosun Murat (2013). Detection of adulteration in honey samples added various sugar with  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratio analysis method. *Food Chemistry* , Volume 138, Issues 2-3,1 June 2013 ,Pages 1629-1632

V

- Voidarou C., A Alexopoulos S., Plessas A., Karapanou and I. Mantzourani ., 2014. Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Anaerobe*, 17: 375-379. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.012

W

- Wan J., Wilcock A., Coventry MJ. (1998) The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158
- Wagner H., Ulrich-Merzenich G. (2009). Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 16, 97-110

Y

- Yanniotis S., Skaltss and Karaburnioti S. (2006). Effet of moisture content on the viscosity of honey at. different températures *Journal of Food Engineering*,72 :372-373.
- Yucel Y., et Sultanoglu P (2013). Characterisation of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1:16-25

# **Annexes**

## Annexes 01. Table de CHATAWAY(1935)

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

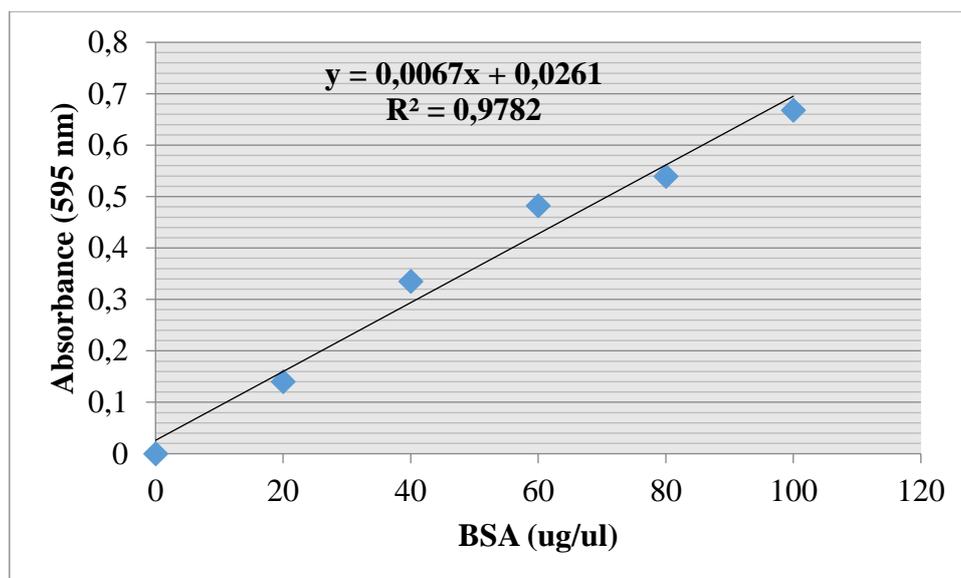
**Annexe 02. Dosage des protéines (Bradford, 1976)**

- **Elaboration de la courbe d'étalonnage**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine (BSA) (1mg/1ml) selon les quantités suivantes : 0, 20, 40, 60, 80 et 100 µg. Toutes les dilutions des solutions protéiques sont effectuées en présence de l'eau distillée. Les échantillons et le blanc sont ajustés à un volume final de 100µl. Après addition de 5ml du réactif de Bradford et agitation, l'absorbance est mesurée à 595 nm contre le blanc. Les concentrations protéiques des extraits enzymatiques seront déduites à partir de cette courbe d'étalonnage.

**Tableau 02.** Préparation de la gamme d'étalonnage de la BSA (1mg/ml).

N° de tube	Blanc	01	02	03	04	05	Echantillons
<b>Solutions et réactifs</b>							
<b>Solution de BSA (µl)</b>	0	20	40	60	80	100	Fraction aliquote
<b>Eau distillée (µl)</b>	100	80	60	40	20	0	?
<b>Réactif de Bradford (ml)</b>	5						
<b>Absorbance à 595 nm</b>	0	0.14	0.335	0.482	0.539	0.668	?



**Figure 015.** Courbe d'étalonnage de la solution de BSA( 1 mg/ ml )

### Annexe 03. Appareilles, verreries et accessoires utilisés dans les analyses des miels.

Appareillages	Verreries et accessoires
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Bain-marie</b></li> <li>• <b>Balance analytique</b></li> <li>• <b>Conductimètre. Starter 3000C</b></li> <li>• <b>Etuve. MEMMERT UN55 PLUS-53L</b></li> <li>• <b>PH mètre à affichage numérique. Starter 2100</b></li> <li>• <b>Spectrophotomètre UV-visible. JENWAY 6300</b></li> <li>• <b>Agitateur vortex RX3 vitesse fixe (2400 T/Min)</b></li> <li>• <b>Micropipette. Labnet BioPette</b></li> <li>• <b>Réfractomètre numérique à main PAL&lt;PAL-2, 3&gt;</b></li> <li>• <b>Réfractomètre RHB-90 ATC</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pipette pasteur</li> <li>• Barreau d'agitation magnétique</li> <li>• Bêchers</li> <li>• Capsule en verre</li> <li>• Entonnoir</li> <li>• Eprouvette en verre</li> <li>• Erlenmeyers</li> <li>• Fioles jaugées</li> <li>• flacons verre</li> <li>• Pince de laboratoire</li> <li>• Pipettes graduée</li> <li>• pipettes pasteur</li> <li>• Pissettes d'eau distillée</li> <li>• Portoir pour les tubes</li> <li>• Spatule</li> <li>• papier filtre de Whatman</li> <li>• Boite de pître</li> <li>• <u>Tube en vert</u></li> <li>• Papier aluminium</li> </ul>

## Annexe 04. Composition des milieux de culture et des solutions

Milieux et solution	Composition
<b>(M.H) Muller Hinton</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrait de viande 2g</li> <li>• Caséine 17,5g</li> <li>• Amidon 1,5g</li> <li>• Agar 15g</li> <li>• Glucose 20g</li> <li>• E.D 1000ml</li> <li>• pH <math>3 \pm 0,2</math></li> </ul> Autoclaver à 120°C/20 min <ul style="list-style-type: none"> <li>• ou 38g de poudre déshydratée de Muller Hinton</li> </ul>
(G.N) gélose nutritif	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrait de viande 10g</li> <li>• Extrait de levure 2g</li> <li>• Peptone 10g</li> <li>• Na Cl 5g</li> <li>• Agar 15g</li> <li>• E.D 1000ml</li> <li>• Ph <math>3 \pm 0,2</math></li> </ul>
(E.D) Eau physiologique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na Cl 9g</li> <li>• E.D 1000ml</li> </ul>
DPPH*(0,04mg/ml)	1 mg dans 25 ml de méthanol
Réactif de Bradford	BBC G-250-100 mg. Ethanol absolu.50 ml. Acide phosphorique à 85%.100 ml. Compléter à 1000 ml avec l'eau distillée. Conservation pendant 3 semaines à 4 °C et à l'abri de la lumière.

عسل النحل مادة غذائية و دوائية غنية بالسكريات، يتم تصنيعه من رحيق الزهور أو من المفرزات العسلية لبعض الحشرات التابعة لرتبة متجانسة الأجنحة مثل المن عند ندرة الأزهار، يتميز بخصائص و تراكيب مختلفة. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والأنشطة المضادة للأوكسدة (DPPH) وكذلك النشاط المضاد للبكتيريا للعسل وحده وارتباطه بالمضادات الحيوية. النشاط اختبر وثبت ع ثلاث سلالات : *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* و *Pseudomonas.aerogénosa* ثمانية عينات عسل القادمة من مناطق مختلفة من الجزائر وهي بومرداس ، تيارت ، تيزي وزو ، بسكرة و تامنراست. وتظهر نتائج معايير الجودة لتحليل العسل أن هذه العينات هي من نوعية جيدة وفقا للمعايير الدولية. دراسة القدرة المضادة للأوكسدة من خلال طريقة DPPH تكشف على أن عينات العسل تمتلك أنشطة مضادة للأوكسدة تختلف من العسل إلى آخر. أظهرت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا في العسل أن سلالة *S.aureus* و *E.coli* أكثر حساسية على عكس *P.aerogénosa* الغير حساسة من العسل وحده أو بجمع العسل مع المضادات الحيوية. بينما في اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لمزيج العسل مع المضادات الحيوية ضد سلالة *S.aureus* و *E. coli* ، تمت ملاحظة ثلاثة أنواع من التفاعلات (الخصوم ، غير مباين والتآزري)

## Résumés

Le miel est une substance sucrée que les abeilles fabriquent à partir du nectar des fleurs ou du miellat, ayant une composition chimique variable et des propriétés diverses. L'objectif principal de cette étude est la détermination des caractéristiques physico-chimiques, l'activité antioxydante (DPPH) ainsi que l'activité antibactérienne de miel seul et leur associations avec des antibiotiques sur trois souches, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas.aerogénosa* , de huit miels provenant dans différentes régions d'Algérie à savoir Boumerdes , Tiaret , Tizi-Ouzou , Biskra et Tamenghasset . Les résultats des analyses relatives aux paramètres de qualité sur les miels témoignent que ces échantillons sont de bonnes qualités par rapport aux normes internationales. L'étude de la capacité antioxydante par la méthode de DPPH révèlent que les huit miels analysés possèdent des activités antioxydantes qui diffèrent d'un miel à un autre. Les tests de l'activité antibactérienne des miels ont montré que la souche *S.aureus* et *E. coli* sont plus sensibles contrairement la *P.aerogénosa* qu'est non sensible que se soi aux miel seul ou en association avec des antibiotique. Tandis que lors d'association Miel/ATBs contre *S.aureus* et *E. coli* , trois types d'interactions sont observés (antagonistes, indifférentes et synergiques)

**Mots clés :** miel, propriétés physico-chimiques, activité antioxydante DPPH , activité antibactérienne et association Miel /ATBs

## Summary

Honey is a sweetened substance that the bees make from the nectar of the flowers or the honeydew, which has a variable chemical composition and several properties. The main of this study is the determination of the physicochemical characteristics, the antioxidant activity (DPPH) as well as the antibacterial activity of honey alone, and their association with different family of antibiotics on three stocks, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas.aerogénosa* , of eight honeys coming in various Algerian areas like Boumerdes , Tiaret , Tizi-Ouzou , Biskra and Tamenghasset. The results of the analyses relating to the parameters of quality on honeys reveal that these samples are of good quality by international standards. The study of the antioxidant capacity by the method of DPPH reveal that eight analyzed honeys have antioxidant activities which different from honey to another. The tests of antibacterial activity of honey have shown that the strain *S. aureus* and *E. coli* are more sensitive unlike the *P.aerogénosa* what is so insensitive to the honey alone or in combination with antibiotic. While during association Honey / ATBs against *S. aureus* and *E. coli*, three types of interactions are observed (antagonists, indifferent and synergistic).

**Key words:** honey, physicochemical properties, antioxidant activity DPPH, antibacterial activity and association honey / ATBs