

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université D<sup>r</sup>. Tahar Moulay SAIDA

Faculté de Technologie

Département de Génie des procédés



جامعة د الطاهر مولاي سعيدة

كلية التكنولوجيا

قسم : هندسة الطرائق

## ***MEMOIRE DE FIN D'ETUDE***

***Pour l'obtention du diplôme Master***

**En Génie des procédés**

***Option: Génie Pharmaceutique***

Présenté par :

**GUETTAF MOUNIA et SENNOUR MOKHTARIA**

Thème :

***L'effet de quelques paramètres physico-chimiques sur  
la qualité et l'activité pharmacologique des miels  
d'origine Algérienne***

*Soutenu le 19/06/2023*

**Devant le jury :**

**Mr. M. ADJDIR**

**Professeur**

**Université de Saida**

**Président**

**Mme. M. TOUHAMI**

**Maître de Conférences B**

**Université de Saida**

**Examinatrice**

**Mr. A. BENHELIMA**

**Maître de Conférences A**

**Université de Saida**

**Rapporteur**

***Promotion : 2022-2023***

## *Remerciements*

Nous tenons pour cela, et en premier, à remercier notre bon Dieu tout Puissant de nous avoir donné la force d'aller au bout de ce travail.

Ce présent travail qui est le résultat d'un dur labeur, n'aurait été possible sans le soutien indéfectible de notre promoteur **A. BENHELIMA** maître de conférence classe A, enseignant à l'université Dr. TAHAR MOULAY, Saida. Il a su orienter, conseiller, écouter et répondre à nos questionnements sans répit. Nous le remercions pour sa disponibilité, sa patience et sa bonne volonté et tout le savoir qu'il nous a inculqué.

Nous remercions monsieur **M. ADJDIR** professeur, enseignant à l'université Dr. TAHAR MOULAY, Saida d'avoir accepté de présider notre jury de mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

Nos remerciements vont également au docteur **M. TOUHAMI** maître de conférence classe B, enseignante à l'université Dr. TAHAR MOULAY, Saida d'avoir accepté de juger ce modeste travail et de faire partie du jury de ce mémoire. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre respectueuse gratitude.

Nos sincères remerciements et gratitude s'adressent à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation de licence et de master au sien de notre faculté.

# Dédicaces

أشكر الله العليّ القدير الذي أنعم عليّ بنعمة العقل والدين. القائل في محكم التنزيل “وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ” سورة يوسف آية 76.... صدق الله العظيم

وقال رسول الله (صلي الله عليه وسلم): “من صنع إليكم معروفاً فكافنوه، فإن لم تجدوا ما تكافنونه به فادعوا له حتى تروا أنكم كافتموه” ..... (رواه أبو داود).

الحمد لله الذي وفقنا لتثمين هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية فمذكرتنا هذه ثمرة الجهد و النجاح بفضلته تعالى مهداة إلى الوالدين الكريمين حفظهما الله و أدامهما نورا لدرربي و أيضا وفاء و تقديرا مني بالجميل أتقدم بجزيل الشكر لأولئك المخلصين الذين لم يألوا جهدا في مساعدتنا في مجال البحث العلمي. وأخص الأستاذ الفاضل عبد القادر بن حليلة على هذه الدراسة و صاحب الفضل في توجيهي و مساعدتي في تجميع المادة البحثية فجزاه الله كل الخير و لا أنسى أن أتقدم بجزيل الشكر لأستاذة الفاضلة توهامي مفيدة التي قامت بتوجيهنا طيلة هذه الدراسة . وإلى من بهم أكبر وعليهم أعتد وإلى من بوجودهم أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها وإلى من عرفت معهم معنى الحياة “إخوتي وأخواتي” وإلى من تحلوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء وإلى من برفقتهم في دروب الحياة السعيدة والحزينة سرت وإلى من كانوا معي على طريق النجاح والخير “أصدقائي الأعزاء” بتوفيق من الله

إلى كل من كان لهم اثر على حياتي و إلى كل من أحبهم قلبي و نسيهم قلمي

مونية





## ***DEDICACE***

*Je dédie ce travail à :  
Mes très chers parents qui m'ont guidé durant  
les moments les plus pénibles de ce long  
chemin.*

*Ma mère qui a été à mes côtés et ma  
soutenu durant toute ma vie, et mon père  
qui a sacrifié toute sa vie.  
A fin de me voir devenir ce qui je suis,  
qu'ALLAH le tout puissant, les  
protégeant et gardent.*

*Mes frères et Sœurs  
et à Les fils de ma sœur Joud ; Tasnim ; Serine.*

*Et mes amies de génie pharmaceutique et  
touts ceux qui m'aiment et que j'aime.*

*Mokhtaria*



## Liste des abréviations

**%** : pourcentage

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**°C** : Degré Celsius

**Mg** : Milligramme

**Kg** : kilogramme

**S/cm** : Siemens par centimètre

**μS/cm** : micro Siemens par centimètre

**m/v** : masse par volume

**km** : Kilomètre

**g** : gramme

**m** : mètre

**min** : minute

**mg GAE / g** : mg d'équivalent d'acide gallique par gramme

**mL** : millilitre

**g/L** : gramme par litre

**QE/100 g** : mg d'équivalent de Quercétine

**Veq** : volume équivalent

**NaNO<sub>2</sub>** : Le nitrite de sodium

**Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** : Le nitrate d'aluminium

**FT-IR** : spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier

**IR** : indice de réfraction

**HPLC**: High Performance Liquid Chromatographic

***E. coli*** : Escherichia coli

***S. aureus*** : Staphylococcus aureus

***C. albicans*** : Candida albicans

**BBD** : (Bordered Block Diagonal) Diagonale de bloc bordée

**TPC** : Total phénol content

**TFC** : Total flavonoïdes content

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Le miel.....	05
2	Pots de miel de différentes couleurs.....	07
3	Couteau à désoperculer.....	08
4	Cadres désoperculés dans le panier de l'extracteur.....	08
5	Filtre situé dans la partie supérieure du maturateur et servant à séparer le miel et divers débris (cire, abeilles ...). .....	08
6	Maturation du miel.....	09
7	Conditionnement du miel.....	09
8	Ronde des arômes de miels.....	12
9	Composition moyenne de miel.....	13
10	Structure de Hydroxyméthylfurfural (HMF).....	16
11	Schéma réactionnel de l'enzyme au contact avec le glucose.....	17
12	Carte géographique représentant les zones de collecte.....	22
13	pH-mètre.....	23
14	Test de détermination d'acidité libre.....	23
15	Détermination de conductivité électrique.....	24
16	Détermination de taux d'humidité.....	25
17	Détermination des impuretés.....	26
18	Détermination de la teneur des polyphénols totaux "TPC".....	26
19	Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux "TFC".....	27
20	Activité antimicrobienne.....	28
21	Résultats de détermination de pH des échantillons de miel.....	31
22	Résultats de variation d'acidité libre des échantillons de miel.....	32
23	Résultats de mesure de la conductivité électrique des échantillons de miel.....	33
24	Résultats de détermination de l'humidité des échantillons de miel.....	34
25	Résultats de quantification des impuretés des échantillons de miel.....	35
26	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	35
27	Résultats de la teneur en polyphénols totaux des échantillons de miel.....	36
28	Courbe étalonnage de Quercétine.....	37
29	Résultats de la teneur en flavonoïde des échantillons de miel.....	37
30	Spectre FTIR de la variété de miel de Béchar (1).....	38

31	Spectre FTIR de la variété de miel de Saida (2).....	39
32	Diagramme de Pareto pour variété de miel de Béchar (1).....	43
33	Comparaison du zone d'inhibition prévu et observé des différentes espèces pour la variété du miel de Béchar.....	44
34	Surfaces des réponses de la zone d'inhibition des espèces <i>E. coli</i> , <i>S aureus</i> et <i>C. albicans</i> pour la variété du miel de Béchar à t =12,5 min.....	45
35	Diagramme de Pareto pour variété de miel de Saida (2).....	49
36	Comparaison du zone d'inhibition prévu et observé des différentes espèces pour la variété du miel de Saida.....	50
37	Surfaces des réponses de la zone d'inhibition des espèces <i>E. coli</i> , <i>S aureus</i> et <i>C. albicans</i> pour la variété du miel de Saida à t =12,5 min.....	51

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Principales différences entre miels du nectar et de miellat.....	06
2	Composition Principales de miels en vitamines et minéraux.....	14
3	Lieu de collecte et origine botanique des échantillons de miel.....	21
4	Localisation et climat des zones de collecte.....	22
5	Les facteurs étudiés et leurs domaines de variation.....	29
6	Quelques critères physico-chimiques étudiés pour les deux variétés de miel.....	31
7	Matrice de Box-Behnken des zones d'inhibition pour la variété de miel de Béchar (1).....	40
8	Paramètres statistiques de la conception Box-Behnken de la zone d'inhibition pour la variété de miel de Béchar.....	41
9	Les conditions optimales des zones d'inhibition (théorique et expérimentale) des différents espèces microbiennes pour la variété du miel de Béchar.....	46
10	Matrice de Box-Behnken des zones d'inhibition pour la variété de miel de Saida (2).....	47
11	Paramètres statistiques de la conception Box-Behnken de la zone d'inhibition pour la variété de miel de Saida.....	48
12	Les conditions optimales des zones d'inhibition (théorique et expérimentale) des différents espèces microbiennes pour la variété du miel de Saida.....	52
13	Résultats d'activité antimicrobienne de différentes espèces microbiennes sur la variété du miel de Béchar et détermination des teneurs TPC et TFC.....	53
14	Résultats d'activité antimicrobienne de différentes espèces microbiennes sur la variété du miel de saida et détermination des teneurs TPC et TFC.....	54

## **Résumé :**

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, les miels d'Ouest et Sud-ouest Algérienne, ont fait l'objet de notre étude.

Dans cette étude, l'effet combiné de pH (2 à 6), la température (40 à 80 °C) et le temps de chauffage (5 à 20 min) ont été évalués sur le potentiel d'activité antimicrobienne, teneur en phénols totaux (TPC) et teneur en flavonoïdes totaux (TFC) des miels de Saida et Béchar tout en utilisant la méthodologie de plans d'expérience.

Les analyses physico-chimiques dont la conductivité électrique, le rapport d'humidité, le pH et l'acidité libre exécutés sur nos échantillons de miel soutiennent leurs utilisations en médecine traditionnelle vu les valeurs qui sont inférieures à la limite des normes de codex européennes et mondiales.

Les analyses statistiques ont montrés que toutes les variables de processus avaient un effet significatif sur les réponses liées à l'activité antimicrobienne, TFC et TPC traduit par leurs hausses tout on optimisant ces paramètres. Le pH bas et le temps de chauffage prolongé à une température de 60 °C s'est avérée plus efficace en terme d'activité antimicrobienne.

**Mots clés :** Miel, Analyses physico-chimiques, TPC, TFC, Activité antimicrobienne, Plans d'expérience.

## **Abstract :**

Within the framework of a valuation of natural resources, the honeys of West and South-West Algeria were the subject of our study.

In this study, the combined effect of pH (2 to 6), temperature (40 °C to 80°C) and heating time (5 to 20 min.) was evaluated on the potential for antimicrobial activity, total phenols (TPC) and total flavonoids content (TFC) of honeys from Saida and Béchar using the design of experiments methodology.

Physico-chemical analyzes including electrical conductivity, moisture ratio, pH and free acidity performed on our honey samples support their uses in traditional medicine given the values that are below the limit of world and European standards Codex.

Statistical analysis showed that all process variables had a significant effect on the responses related to antimicrobial activity, TFC and TPC reflected by their increases while optimizing these parameters. The low pH and prolonged heating time at a temperature of 60°C was found to be more effective in terms of antimicrobial activity.

**Keywords :** Honey, Physico-chemical analyses, TPC, TFC, Antimicrobial activity, Experiment plans.

#### ملخص:

في إطار استثمار الموارد الطبيعية ، كان عسل غرب وجنوب غرب الجزائر موضوع دراستنا. في هذه الدراسة ، تم تقييم التأثير المشترك لدرجة الحموضة (2 إلى 6) ودرجة الحرارة (40 إلى 80 درجة مئوية) ووقت التسخين (من 5 إلى 20 دقيقة) على إمكانات النشاط المضاد للميكروبات ، وإجمالي محتوى الفينولات (TPC) وإجمالي محتوى مركبات الفلافونويد. (TFC) من عسل سعيدة وبشار باستخدام منهجية تصميم التجارب. تدعم التحليلات الفيزيائية والكيميائية بما في ذلك التوصيل الكهربائي ونسبة الرطوبة ودرجة الحموضة والحموضة الحرة التي يتم إجراؤها على عينات العسل لدينا استخداماتها في الطب التقليدي نظرًا للقيم التي تقل عن حدود معايير المرجع الغذائي الأوروبي والعالمي. أظهر التحليل الإحصائي أن جميع متغيرات العملية كان لها تأثير كبير على الاستجابات المتعلقة بنشاط مضادات الميكروبات ، TFC و TPC التي انعكست من خلال زياداتها مع تحسين هذه العوامل. في الأخير وجد أن انخفاض درجة الحموضة ووقت التسخين المطول عند درجة حرارة 60 درجة مئوية أكثر فعالية من حيث النشاط المضاد للميكروبات.

**الكلمات المفتاحية :** العسل ، التحليلات الفيزيائية والكيميائية ، TPC ، TFC ، نشاط مضادات الميكروبات ، مخطط التجارب.

# Sommaire

Introduction générale.....	01
Références bibliographiques.....	03

## Partie Bibliographique

### Chapitre I: Généralité sur le miel

I.1. Historique .....	04
I.2. Définition du miel.....	04
I.3. Les différents types de miel.....	05
I.3.1. Miels mono floraux .....	05
I.3.2. Les miels poly floraux .....	05
I.4. L'origine de miel .....	05
I.4.1. Miel de nectar .....	06
I.4.2. Miel de miellat.....	06
I.5. Les miels Algériens .....	06
I.6. Pourquoi le miel possède t-il plusieurs couleurs ?.....	07
I.7. La fabrication du miel.....	07
I.7.1. La récolte.....	07
I.7.1.1. Extraction.....	08
I.7.1.2. Filtration.....	08
I.7.1.3. Maturation.....	09
I.7.1.4. Conditionnement du miel.....	09
I.8. Le rôle biologique de l'abeille.....	09
I.8.1. L'abeilles est un bio-indication.....	09
I.8.2. L'abeille est une bonne pollinisation.....	10
I.8.3. Formation du miel.....	10
Références bibliographiques.....	11

### Chapitre II : Propriétés biologiques du miel

II.1. Caractérisation et composition du miel.....	12
II.1.1. Caractéristique organoleptique.....	12
II.1.2. Composition chimique.....	12
II.1.3. Composition physique.....	15
II.2. Les propriétés du miel.....	16

II.2.1. Propriété thérapeutique du miel.....	16
II.2.2. Propriété cicatrisants du miel.....	16
II.2.3. Propriété anti bactériennes du miel .....	17
II.2.4. Propriété anti-oxydante du miel.....	17
II.3. La contamination du miel.....	17
II.3.1. La contamination chimique .....	17
II.4. Paramètres de contrôle de qualité et normes internationales .....	18
II.4.1. Qualité du miel.....	18
II.4.2. Facteurs essentiels de composition et de qualité.....	18
Références bibliographiques .....	19

## **Partie Pratique**

### **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

III.1. Objectif du travail.....	21
III.2. Produits apicoles (Miel) .....	21
III.3. Présentation des zones de collecte .....	21
III.3.1. Béchar.....	21
III.3.2. Saïda.....	21
III.4. Analyses des paramètres physico-chimiques .....	22
III.4.1. pH .....	22
III.4.2. Acidité libre .....	23
III.4.3. Conductivité électrique .....	24
III.4.4. Détermination de taux d'humidité .....	24
III.4.5. Chercher des impuretés .....	25
III.4.6. Détermination de la teneur des polyphénols totaux «TPC».....	26
III.4.7. Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux «TFC » .....	26
III.4.8. Analyse FT-IR .....	27
III.4.9. Activité antimicrobienne .....	27
III.5. Préparation des plans d'expérience.....	28
III.5.1. Objectifs .....	28
III.5.2. Détermination des facteurs et du domaine d'étude.....	28
III.5.3. Réponses.....	29
III.5.4. Analyse statistique.....	29
Références bibliographiques.....	30

## Chapitre IV: Résultats et Discussion

IV.1. Analyses physico-chimiques .....	31
IV.1.1. pH (potentiel d'Hydrogène) .....	31
IV.1.2. Acidité libre .....	32
IV.1.3. La conductivité électrique.....	33
IV.1.4. Détermination de l'humidité.....	34
IV.1.5. Détermination de taux des impuretés.....	34
IV.2. Détermination des teneurs des polyphénols et flavonoïdes totaux.....	35
IV.2.1. Détermination de la teneur des polyphénols totaux (TPC).....	35
IV.2.2. Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux (TFC).....	36
IV.3. Analyse FT-IR.....	38
IV.3.1. Variété de miel de Béchar (1).....	38
IV.3.2. Variété de miel de Saida (2).....	39
IV.4. Résultats du plan d'expérience .....	39
IV.4.1. Optimisation pour l'activité antimicrobienne.....	40
IV.4.1.1. Variété de miel de Béchar (1).....	40
IV.4.1.2. Variété de miel de Saida (2).....	46
IV.5. Résultats d'activité antimicrobienne.....	52
IV.5.1. Variété de miel de Béchar (1).....	53
IV.5.1. Variété de miel de Saida (2).....	54
Références bibliographiques.....	56
Conclusion générale.....	58

## ***Introduction générale***

---

*Nos Seigneur révéla aux abeilles: «Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres, et les treillages que [les hommes] font (68). Puis mangez de toute espèce de fruits, et suivez les sentiers de votre Seigneur, rendus faciles pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour des gens qui réfléchissent (69). (Sourate El Nahl : verset 68 – 69).*

Le miel est considéré par le Coran, comme un des aliments majeurs et bénéfiques pour la santé des hommes. Connu, depuis les temps les plus reculés, le miel est la substance naturelle sucrée, produite par les abeilles mellifiques à partir de nectar et/ou de miellat [1]. Cette abeille (*Apis mellifera*) constitue un organisme vivant indispensable à l'équilibre environnemental dans le monde en tant que pollinisateur de très nombreuses espèces végétales [2].

De nos jours, le miel est l'une des denrées alimentaires les plus appréciées par l'homme en raison de ses saveurs, arômes et vertus énergétiques [3]. Effectivement, le miel contient de nombreux principes actifs (peroxyde d'hydrogène, lysozyme, acide phénolique, flavonoïdes, etc.), le attribuant diverses propriétés biologiques dont les plus importantes sont antibactériennes, antioxydants, anti-inflammatoires, antifongiques, gastro-intestinales et hépatiques [4].

Cependant, devant la complexité de sa composition, la qualité des miels consommés à travers le monde dépend de nombreux facteurs biologiques, climatiques et écologiques. Actuellement, en Algérie comme dans toutes les pays de monde, le miel constitue un sujet à un certain nombre de spéculations par rapport à son origine et ses qualités physico-chimiques. Il est reconue qu'un miel correctement traité et bien conservé, reste un produit de bonne qualité qui gardera l'essentiel de ses qualités organoleptiques et biologiques d'origine, jusqu'en fin de vie.

C'est dans cette thématique, que nous cherchons à optimiser la qualité et le pouvoir pharmacologique, spécialement antimicrobien de nos miels de différentes régions Algérien à savoir ; Béchar et Saïda via quelque paramètres physico-chimiques à savoir le pH, la température et le temps de chauffage toute en respectant les normes du Codex alimentaires.

Pour cela, notre étude sera scindée en trois parties :

- ❖ Dans une première partie nous présenterons les connaissances bibliographiques actuelles sur le miel, en particulier l'aspect physico-chimique en relation avec l'origine botanique ainsi que ces principales propriétés biologiques ;



## *Introduction générale*

---

- ❖ Dans une deuxième partie expérimentale, nous présenterons le choix et l'échantillonnage effectué ainsi que les différentes méthodes utilisées pour les analyses physico-chimiques et microbiologique ;
- ❖ En troisième partie, nous présenterons les différents résultats obtenus et qui seront confrontés à la synthèse bibliographique.

Enfin, suite aux différentes investigations réalisées, nous concluons par notre contribution à ce travail de recherche.



### **Référence bibliographique :**

- [1]. **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., Hacini, Z.** Étude physico-chimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*. 2014. 10, 37-49.
- [2]. **Boucif O.**, Etude comparative de la diversité floristique de trois stations de Remchi (Wilaya de Tlemcen) et estimation de la qualité du miel récolté. Université de Tlemcen. Mémoire de Master. 2017. pp 52.
- [3]. **BELHAJ, O., OUMATO, J., ZRIRA, S.** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 2015. 3(3), 71-75.
- [4]. **Bakas, S., Reyes, M., Jakab, A., Bauer, S., Rempfler, M., Crimi, A., ... Jambawalikar, S.R.** Identifying the best machine learning algorithms for brain tumor segmentation, progression assessment, and overall survival prediction in the BRATS challenge. *arXiv preprint arXiv:1811.02629*. 2018.
- [5]. **Nayik, G.A., Nanda, V.**, Application of response surface methodology to study the combined effect of temperature, time and pH on antioxidant activity of cherry (*Prunus avium*) honey. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 2016. 66 (4), 287-293.



# Chapitre I

**I.1. Historique :**

Le saint Coran fait référence au miel, tel qu'Allah l'indique dans le Coran « le miel est curatif pour les hommes » "يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ" «**Sourate Ennahl 16, verset 69** », donc il n'ya pas une précision de type de miel ou de maladies traiter.

La plus ancienne représentation des relations Homme-abeille date de la période du Néolithique : elle concerne une peinture rupestre datant de 7 000 ans avant Jésus-Christ, trouvée sur les parois d'une grotte espagnole "grotte de l'Araignée" (cueva de aralia) de la région de Valence, montrant une silhouette humaine pratiquant la récolte du miel. On lui reconnaît aussi depuis la plus haute antiquité des propriétés médicinales préventives et curatives qui ont été longtemps utilisées empiriquement [1].

Les égyptiens connaissaient bien le miel dont ils se servaient mélangé à de la propolis pour embaumer leurs morts. Ils l'utilisaient également pour panser les blessures et pour soigner les yeux [1]. Les philosophes grecs Démocrite et Pythagore, affirmaient que leur exceptionnelle longévité était due à leur consommation régulière de miel. [1]

Lors des jeux Olympiques les athlètes buvaient de l'eau miellée pour recouvrer rapidement leurs forces. Hippocrate père spirituel de la médecine, conseillait le miel dans le but de prolonger l'existence dans toute sa vigueur. Il faisait du miel un fortifiant de la vue et des organes sexuels, un remède contre les douleurs d'oreille et un cicatrisant efficace des plaies de toutes sortes. Nikandros de Colophon donne des formules à base de miel : ce sont les fameuses thériaques [1].

Toujours selon Ibn-Al Qayyim, le Prophète (Sala Allahu Alayhi wa Salam) prenait du miel Avec de l'eau froide. C'était un bon remède pour préserver sa santé et s'entretenir. Le miel est un produit naturel (sucré, parfumé), fabriqué par les abeilles Apis Mellifère, à partir des nectars ou des sécrétions des plantes [2].

D'après Bogdanov et al, La couleur du miel est également associée à sa saveur. Il existe plusieurs couleurs de miels :

- Les miels de couleur claire est placide,
- Les miels de couleur plus foncée qui ont des goûts plus prononcés. Ces derniers renferment plus de dérivés d'acide phénoliques mais moins de flavonoïdes que ceux de couleur claire.

**I.2. Définition du miel :**

Le miel (Fig. 1) est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles ; apis mellifère à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche [3].



**Fig. 1 :** Le miel

### **I.3. Les différents types de miel :**

#### **I.3.1. 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 bien sûr d'installer des ruches à proximité de la plante recherchée. Si de très nombreux végétaux possèdent des qualités mellifères, un nombre restreint d'entre eux permet une production mono florale caractéristique.

Parmi les grands crus, on peut citer les miels d'acacia, de lavande, de romarin, etc. Ils sont bien caractérisés et produits en quantité non négligeable. Les crus rares sont les miels de framboisier, de serpolet, d'arbousier ou de rhododendron. Leur production est limitée car ils sont élaborés sur des territoires exigus. On peut également citer les miels mono floraux de cerisier, d'aubépine, de bleuet, de bourdaine, de bruyère, d'épilobe, de lierre, de luzerne, de houx, de moutarde des champs, de pissenlit, de chardon, de ronce, de sainfoin, de Sarrazin, de saule, de thym, de trèfle, de chêne, d'eucalyptus, de sapin, et de clémentinier notamment [4].

#### **I.3.2. Les 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 précise soit l'aire de production (région, département, massif...), soit un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigue, maquis, forêt...) [4].

### **I.4. L'origine de miel :**

Il existe deux types de miel, miels de miellat et du nectar. Leur composition chimique diffère selon plusieurs paramètres (pH, teneur en minéraux, profil des glucides...) [5].



**I.4.1. Miel de nectar :**

Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales nommées nectarifère. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'aire, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant [5].

Le nectar; exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % de sucres, les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de ces sucres sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc.), des protéines notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine, serine, tyrosine, etc.), et des composés inorganiques (comme les phosphates) [6].

**I.4.2. Miel de miellat :**

Il s'agit d'un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout puce-rons). Ces insectes piqueurs perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève, et rejettent des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés. Le miellat est plus dense en sucre que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes (comme le mélezitose ou les maltoses) [6].

Selon leurs recueille (tableau 1), on distingue deux variétés de miel, miel de nectar recueilli dans la fleur et miel de miellat recueilli sur la plante .

**Tableau 1 :** Principales différences entre miels du nectar et de miellat [7].

Composante	Miel de miellat	Miel de nectar
pH	4.5%	3.9 %
Minéraux	0.58%	0.26%
Fructose et glucos	61.6%	74 %
Raffinose	0.84%	0.03 %
Maltose + isomaltose	9.6%	7.8%

**I.5. Les miels Algériens :**

L'activité apicole est intimement dépendante des ressources mellifères dont dispose le pays et qui sont très riches et variées. L'apiculture est pré-dominante dans les régions suivantes :

- **Zone de littoral :** miel d'agrumes et eucalyptus ;



- **Zone de montagne** : Kabylie ; miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère ;
- **Hauts plateaux** : miel de sainfoin, romarin et jujubier ;
- **Maquis et forêts** : miel toutes fleurs et miellat

La production nationale en miel est estimée en moyenne à 33 000 Kg pour l'année 2011 avec un rendement de 4 à 8 Kg/ruche, ce qui est très faible par rapport aux potentialités mellifères qu'offre notre pays. En 2011 l'Algérie a introduit plus de 150.000 Tonne de miel de Chine, d'Inde et d'Arabie Saoudite [8].

### **I.6. Pourquoi le miel possède t-il plusieurs couleurs ?**

Le miel peut présenter une coloration d'une très grande variabilité qui peut aller d'une teinte presque incolore au brun sombre (Fig. 2) sous l'effet de plusieurs facteurs tels que:

- L'origine botanique ;
- La composition : Le miel foncé est plus riche en matières minérales (manganèse, fer, cuivre et l'azote) ;
- La cristallisation qui provoque une modification de la teinte originale du miel ; [8]



**Fig. 2** : Pots de miel de différentes couleurs [9].

### **I.7. La fabrication du miel :**

Dans le domaine de la technologie du miel, de distinguer deux phases :

- Celle de la récolte,
- Celle du conditionnement et de la conservation.

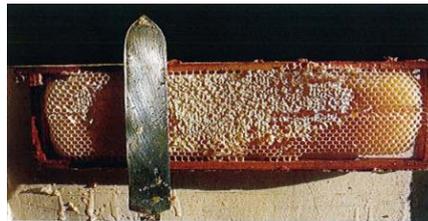
Le miel étant un produit acide, il est susceptible de corroder les parties métalliques des appareils, c'est pourquoi l'emballage est fabriqué en plastique alimentaire ou en métal inoxydable [10].

#### **I.7.1. La récolte :**

La récolte du miel (Fig. 3) peut se pratiquer dès la fin de la miellée quand la ruche est devenue très lourde (mi-avril, mi-mai). L'apiculteur retire les cadres de miel, mais en laissant aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver, si la saison est avancée. C'est pourquoi la ruche est divisée en



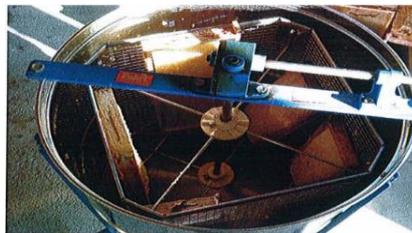
deux parties : une partie inférieure, le corps, qui contient de hauts rayons garnis non seulement de miel, mais aussi de pollen et de couvain : il ne faut pas y toucher. Au-dessus est placée la hausse garnie de cadres moitié moins hauts, qui ne contient en général que du miel : c'est d'elle que l'apiculteur va obtenir sa récolte. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, il transporte les hausses dans la miellée, et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer [10].



**Fig. 3 :** Couteau à désoperculer [11].

#### **I.7.1.1. Extraction :**

Cette extraction va être réalisée à l'aide d'un extracteur (Fig. 4) ou d'une centrifugeuse qui projette le miel sur les parois de la machine [12]. Ces opérations sont effectuées à température sensiblement supérieure à la normale (30 à 35°C) [10].



**Fig. 4 :** Cadres désoperculés dans le panier de l'extracteur [11].

#### **I.7.1.2. Filtration :**

On utilise généralement des tamis à mailles grillagées placés sur le maturateur (Fig. 5), différents types de filtres... Certaines méthodes de filtration provoquent l'élimination de tous les grains de pollen présents dans le miel [10].



**Fig. 5 :** Filtre situé dans la partie supérieure du maturateur et servant à séparer le miel et divers débris (cire, abeilles ...) [11].



**I.7.1.3. Maturation :**

Une fois filtré, le miel doit encore reposer 1 à 5 jours à une température de 20°C minimum pour faire remonter à la surface l'ensemble des dernières impuretés (Fig. 6), moins denses que le miel. Cette écume est ensuite enlevée avant l'étape suivante [10].



**Fig. 6 :** Maturation du miel [11].

**I.7.1.4. Conditionnement du miel :**

Enfin, le miel est conditionné dans un récipient hermétique (Fig. 7). Le pot doit comporter une étiquette avec toutes les mentions légales (dénomination de vente, date de durabilité...). Le miel n'est pas un produit stérile, il contient toujours des germes inhibés comme des bactéries ou des levures. Pour éliminer ces agents pathogènes, une méthode pour stabiliser le miel est parfois employée, c'est la pasteurisation. Elle consiste à porter le miel à une température de 70-80°C en quelques minutes avant de le refroidir rapidement à 25°C. Une telle température détruit alors les enzymes, les sucres et les vitamines [12].



**Fig. 7 :** Conditionnement du miel [13].

**I.8. Le rôle biologique de l'abeille :****I.8.1. L'abeilles est un bio-indication :**

Le but de la bio-indication est d'utiliser des organismes vivants (végétaux, insectes ou animaux) pour indiquer la présence de polluants dans l'environnement. Ces organismes, appelés bio-indicateurs, permettent de mesurer naturellement le degré, les effets ainsi que l'étendue de la pollution. En connaissant les risques d'empoisonnement des bio-indicateurs,



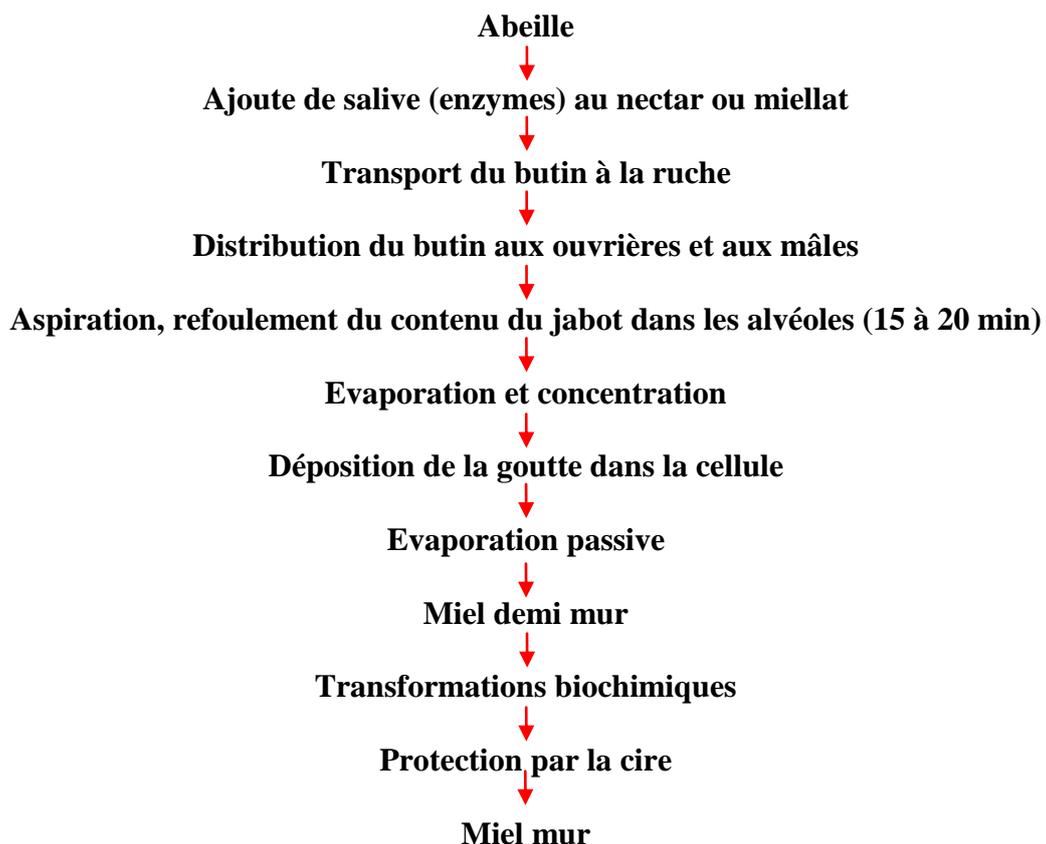
on peut interpréter des extrapolations sur les risques d'intoxication pour d'autres organismes, incluant l'être humain. Les lichens et les mousses sont des bio-indicateurs végétaux très reconnus. Toutefois, du côté animal, l'abeille domestique joue aussi un rôle hors paire dans la détection de la pollution [14].

**I.8.2. L'abeille est une bonne pollinisation :**

La pollinisation est la méthode de reproduction pour les plantes à fleurs et la façon de créer des fruits pour les arbres fruitiers. Ceux-ci utilisent le pollen provenant des étamines pour transmettre leurs gamètes mâles aux gamètes femelles localisées dans les stigmates. Le vent est un véhicule utilisé pour certaines fleurs mais ce n'est pas le plus efficace. La pollinisation de la plupart, comme les plantes entomophiles, est avantagée par la présence des insectes [14].

**I.8.3. Formation du miel :**

La formation du miel se fait selon les étapes suivantes : [15]



**Références bibliographique :**

- [1]. Viel C., Doré J. C. Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche. *Revue d'histoire de la pharmacie*, 2003. 91(337), 7-20.
- [2]. Bogdanov S., Ruoff K., Oddo Persano L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys – A Review. *Apidologie*, 2004. 35: S4-S17.
- [3]. **Organization Mondiale de la santé. Codex Alimentarius.** Norme pour le miel. CXS 12-1981. Adoptée en 1981. Révisée en 1987 et 2001. Amendée en 2019.
- [4]. Bonté F., Desmoulière A. Le miel: origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 2013. 52(531), 18-21
- [5]. Sana H. Etude des propriétés physicochimiques et antioxydants du miel soumis au vieillissement accéléré. Mémoire de master. Université A. MIRA Bejaia. 2017. p 40.
- [6]. Desmoulière A. Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes. *Actualités Pharmaceutiques*, 2013. 52 (531), 17-17.
- [7]. BOUZID G.H., HATTAB. H., KHATTOU. F. Etude physicochimique et évolution des activités biologique du miel de pégane (PEGANUM harmale). 2017. Mémoire-université IBN KHALDOUN –Tiaret.
- [8]. Oudjet K. «Le miel une denrée à promouvoir». *Infos-CACQE*, 2012. p.1.3
- [9]. Anonymat. Miel in France [en ligne]. Disponible sur : [http://www.mielinfrance.fr/media/fotolia\\_18132736\\_xs\\_028639900\\_1058\\_17122012.jpg](http://www.mielinfrance.fr/media/fotolia_18132736_xs_028639900_1058_17122012.jpg), consulté le 19/05/2023
- [10]. Emmanuelle H., Julie C., Laurent G. Les Constituants Chimiques du Miel. *Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole*. 1996.
- [11]. Hoyet C. *Le miel: de la source à la thérapeutique* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré). 2005.
- [12]. Mermoz C. Intoxication au miel fou : état des lieux des connaissances actuelles. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Claude Bernard Lyon 1. 2015.
- [13]. Polus P. Récolte et conditionnement du miel. *Revue l'abeille de France*, 2007. 937
- [14]. Laramée S. L'abeille domestique comme bio-indicateur écotoxicologique de polluants : le cas de l'insecticide imidaclopride. sherbrooke, québec, canada. 2007. pp : 7.73e11
- [15]. Sekkoun S. Activité anti microbienne de propolis-miel. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire. 2019. UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE Tiaret.



# Chapitre II



Le miel est un produit très complexe .Sa fabrication demande plusieurs étapes. En effet, la composition qualitative de miel (Fig. 9) est soumise à de nombreux facteurs très variables qu'il est impossible de maîtriser tels que : la nature de la flore visitée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie [4].

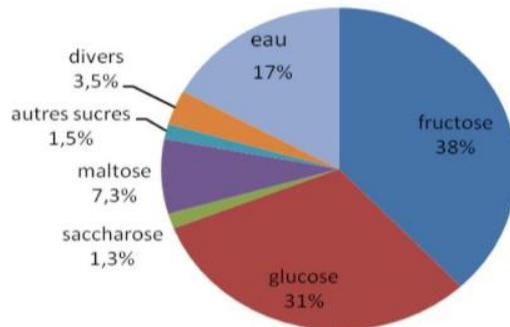


Fig. 9 : Composition moyenne de miel [4].

➤ **Sucre :**

Les sucres sont les principaux constituants du miel. Ils sont constitués de 75% de monosaccharides (glucose et fructose ou lévulose), 10 à 15% de disaccharides (maltose et saccharose) et un pourcentage plus faible des sucres qui restent [5].

➤ **L'eau :**

La teneur en eau des miels varie entre 17 et 25%. L'optimum se situe autour de 17%, car un miel trop épais est difficile à extraire et à conditionner, tandis qu'un miel trop liquide riche en eau risque de fermenter [4].

➤ **Enzyme :**

Les miels contiennent des enzymes qui viennent des abeilles ou des insectes qui ont rejeté les miellats (pucerons, cochenilles ...). Les enzymes sont des protéines fragiles qui vont se dégrader lentement et ce processus est accéléré par la chaleur [1].

➤ **Vitamines, minéraux et autres éléments :**

Le miel contient un nombre important de vitamines et minéraux (tableau 2). Leur faible quantité ne permet pas une contribution efficace en référence aux apports journaliers recommandés, hormis l'apport de calcium, manganèse et potassium non négligeable. Les vitamines du miel ont presque toujours leur origine dans les grains de pollen qu'il contient en suspension [6].



**Tableau 2 :** Composition Principales de miels en vitamines et minéraux [6].

Minéraux	Sodium, calcium, potassium, magnésium, phosphore, zinc, cuivre, fer, manganèse
Vitamine	K, B1, B2, B3, B5, B6, C.
Traces d'éléments	Aluminium, arsenic, barium, bore, brome, chlore, cobalt, flor, iode

➤ **Les acides aminés et protéines :**

Les protéines et les acides aminés contenus dans les miels sont attribués à la fois à des sources animales et végétales, y compris les fluides et les sécrétions de nectar des glandes salivaires et du pharynx des abeilles.

- ❖ Les acides aminés sont responsables de 1% (masse/masse) des constituants du miel et leurs proportions relatives dépendent de l'origine du miel (nectar ou miellat).
- ❖ La teneur en protéines du miel varie selon les espèces d'abeilles. Le miel d'Apis cerna contient de 0,1 % à 3,3 % de protéines, tandis que le miel d'Apis mellifère contient entre 0,2 % et 1,6 % de protéines [5].

➤ **Glucides :**

Les glucides constituent la partie la plus importante du miel. Parmi eux, on retrouve :

- ❖ Des monosaccharides avec en moyenne 31% de glucose et 38% de fructose (ou lévulose). Ce sont les deux principaux sucres du miel. Ils proviennent en grande partie de l'hydrolyse du saccharose (présent dans le nectar ou le miellat) par l'invertase ou les acides.



- ❖ Des disaccharides comme le maltose (7,3%), et le saccharose (1,3%).
- ❖ Le fructose est donc le sucre le mieux représenté, suivi de près par le glucose. Le saccharose est généralement très peu présent, comme les miels de lavande ou de pissenlit [1].

➤ **Composés aromatiques et polyphénols :**

Les polyphénols constituent un groupe de composés importants en ce qui concerne l'aspect du miel mais également ses propriétés fonctionnelles. Les polyphénols contenus dans le miel sont principalement les flavonoïdes (acide caféique, acacétine, quercétine, lutéoline, kaempférol, apigénine, chrysin, galangine, pinocembrine), les acides phénoliques, et les dérivés des acides phénoliques. La séparation et l'identification des flavonoïdes permettent de recueillir des quantités modestes (environ 100 mg par kg de miel). Plus de 50



substances aromatiques qui paraissent provenir exclusivement de la plante ont été isolées dans différents miels [6].

### **II.1.3. Composition physique :**

Les propriétés mécaniques, thermiques, électriques, optiques du miel ont été étudiées en vue d'applications technologiques. On possède de bonnes informations sur des propriétés comme la viscosité, la conductibilité thermique, la chaleur spécifique, ce qui facilite le travail de l'ingénieur devant réaliser des installations industrielles de conditionnement du miel [7].

➤ **La densité :**

Pour une teneur moyenne en eau de 17,2% à 20°C, la densité moyenne est de 1,42 et varie généralement de 1,39 à 1,44 selon la nature des miels analysés [1].

➤ **La viscosité :**

Elle varie en fonction de la température, de la teneur en eau et de la composition chimique du miel. A 35°C, tous les miels sont fluides. Certains sont thixotropes (c'est-à-dire que ces miels lorsqu'on les agite deviennent liquides mais reprennent leur viscosité après un repos [1].

➤ **pH (Potentiel d'hydrogène) :**

Le pH du miel est acide, il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone. Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes [6].

➤ **Acidité :**

Le miel contient aussi des acides. Le plus important est l'acide gluconique mais on trouve aussi une vingtaine d'acides organiques, comme l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide oxalique, l'acide butyrique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique. A l'état de traces, le miel contient de l'acide formique, de l'acide chlorhydrique et de l'acide phosphorique. Les lactones participent également à l'acidité du miel [2].

➤ **5-Hydroxy-2-MéthylFurfural (HMF) :**

Composé organique dérivé de la déshydratation du fructose, l'ensemble des produits alimentaires sucrés et chauffés contiennent de l'HMF (Fig. 10). Le nectar des fleurs, le miellat ou le miel frais ne contient pas de HMF. La teneur en HMF va croître avec le temps et dans les miels qui ont été chauffés. La mesure de l'HMF va donc constituer une excellente méthode de mesure de la qualité du miel. Même non chauffés, les sucres



contenus dans les miels se transforment en HMF au cours d'un processus de vieillissement naturel. Sa teneur est donc un très bon indice de dégradation [8].

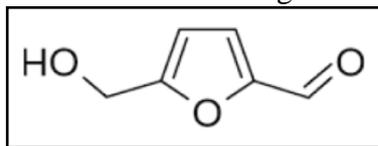


Fig. 10 : Structure de Hydroxyméthylfurfural (HMF) [8].

#### ➤ Conductivité électrique :

La conductivité électrique représente la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique. Elle est exprimée en Siemens par centimètre (S/cm). Selon leur origine florale, les miels ont une conductivité variable. D'une manière générale, les miels de miellat conduisent beaucoup mieux le courant que les miels de fleurs. Du point de vue législatif, la conductivité doit être supérieure à 800 $\mu$ S/cm pour les miels de miellat et inférieure à 800 $\mu$ S/cm pour la majorité des autres miels [9].

#### ➤ Taux d'humidité :

La teneur en eau est un critère de qualité très important, qui détermine la capacité d'un miel à demeurer stable et à résister à la détérioration. En effet un miel ayant un taux élevé d'humidité fermente facilement et perd donc sa qualité. Pour cela la norme du Codex Alimentaire stipule qu'un miel de qualité doit contenir un taux d'humidité nettement inférieur [10].

### II.2. Les propriétés du miel :

Ces nombreux composants du miel lui confèrent plusieurs propriétés intéressantes. Les hommes ont depuis toujours utilisé le miel non seulement comme nourriture mais aussi pour ses propriétés antiseptiques, comme médicament, comme substance servant à la conservation des fruits et des graines, et également dans les embaumements humains depuis le temps des Pharaons égyptiens [11].

#### II.2.1. Propriété thérapeutique du miel :

Le miel est célèbre pour son potentiel thérapeutique considérable. Nombreux sont les facteurs qui influencent les propriétés de base du miel. On cite à titre d'exemples : [12]

- Les espèces nectarifères que fournissent les plantes ;
- Différentes espèces d'abeilles ;
- La zone géographique et ses caractéristiques (climat, pluviométrie, etc.) ;
- Les conditions de récolte.

#### II.2.2. Propriété cicatrisants du miel :



Le miel est reconnu depuis longtemps comme favorisant la cicatrisation de plaies qu'elles soient profondes, étendues, nécrosées, surinfectées [1].

### II.2.3. Propriété anti bactériennes du miel :

La principale activité antibactérienne du miel est liée à la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène (Fig. 11). Le glucose oxydase est une enzyme qui est sécrétée par les glandes hyophrygiennes des abeilles. Au moment de la récolte du nectar ou du miellat, ainsi que pendant les trophallaxies successives, cette enzyme est mélangée au mélange sucré qui va devenir le miel [1].

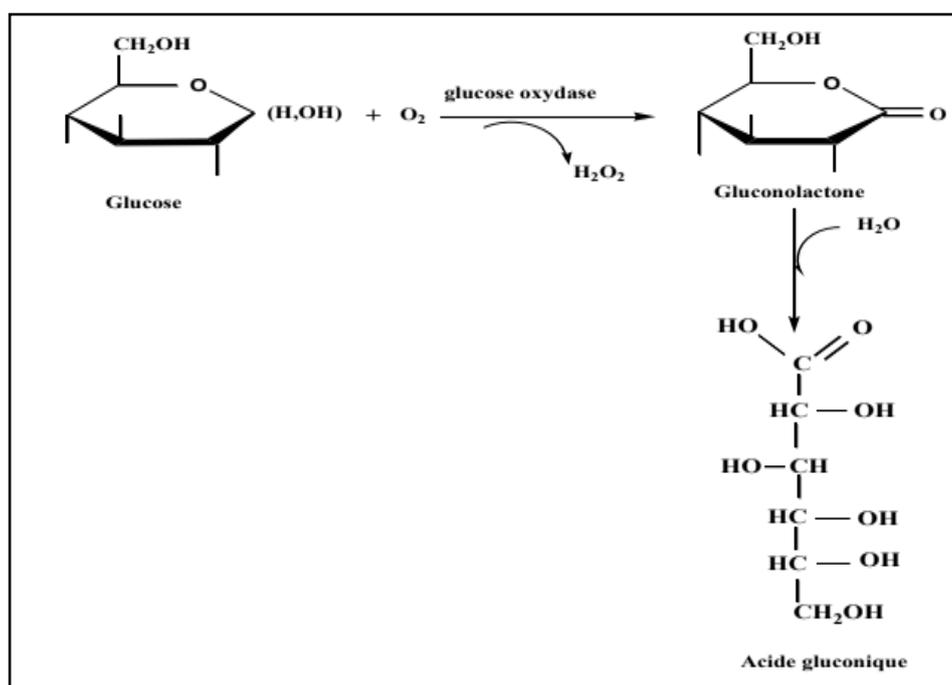


Fig. 11 : Schéma réactionnel de l'enzyme au contact avec le glucose [1].

### II.2.4. Propriété anti-oxydante du miel :

Les propriétés antioxydants du miel proviennent à la fois de substances enzymatiques (par exemple, catalase, glucose oxydase et peroxydase) et non enzymatiques (acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérol, caroténoïdes, acides aminés, protéines, produits de la réaction de Maillard, flavonoïdes et acides phénoliques). La quantité et le type de ces antioxydants dépendent largement de la source florale ou de la variété de miel, et une corrélation entre l'activité antioxydant et le contenu phénolique total a été établi [13].

## II.3. La contamination du miel :

### II.3.1. La contamination chimique :

#### ➤ Métaux lourds :



Le miel doit être exempt de métaux lourds à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine. Les produits visés par les dispositions de la présente norme doivent être conformes aux limites maximales fixées pour les métaux lourds par la Commission du Codex Alimentaire [14].

➤ **Résidus des pesticides :**

Les produits visés par les dispositions de la présente norme doivent être conformes aux limites maximales de résidus fixées pour le miel par la Commission du Codex Alimentaire [14].

➤ **Polluants organiques :**

Les polychlorobiphényles, par exemple, sont des polluants organiques issus des huiles de moteur, lubrifiants et réfrigérants, produits avant les années 1980. Ces substances sont toujours présentes dans l'environnement et peuvent contaminer les plantes, et par extension les abeilles et le miel. Mais les quantités retrouvées dans le miel sont infinitésimales et sans conséquences sur la santé humaine [15].

#### **II.4. Paramètres de contrôle de qualité et normes internationales :**

##### **II.4.1. Qualité du miel :**

Un miel de qualité doit être un produit sain, extrait dans de bonnes conditions d'hygiène, conditionné correctement, qui a conservé toutes ses propriétés d'origine et qui les conservera le plus longtemps possible. Il ne doit pas être adultéré et doit contenir le moins possible de polluants divers, antibiotiques, pesticides, métaux lourds ou autres produits de notre civilisation industrielle [16].

##### **II.4.2. Facteurs essentiels de composition et de qualité :**

Le miel vendu en tant que tel ne doit pas contenir d'ingrédient alimentaire. Le miel ne doit pas avoir de matière, de goût, d'arôme ou de contamination inacceptable provenant de matières étrangères absorbées durant sa transformation et son entreposage. Le miel ne doit pas avoir commencé à fermenter ou être effervescent. Ni le pollen ni les constituants propres au miel ne pourront être éliminés sauf si cette procédure est inévitable lors de l'élimination des matières inorganiques ou organiques étrangères [14].



**Références bibliographique :**

- [1]. **Hoyet C., LAURAIN-MATTAR D.** Le miel: de la source à la thérapeutique, Thèse d'Etat, Université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy, 2005.
- [2]. **Clémence H.** "Le miel: de la source a la thérapeutique." Doctorat en Pharmacie. Faculte de pharmacie. Université Henri Poincaré. Nancy. 2005: 20-50.
- [3]. **CARI.** Dégustation du miel [En ligne]. 2023. [consulté le 21 avril 2023]. Disponible sur : <http://www.aubonmiel.com/>
- [4]. **Pham-Delegue M.H.** Les abeilles Minerva Genève Chemical Composition, Stability and Authenticity. Food Chemistry, 2015, (15).
- [5]. **Da Silva P.M., Gauche C., Gonzaga L.V., Oliveira Costa A.C., Fett R.** Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. Food Chemistry, 2015, (15).
- [6]. **Balas F.** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale: revue de la littérature. Médecine Humaine et Pathologie. 2015.
- [7]. **Balas f.** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale: revue de la littérature. Thèse du doctorat, université de Nice, 2015, 86 p
- [8]. **CARI.** Qualité et analyse du miel [En ligne]. 2020. [consulté le 03 Janvier 2023]. Disponible sur : <http://www.aubonmiel.com/>
- [9]. **Lequet L.** Du nectar à un miel de qualité: contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. Diss. 2010.
- [10]. **LAKERMI H.** Propriétés Physico-chimiques de Quelques Échantillons de Miels Produits dans la Région de Tlemcen. Mémoire Master. 2018. Université de Tlemcen.
- [11]. **Kouanou E.F., Latifou A.B., Adda C., Edah L., Vissienon C., Vissienon Z., Ahyi, V.** Le Miel : Facteurs Influençant sa Qualité. 2020.
- [12]. **Como F., Carnesecchi E., Volani S., Dorne J.L., Richardson J., Bassan A., Benfenati E.** Predicting acute contact toxicity of pesticides in honeybees (*Apis mellifera*) through a k-nearest neighbor model. *Chemosphere*, 2017. 166, 438-444.
- [13]. **Ibrahim-khalil M., Moniruzzaman M., Boukraa L., Benhanifia M., Asiful-Islam M., Nazmul-Islam M. Siti-Amrah S., Hna-Gan S.** Physicochemical and Antioxidant properties of Algerian honey. *Molécules*, 2012. vol.17, 11199- 11215.
- [14]. **Organization Mondiale de la santé. Codex Alimentaire.** Norme pour le miel. CXS 12-1981. Adoptée en 1981. Révisée en 1987 et 2001. 2019.
- [15]. **Bogdanov S.** Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, 2006, 1-18.



[16]. **Schweitzer P.** Le monde des miellats. Revue l'abeille de France N°908. Laboratoire d'analyse et d'Ecologie Apicole. 2004, 2.



# Chapitre III

**III.1. Objectif du travail :**

L'objectif de cette étude porte sur l'effet de quelques paramètres physico-chimiques sur la qualité et l'activité pharmacologique des miels de différentes régions Algérienne (West et Sud-ouest) à savoir ; Béchar et Saïda.

Cela consiste à déterminer les paramètres optimaux : physico-chimiques (pH, température et le temps de chauffage) aboutissant à une meilleure activité antimicrobienne.

**III.2. Produits apicoles (Miel) :**

Nos échantillons de miels ont été collectés dans différentes régions d'Algérie (Fig. 12) :

- ❖ La première est collectée de la wilaya de Béchar (région de Beni Ounif) situé au sud-ouest d'Algérie durant le mois de Mars 2022.
- ❖ La seconde est collectée de la wilaya de Saïda (région de Hammam Rabi) situé à l'Ouest d'Algérie durant le mois de Mai 2022.

L'identification botanique de nos échantillons de miels a été élaboré au laboratoire de Pharmacognosie et Api-Thérapie (Université de Mostaganem) suivant la méthode d'Erdtman G [1]. Ces Analyses ont permis de classer nos échantillons de miel comme indiqué au tableau 3 :

**Tableau 3 :** Lieu de collecte et origine botanique des échantillons de miel

Echantillon	Lieu de collecte	Origine botanique
01	Béchar	Monoflorale
02	Saïda	Monoflorale

**III.3. Présentation des zones de collecte :****III.3.1. Béchar :**

La wilaya de Béchar (en arabe : ولاية بشار) située à 1150 km au sud-ouest de la capitale d'Alger (tableau 3), elle est limitée :

- Au Nord, par la wilaya de Mecheria ;
- Au Sud, par les wilayas d'Adrar et Tindouf ;
- A l'Ouest, par le Maroc ;
- A l'Est, par la wilaya d'El-Bayadh.

**III.3.2. Saïda :**

La wilaya de Saïda (en arabe : ولاية سعيدة / en berbère : Tamnaɛt Saïda) elle occupe une position centrale dans l'Ouest de l'Algérie (tableau 4), elle est limitée :

- Au Nord, par la wilaya de Mascara ;

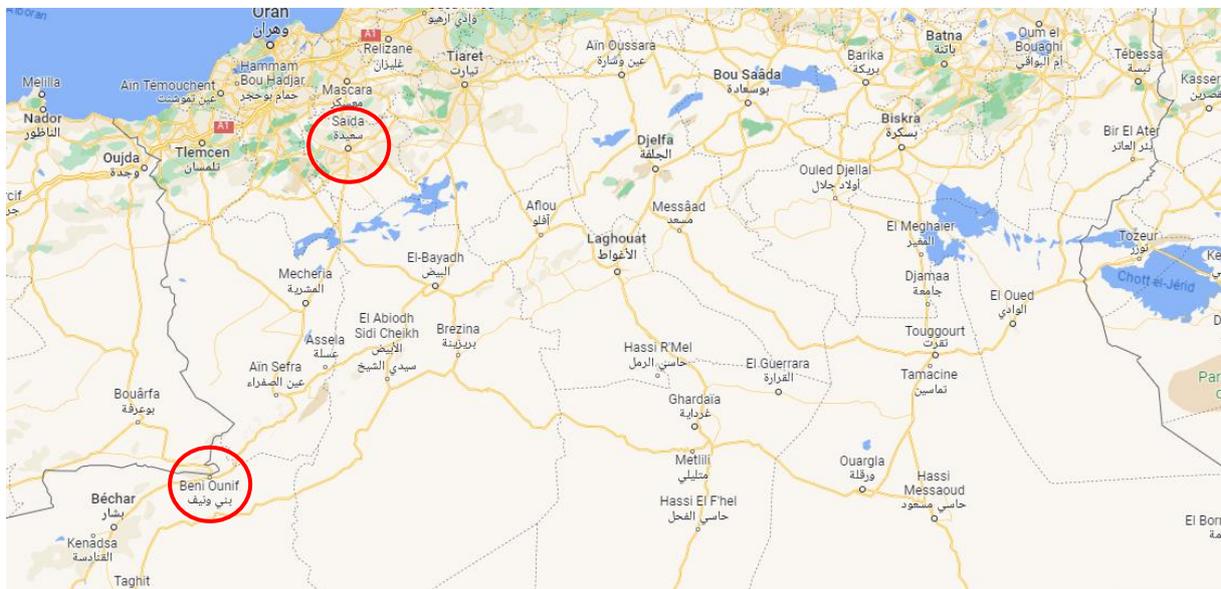


- Au Sud, par la wilaya d'El Bayadh ;
- A l'Ouest, par la wilaya de Sidi Bel Abbès ;
- A l'Est, par la wilaya de Tiaret.

**Tableau 4 :** Localisation et climat des zones de collecte

Station	latitude	Longitude	Altitude	Climat
Saida	34° 40' 54" Nord	0° 30' 1" Est	1141 m	Semi-aride sec et froid
Béchar	32° 03' Nord	1° 15' Ouest	829 m	Désertique sec et chaud

Tous les échantillons ont été mis dans des récipients en verre stériles dans des conditions de conservation favorables : réfrigérés à 4°C ; une obscurité et pas d'humidité jusqu'à leurs analyses en laboratoire, ceci afin d'éviter une éventuelle altération chimique et biologique.



**Fig.12 :** Carte géographique représentant les zones de collecte

### III.4. Analyses des paramètres physico-chimiques :

#### III.4.1. pH :

##### ❖ Principe :

Le pH du miel est mesuré sur une solution à 10% (m/v) de miel à l'aide d'un pH-mètre [2]. C'est une méthode potentiométrique utilisant une électrode en verre spécifique aux ions H<sup>+</sup>. La notion de pH qui traduit « l'acidité » d'une solution rend compte la concentration en ions H<sup>+</sup> (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) de la solution grâce à la relation suivante :

$$pH = - \log [H_3O^+]$$



Le pH-mètre mesure la tension (différence de potentiel) entre ces deux électrodes. Celle-ci est directement liée au pH de la solution dans laquelle la sonde est immergée. L'une des électrodes est appelée électrode de référence au calomel (Hg) saturé ou Ag/AgCl.

❖ **Mode opératoire :**

Le pH-mètre est d'abord calibré à pH égal à 4 et 9 avec des solutions tampons. Ensuite, 5g de miel sont bien dissous dans 50 mL d'eau distillée. Pour mesurer le pH, les électrodes du pH-mètre sont immergées dans la solution et la valeur du pH s'affiche (Fig. 13).



Fig. 13 : pH-mètre

### III.4.2. Acidité libre :

❖ **Principe :**

L'acidité libre est la quantité d'acide titrable par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphtaléine comme indicateur de fin d'équivalence.

❖ **Mode opératoire :**

10g de miel ont été bien dissous dans 100 mL d'eau distillée utilisé dans ce test (Fig. 14).



\* Couleur pêche après atteinte de point d'équivalence



\*Couleur jaune pâle de la solution de miel avant le test de titrage

Fig. 14 : Test de détermination d'acidité libre

Au début, la burette est remplie avec 10 mL de NaOH à 0,1 M. Parallèlement, un volume de 100  $\mu$ L de solution alcoolique (1%) de phénolphthaléine (indicateur coloré) est ajouté à la solution de miel préparé au préalable. Après titrage, nous aboutissant à un changement de couleur qui nous permettra de relever le volume équivalent de NaOH noté  $V_{eq}$



L'acidité libre est exprimée en milliéquivalent d'acide/kg de miel suivant la formule suivant [3] :

$$\text{Acidité libre (meq/ kg)} = \frac{1000 \cdot V \cdot N}{M} \dots\dots\dots(1)$$

Où :

V : Volume en millilitre d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le pH du point équivalent E lors de la neutralisation du miel.

N : Normalité d'hydroxyde de sodium.

M : Prise d'essai en gramme.

### III.4.3. Conductivité électrique :

#### ❖ Principe :

La détermination de la conductivité électrique est basée sur la mesure de la résistance électrique. La conductivité électrique d'un fluide correspond à la conductance d'une colonne de liquide comprise entre deux électrodes métalliques de  $1 \text{ cm}^2$  de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm. Elle est mesurée par un conductimètre.

Les mesures sont effectuées à  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  dans une solution aqueuse de miel à 10% (m/v) (Fig. 4).

Le résultat est exprimé en (mS/cm) [4].

#### ❖ Mode opératoire :

Une quantité de 10 g de miel est dissout dans 100 mL d'eau distillée. Cette solution est transférée dans un autre b cher, dont ce dernier est placé dans un bain thermostaté à  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Après que la température voulue est atteinte, la cellule du conductimètre est plongée dans le b cher pour la mesure de la conductivité électrique (Fig. 15). Il faut noter qu'avant chaque mesure, la cellule du conductimètre doit être rincée soigneusement avec de l'eau distillé.



Fig. 15: Détermination de conductivité électrique

### III.4.4. Détermination de taux d'humidité :

#### ❖ Principe :



Le taux d'humidité du miel est un critère de qualité qui nous renseigne sur la stabilité du miel par rapport à la fermentation et à la cristallisation. La valeur de la teneur en eau (H %) se déduit par différence de masse après séchage au four.

❖ **Mode opératoire :**

La détermination de taux d'humidité (H) a été faite par la méthode de séchage au four (Fig. 16). Chaque type de miel, 5 g/échantillons ont été pesés et séchés au four, à la température de 80 °C. Après 24 h, les échantillons ont été retirés du four, et après refroidissement, ils ont été pesés et le résultat a été calculé selon la formule [5] :

$$\text{Taux d'Humidité (\%)} = [(G1 - G2) / G1 - G3] \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{Taux de Matière sèche (\%)} = 100 - \text{Taux d'Humidité} \dots\dots\dots (3)$$

Où :

G1 : le poids de la boîte de Pétri et de l'échantillon avant séchage (g).

G2 : le poids de la boîte de Pétri et de l'échantillon après séchage (g).

G3 : le poids de la boîte de Pétri (g).



❖ Echantillons de miels avant séchage.



❖ Echantillons de miels après séchage.

**Fig. 16 :** Détermination de taux d'humidité

**III.4.5. Chercher des impuretés :**

Chaque échantillon de miel 10 g a été dissous dans 50 mL d'eau et homogénéisé dans un agitateur pendant 30 min. Les solutions de miel obtenues ont été filtrés sur papier filtre



(préalablement pesé) [6]. Ces derniers ont été placés à l'étuve à 100 °C pendant 10 min pour les sécher, puis pesés (Fig. 17).



**Fig. 17 :** Détermination des impuretés.

Les impuretés ont été calculées selon la formule :

$$I (\%) = (m_2/m_1) \times 100 \dots\dots(4)$$

**Où :**

I : représente le taux d'impuretés (%).

$m_1$  : représente la masse de l'échantillon prélevé pour analyse (g).

$m_2$  : représente la masse de résidu laissé sur le papier filtre après séchage (g).

#### **III.4.6. Détermination de la teneur des polyphénols totaux «TPC» :**

0.5 g de chaque type de miel ou standard (Acide gallique) est mis dans un récipient, sur lequel nous avons ajouté 5 mL d'alcool (éthanol) à 70 %. Une homogénéisation avec un agitateur pendant quelques minutes est exécutée puis filtrer avec un papier filtre.

Dans des tubes en verre, nous avons pris 0,5 mL de l'échantillon filtré avec 1,25 mL de réactif Folin-Ciocalteu, puis incubés pendant 5 min à température ambiante, puis, on a ajouté 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (solution aqueuse à 60 g/L) puis incubés pendant 30 min dans le sombre (Fig. 18).



**Fig. 18 :** Détermination de la teneur des polyphénols totaux "TPC"

L'absorbance du mélange réactionnel a été déterminée à 750 nm en prenant comme le blanc l'éthanol. Les résultats de la teneur en phénol ont été exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique/100 g de miel (mg GAE/100g) [5].

#### **III.4.7. Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux «TFC » :**



Pour déterminer le taux des flavonoïdes, nous avons préparé des récipients dans les quels nous avons mis 0.5 g d'échantillon de miel ou standard (Quercétine) et 5 mL d'alcool (éthanol) à 70%. Ces deniers ont été homogénéisés avec une Agitateur pendant quelques minutes. Après, ils ont été filtrés avec du papier filtre. Dans un tube à essai nous avons mis 1,5 mL de filtrat précédemment préparé au quel nous avons ajouté 4,5 mL H<sub>2</sub>O et 1 mL NaNO<sub>2</sub>. Après une incubation pendant 5 min, nous avons ajouté 1 mL Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 10%, et les échantillons ont été laissés à nouveau incubé pendant 5 min. Finalement, 10 mL NaOH à 4% sont ajoutés après incubation et le volume est complété avec de l'alcool (Ethanol) 70% jusqu'au 25 mL (Fig. 19).



**Fig. 19 :** Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux "TFC "

Après 15 min de repos, l'absorbance a été mesuré à 510 nm à l'aide du spectromètre UV-VIS. Les résultats de la teneur en flavonoïdes ont été exprimés en mg d'équivalent de Quercétine /100 g de miel (QE/100g) [5].

#### **III.4.8. Analyse FT-IR :**

Nos échantillons de miel ont été analysés dans un Spectrophotomètre infrarouge (FT-IR). Chaque échantillon a été placé sur la surface ATR et la collection des spectres a été réalisée à 25 °C. Chaque spectre a été atteint après 32 scans [6].

#### **III.4.9. Activité antimicrobienne :**

Nous avons adoptés une technique standard pour la détermination de la susceptibilité des microorganismes (bactérie, levures, champignons, ....) aux agents antimicrobiens. Cette technique est réalisé selon les recommandations d'institut de laboratoire standard et clinique CLSI M02-A10 [7].

L'activité antimicrobiennes de nos échantillons de miels contre différentes bactéries et levure a été testé en appliquons la méthode de diffusion sur gélose (puits) décrite par [8]. Trois souches microbiennes à savoir ; une Gram<sup>-</sup> *Escherichia coli* (*E. coli*), une Gram<sup>+</sup>



*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et une levure *Candida albicans* (*C. albicans*) ont été utilisés dans cette évaluation.

Au début, une suspension microbienne d'une culture jeune de 18 à 24 heures est ajustée à une turbidité standard 0.5 McFarland [9]. 0,1 mL de cette dernière est étalé avec des écouvillons à la surface de gélose MHA (Muller Hinton Agar) préalablement coulé dans des boîtes de pétris. Des puits de 6 mm de diamètre sont remplis de 0,02 mL d'extrait (Fig. 20). Après 1 heure de conservation à 4 °C, les boîtes pétris sont incubées au 37 °C pendant 24 heures. Le pouvoir antimicrobien est estimé par la mesure de diamètre d'aréole au tour de puits.



**Fig. 20 :** Activité antimicrobienne

### III.5. Préparation des plans d'expérience :

#### III.5.1. Objectifs :

Les conditions de préparation ont été optimisées grâce à la conception de Box-Behnken pour maximiser les qualités des deux variétés de miels vis-à-vis l'activité antibactérienne et leurs teneurs en polyphénols totaux (TPC) et flavonoïdes totaux (TFC).

#### III.5.2. Détermination des facteurs et du domaine d'étude :

Dans ce travail, les paramètres de préparation suivants ont été étudiés : (X1) pH, (X2) la température et (X3) le temps de chauffage. Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable sont désignés par -1, 0, +1.

Ces trois variables ainsi que leurs plages respectives ont été choisis sur la base de la littérature et du soutien de nos expériences d'étude préliminaire. Le nombre d'expériences (N) requis pour la matrice du BBD (Bordered Block Diagonal) Diagonale de bloc bordée est défini comme:

$$N = 2k(k-1) + C_0 \dots \dots \dots (5)$$

Où :

k est le nombre de paramètres et  $C_0$  est le nombre de point central [10]. Avec trois facteurs, le modèle BBD par défaut se compose de 12 plans factoriels et 5 répétitions au point central.



Le point central a été utilisé pour déterminer l'erreur expérimentale et la reproductibilité des données. Par conséquent, le nombre total de tests requis pour les trois variables indépendantes est de :  $2(3)(3-1) + 5 = 17$  expériences.

Ces facteurs ainsi que leurs valeurs sont résumés dans le tableau 5.

**Tableau 5 :** Les facteurs étudiés et leurs domaines de variation

Paramètres	Code	Niveaux		
		-1	0	+1
pH	X1	2	4	6
T (°C)	X2	40	60	80
t (min)	X3	5	12,5	20

### III.5.3. Réponses :

Le diamètre de la zone d'inhibition (ZD) a été choisi comme réponses à modéliser. Un modèle polynomial de second ordre a été adapté aux résultats expérimentaux pour obtenir la relation mathématique entre les paramètres indépendants et la réponse dépendante. La relation entre la réponse et les paramètres a été formulée comme suit:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i=1}^n \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^n \beta_{ij} X_i X_j \dots\dots\dots(6)$$

Où Y est la réponse prédite,  $\beta_0$  est une constante,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  et  $\beta_{ij}$  sont des coefficients estimés de régression, ils représentent linéaires, quadratiques et des produits croisés des variables sur la réponse. Les coefficients qui figurent dans cette équation sont déterminés à partir des résultats expérimentaux.

### III.5.4. Analyse statistique :

Le logiciel Statgraphics centurion XVI.I a été utilisé pour générer les plans expérimentaux, les analyses statistiques et les modèles de régression. L'adéquation des modèles développés a été testée par le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et sa signification statistique a été vérifiée par un test F de Fisher. Le niveau de signification a été donné comme valeurs de la probabilité (Valeur-P)  $< 0,05$ .



**Référence bibliographique :**

- [1]. **Erdtman G.** Handbook of Palynology. Munksgaard, Copenhagen. 1969.
- [2]. **AOAC.** Official method of analysis 19th ed., Washington DC. Association of Official Analytical Chemists. 2012.
- [3]. **Bouزيد, G., Hattab, H., & Khattou, F.** Etude physicochimique et évaluation des activités biologiques du miel de Pégane (*Peganum harmala*). Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tiaret. (2021).
- [4]. **Sancho M.T., Muniategui S., Huidobro J.F., Simal J.** Evaluating soluble and insoluble ash, alkalinity of soluble and insoluble ash and total alkalinity of ash in honey using electrical conductivity measurements at 20 °C. *Apidologie*. 1992. 23, 291-297.
- [5]. **Silvia P., Ersilia A., Diana O., tioiu, I.C., Isidora R., Adina B., Roxana N.L., Eliza S., Nicoleta M.V., Anca H., Dragos, M.** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Some Types of Honey from Banat Region, Romania. *Molecules*. 2022. 27, 4179.
- [6]. **Daniela P., Paula C., Sorina R., Florina D., Mircea O.** Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021. 102, 104021.
- [7]. **Mensor L. L., Menezes F. S., Leitão G. G., Reis A. S., Santos T. C., Coube C. S. et Leitão S. G.** Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phy- tother. Res*. 2001. 15: 127-130.
- [8]. **CLSI-Publishes.** Antimicrobial susceptibility testing standards. 2009.
- [9]. **Hamideh J., Khosro P., Javad N.** Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*. 2013. 136, 237-244.
- [10]. **Gulzar Ahmad N., Vikas N., Beenish Z., Dar B.N., Mohammad J. A., Sami Al O., Otilia B.** Response surface approach to optimize temperature, pH and time on antioxidant properties of wild bush (*Plectranthus rugosus*) honey from high altitude region (Kashmir Valley) of India. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2022. 29, 767–773



# Chapitre VI

### IV.1. Analyses physico-chimiques :

Bien que le miel soit important depuis des milliers d'années, il continue d'intéresser les scientifiques et les chercheurs pour ses grandes caractéristiques et ses avantages.

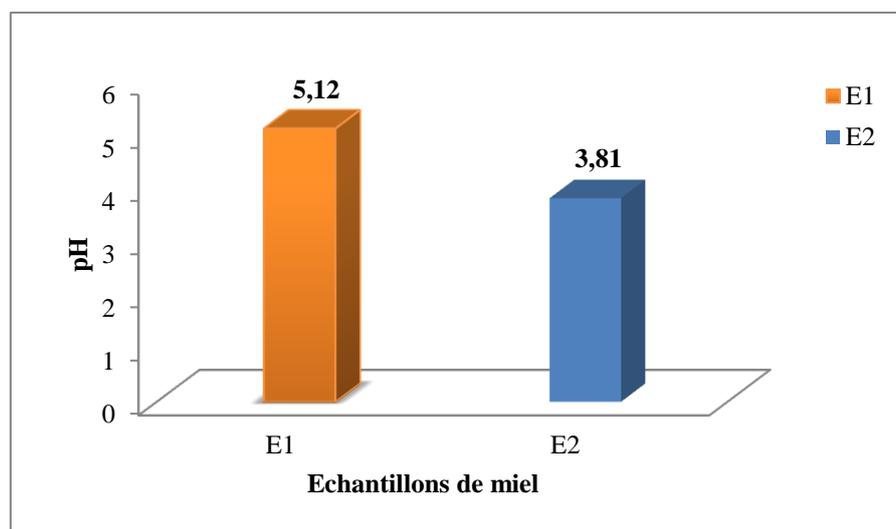
Les résultats de l'étude de certains critères physico-chimiques des échantillons de miel représentés dans le tableau 6 ont montré que la valeur du conductivité électrique, le rapport d'humidité, le pH et l'acidité libre sont inférieurs à la limite des normes de codex européennes [1] et mondiales, c.-à-d. qu'ils se trouvent dans la zone spécifique.

**Tableau 6 :** Quelques critères physico-chimiques étudiés pour les deux variétés de miel

Analyse physico-chimique	pH	Acidité libre (Meq/kg)	Conductivité électrique (ms/cm)	Taux d'Humidité (%)	Matière sèche (%)	Taux d'Impureté (%)
E1	5,12	15	0,91	8,8	91,2	99,25
E2	3,81	40	0,47	13,2	86,8	99,22
Normes codex	3,5-5,5	50 Meq/kg	-	20%	-	100%

#### IV.1.1. pH (potentiel d'Hydrogène) :

La mesure du pH donne des informations sur le type et la qualité de miel. Les différents résultats enregistrés ont été transformés dans la figure 21.



**Fig. 21 :** Résultats de détermination de pH des échantillons de miel.

Le pH est défini comme étant un coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu. Généralement, les miels sont acides, en raison de la présence des acides organiques, plus particulièrement



celle provenant des sécrétions digestives des abeilles pendant l'élaboration du miel tels que les acides gluconiques et d'autres tel que l'acide pyruviques et l'acide maliques [2]. Il est à noter que la détermination du pH est un paramètre indicateur sur l'origine florale du miel ; les miels ayant une origine miellats présentent un pH comprise entre 4,5 et 5,5, contrairement à celle provenant de nectars présentent un pH variant de 3,5 au 4,5. Cependant, les valeurs intermédiaires peuvent avoir affaire à un mélange des deux ; miellat et nectar [3]. Le pH des échantillons de miel est important de moment qu'il influe sur la stabilité et la durée de conservation. Un pH du miel suffisamment faible a le pouvoir de ralentir ou empêcher la croissance de nombreux types de microorganismes.

En outre, nous remarquons que nos échantillons du miel ont tout un caractère acide quelle que soit leurs origines géographiques (Béchar ou Saida), leurs pH varient de 3,81 à 5,12 et sont donc conforme aux normes. Les valeurs de pH nous indiquent que la deuxième variété de miel (variété de Saida) est une de nectar car leur valeur est comprise entre 3.5 et 4.5 contrairement à la première variété de miel (variété de Béchar) qu'est un miellat puisque la valeur de pH est comprise entre 4,5 et 5,5.

#### IV.1.2. Acidité libre :

L'acidité libre est un critère important dans la variation de la qualité des miels car elle affecte la texture et la stabilité du miel. Les résultats de l'analyse d'acidité libre sont résumés dans la figure ci-dessous.

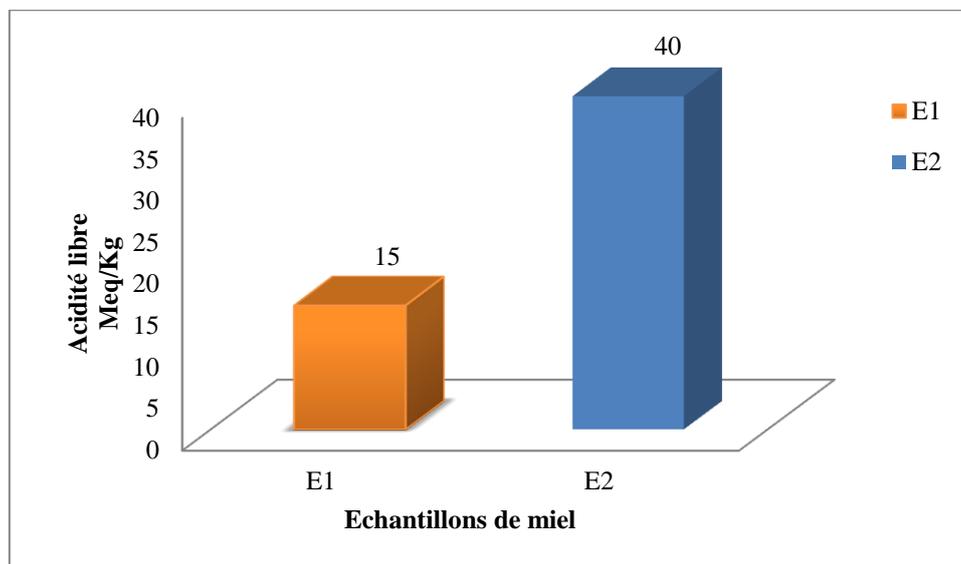


Fig. 22 : Résultats de variation d'acidité libre des échantillons de miel

Selon la Constitution alimentaire la valeur d'acidité libre est limitée à 50 Meq/kg pour un miel de haute qualité [4]. Les valeurs enregistrées sont 15 et 40 Meq/Kg pour les échantillons



1 (de Béchar) et 2 (de Saida), respectivement se trouvent dans la limite considérée. On peut donc dire que ces deux échantillons de miel sont conformes aux normes de qualité recommandées.

A l'heure actuelle, plusieurs auteurs déduits l'augmentation d'acidité libre au phénomène de fermentation par certaines levures. En effet, au cours de la fermentation, le glucose et le fructose sont convertis en alcool. Ce dernier est à son tour hydrolysé en présence d'oxygène et converti en acide acétique, ce qui contribue à l'augmentation d'acidité libre [5]. D'autres facteurs tels que la différence de localisation géographique, les procédures de récolte et les conditions de stockage peuvent varier sensiblement le taux d'acidité libre. Outre, l'acidité naturelle du miel s'accroît aussi avec le vieillissement du miel [6].

#### IV.1.3. La conductivité électrique :

Les résultats enregistrés pour la mesure de la conductivité électrique pour les deux variétés de miel sont illustrés dans la figure 23.

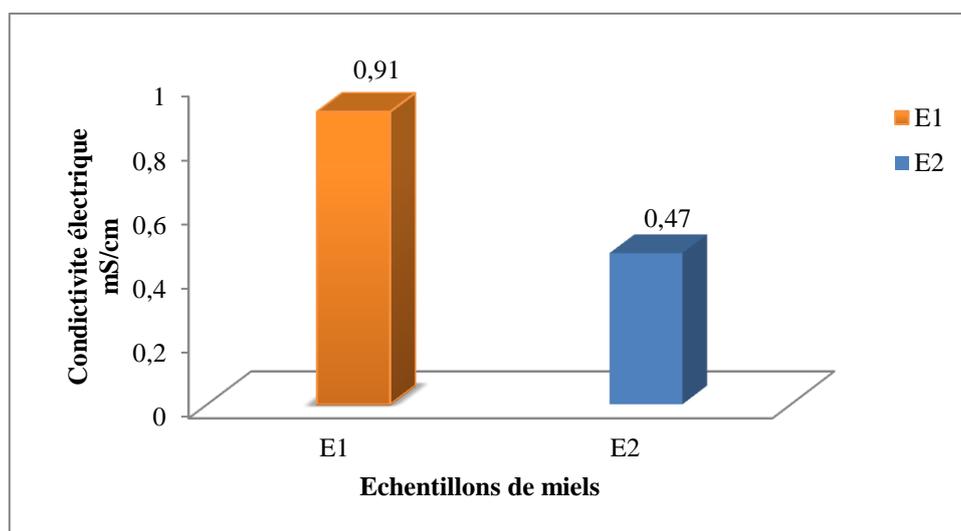


Fig. 23 : Résultats de mesure de la conductivité électrique des échantillons de miel

L'examen des résultats montre que la conductivité électrique de nos échantillons est comprise entre 0,47 et 0,91 mS/cm.

La conductivité électrique s'exprime en mS/cm, elle démontre la capacité d'un miel à transmettre une conductance ou un flux électrique. En effet plus le miel est riche en matières ionisables plus sa conductivité électrique augmente. Elle est aussi reconnue qu'il est un critère de base à l'origine botanique de miel et un indicateur très important pour connaître la qualité du miel. La conductivité électrique est liée à l'origine florale des miels [7]. On signale aussi que la conductivité électrique à des valeurs inférieures à 0.8 mS/cm est un indicateur pour le



miel de nectar, alors que les valeurs plus élevées sont généralement associées au miel de miellat.

Globalement, on peut dire que les miels du miellat, possèdent une conductibilité beaucoup plus élevée que les miels de fleurs de nectar. D'autre part, la conductivité électrique d'un miel est en rapport à sa couleur. Selon [8], les miels de couleur foncé conduisent mieux le courant électrique que les miels de couleur claire.

A la lumière de nos résultats on peut dire que la variété de miel de Béchar (1) est d'origine des fleurs de miellat (0,91 mS/cm) alors que la variété de miel de Saida (2) est d'origine de nectar (0,47 mS/cm).

#### IV.1.4. Détermination de l'humidité :

Le taux d'humidité nous renseigne sur la teneur en eau de chaque échantillon de miel. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 24.

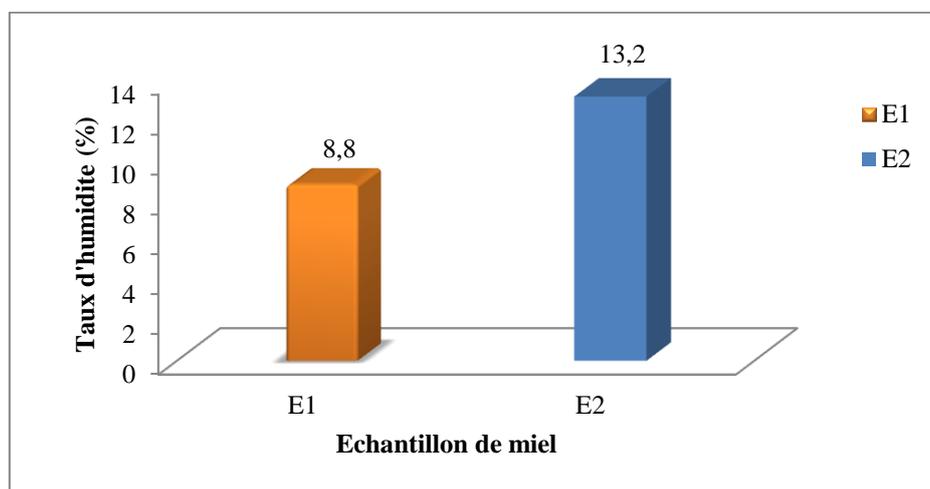


Fig. 24 : Résultats de détermination de l'humidité des échantillons de miel

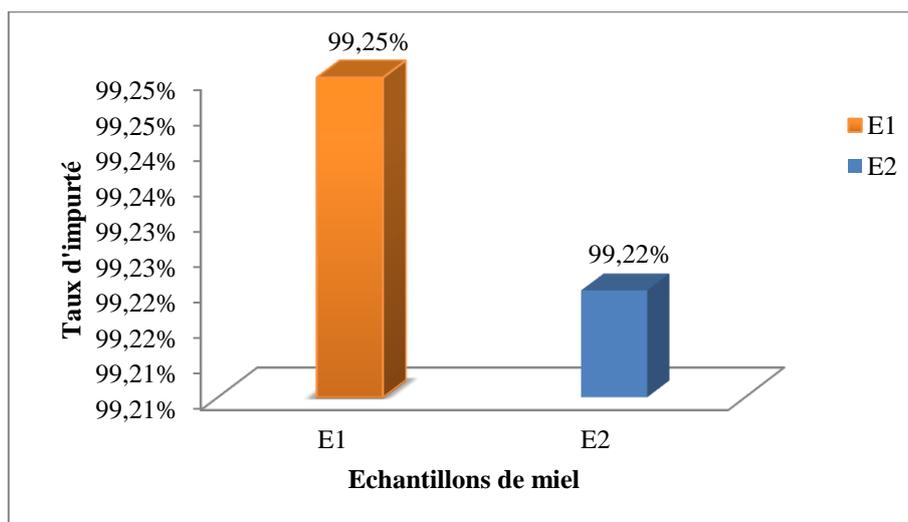
Ces valeurs obtenues sont comprises entre 8,8% pour la variété de miel de Béchar (1) contre 13,2% pour la variété de miel de Saida (2). Il est clair que tous les miels analysés ont une teneur en eau qui ne dépasse pas 14%. Ce qui est au dessous de 21 % dont la norme prescrite par la commission internationale du miel [7]. Donc, on peut déduire que nos échantillons de miel sont de bonnes qualités et que ces résultats sont révélateurs d'un bon stockage des miels étudiés.

Généralement, un taux d'humidité élevé peut entraîner la fermentation du miel, la perte de saveur et la perte de sa qualité car les risques de fermentation d'un miel sont très élevés dans le cas où sa teneur en eau est supérieure à 19% [9].

#### IV.1.5. Détermination de taux des impuretés :



Les résultats de la détermination de taux des impuretés sont récapitulés dans la figure 25.



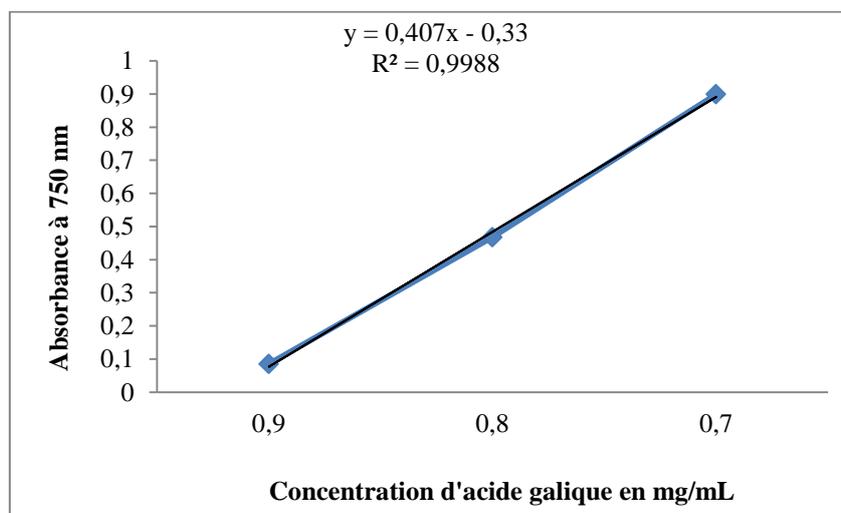
**Fig. 25 :** Résultats de quantification des impuretés des échantillons de miel

Il est à noter que le miel contient souvent des impuretés, qui sont de petites particules de pollen, des particules décolorées ou des restes de parties d'abeilles. La taille de ces impuretés dépend du procédé de filtration. C'est pourquoi au cours de nos analyses nous filtrons le miel pour se débarrasser de tous les appendices et obtenir un miel propre. Selon le parlement européen, la teneur en impuretés dans le miel ne devrait pas dépasser 100% [4].

Nos analyses nous révèlent que la teneur en impuretés pour les deux échantillons de miel respecte les normes de parlement européen dont le taux des impuretés enregistré avec l'échantillon de Béchar (1) est de 99,25 % contre celle de Saida (2) 99,22%.

## IV.2. Détermination des teneurs des polyphénols et flavonoïdes totaux :

### IV.2.1. Détermination de la teneur des polyphénols totaux (TPC) :



**Fig. 26 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique



Le teneur des polyphénols totaux est calculé selon la méthode utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 gramme d'échantillon (GAE mg/100g), à partir des données d'absorbance à 750 nm de différentes concentrations d'acide gallique dissous dans un solvant organique (éthanol) (figure 26).

La teneur en composés phénoliques de miel a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique dont l'équation de régression est  $y = 0,407x - 0,33$  Avec :  $R^2 = 0,998$ .

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux des différents échantillons de miel étudiés sont représentés dans la figure 27.

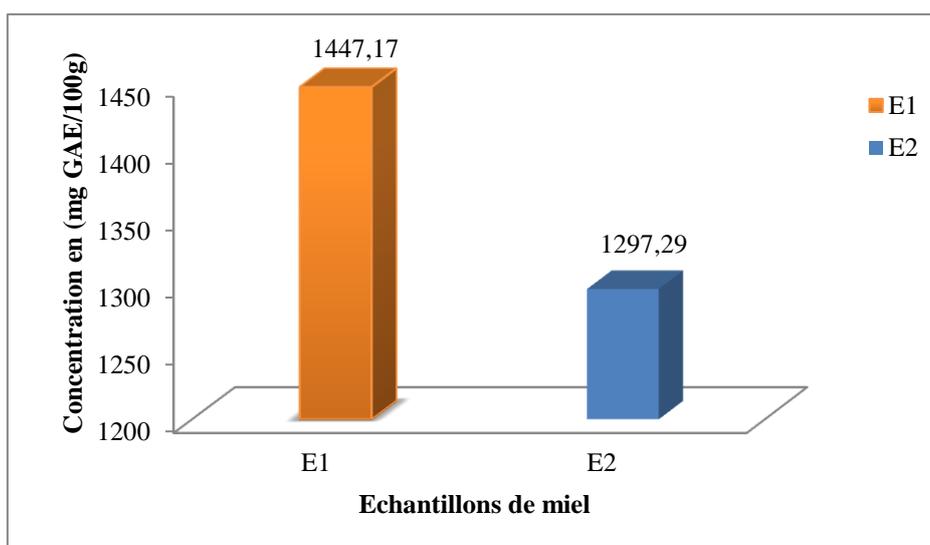


Fig. 27 : Résultats de la teneur en polyphénols totaux des échantillons de miel

Des études récentes ont montré que la concentration et le type de polyphénols dépendent de l'origine florale du miel ; ils sont les principaux facteurs responsables pour les activités biologiques de miel aussi bien qu'antimicrobien [10]. Dans lesquelles, les acides phénoliques et les flavonoïdes sont les molécules les plus actives [11].

Les résultats obtenus ont montré que la concentration en polyphénols totaux enregistrée dans les échantillons de miel variait considérablement, dont la valeur la plus faible étant enregistrée avec la variété de miel de Saida (2) (1297,29 GAE mg/100g) contre celle de la variété de miel de Béchar (1) (1447,14 GAE mg/100g).

#### IV.2.2. Détermination de la teneur des flavonoïdes totaux (TFC) :

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents échantillons de miel [12].



L'absorbance est mesurée à 510 nm par spectroscopie UV. Les concentrations des flavonoïdes des différents échantillons de miel sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage (figure 28).

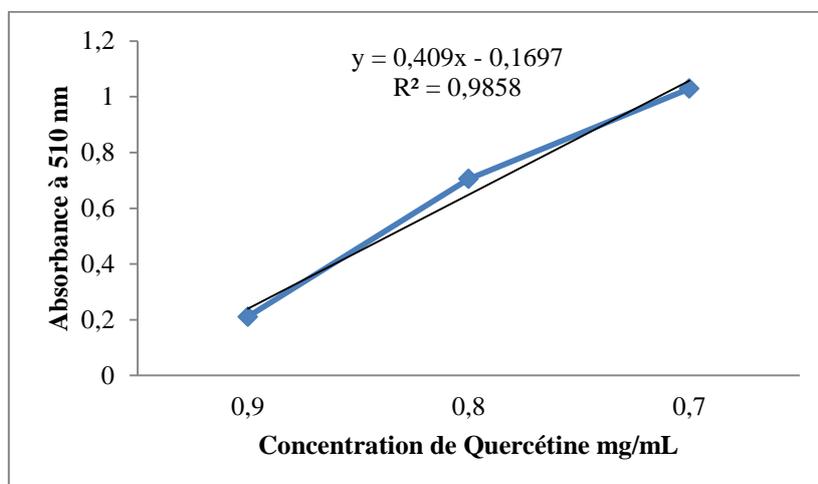


Fig. 28 : Courbe étalonnage de Quercétine

La teneur en flavonoïde des échantillons de miel a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de Quercétine dont l'équation de regression est  $y = 0,409x - 0,169$  Avec :  $R^2 = 0,985$ .

Les résultats des teneurs en flavonoïde des miels étudiés sont représentés dans la figure 29.

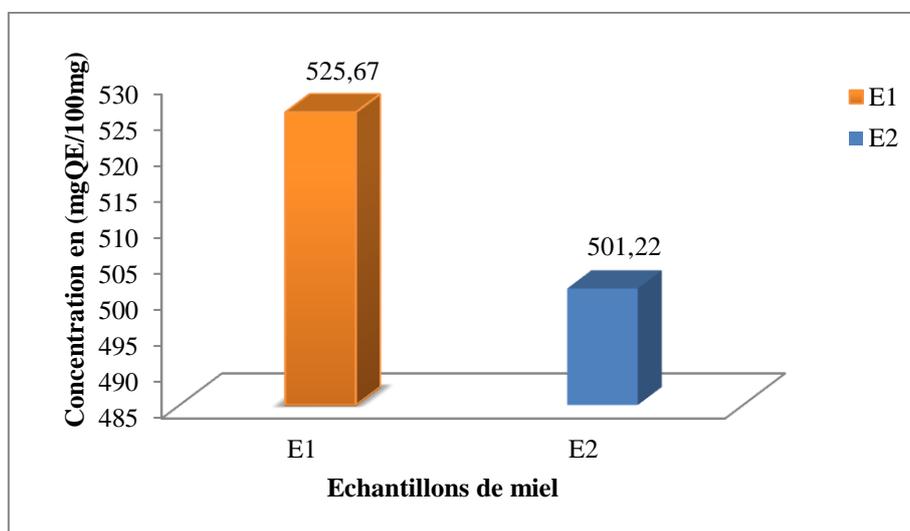


Fig. 29 : Résultats de la teneur en flavonoïde des échantillons de miel

L'origine florale et géographique est d'une grande influence dans la composition en flavonoïdes. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux des miels étudiés varient entre 501,22 QE mg/100g et 525,7 QE mg/100g, avec la variété de miel de

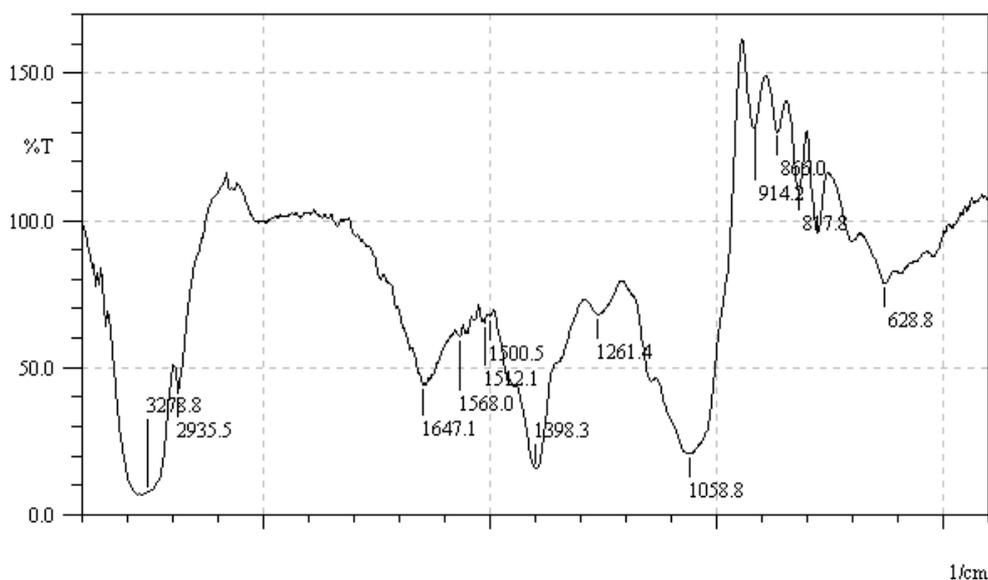


Saida (2) et la variété de miel de Béchar (1), respectivement. La différence est probablement due à l'exposition plus importante des plantes au soleil dans les différentes régions, ce qui favorise la production de flavonoïdes comme porteurs d'électrons pendant la photosynthèse [13].

### IV.3. Analyse FT-IR :

#### IV.3.1. Variété de miel de Béchar (1) :

La figure 30, illustre le spectre FT-IR de la variété de miel origine de Béchar.



**Fig. 30 :** Spectre FTIR de la variété de miel de Béchar (1)

La région d'analyse IR illustrée entre  $3500\text{ cm}^{-1}$  et  $500\text{ cm}^{-1}$  contient des informations provenant des vibrations moléculaires et sensibles à la condition chimique et physique de l'échantillon.

Parmi les importants groupements fonctionnels tirés du spectre infrarouge d'échantillon de miel origine de Béchar suite à l'analyse spectrophotométrique IR, nous remarquons une large bande aux alentours de  $2935\text{ cm}^{-1}$  et  $3278\text{ cm}^{-1}$  attribuée à l'élongation des fonctions C-H des glucides, des O-H des acides carboxyliques et NH<sub>2</sub> des acides aminés libres, comme nous remarquons une autre bande située à  $1647\text{ cm}^{-1}$  du groupe O-H attribué au molécule d'eau, l'élongation de la fonction C=O principalement à la présence des glucides et la déformation de la liaison N-H de l'amide des protéines, une intense bande située à  $1398\text{ cm}^{-1}$  attribuée aux groupes O-H, étirement et flexion du groupe C-O et C-H des glucides et étirement des cétones du groupe C=O et finalement une autre bande située à  $1058\text{ cm}^{-1}$ .

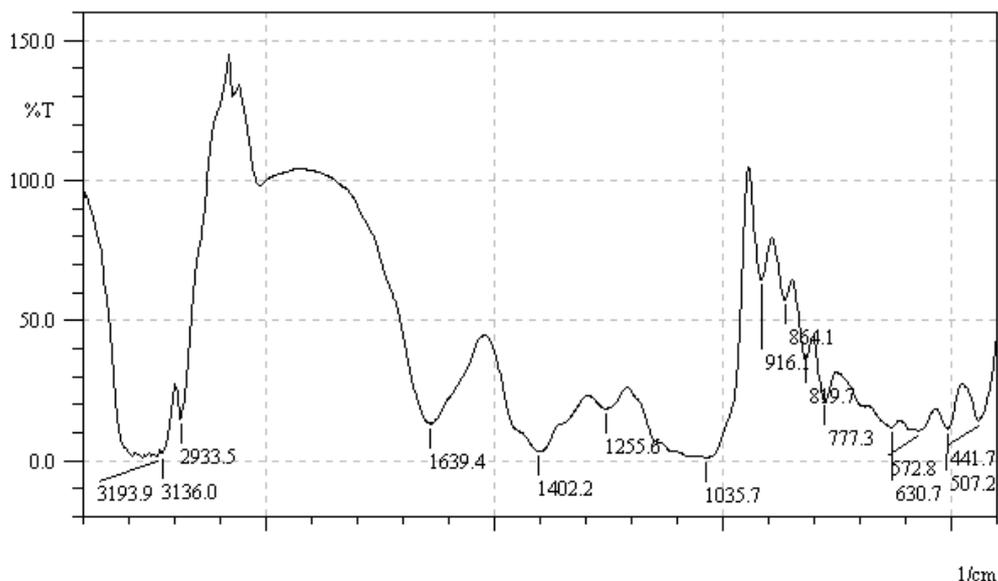


responsable des groupement C-O et C-C des glucides. Une autre zone située entre  $950\text{ cm}^{-1}$  et  $750\text{ cm}^{-1}$  qui nous oriente vers l'existence des glucides dans notre échantillon de miel.

La présence d'eau dans le miel, a également été rapportée dans les études de [14]. D'autres études ont signalés la présence de acides carboxyliques et des acides aminés libres dans les spectres IR des échantillons de miel analysés par [15] et [16].

#### IV.3.2. Variété de miel de Saida (2) :

Le spectre FT-IR de la variété de miel originaire de Saida est présenté dans la figure 31.



**Fig. 31** : Spectre FTIR de la variété de miel de Saida (2)

Le spectre infrarouge IR d'échantillon de miel origine de Saida dévoile quatre principaux région, la premier entre  $2933\text{ cm}^{-1}$  et  $3193\text{ cm}^{-1}$  attribue aux élongation des fonction C-H des glucides, des groupement O-H des acides carboxyliques et  $\text{NH}_2$  des acides aminés, la deuxième région situé à  $1639\text{ cm}^{-1}$  du groupement O-H des molécule d'eau, des élongations de la fonction carbonyle C=O des glucides et de la liaison N-H de l'amide et des protéines, la troisième région une intense bande situe à  $1402\text{ cm}^{-1}$  attribué aux étirement et flexion des groupements O-H, du groupe C-O et C-H des glucides et élongation des cétones du groupement C=O et finalement la quatrième région situé à  $1035\text{ cm}^{-1}$  attribué aux groupement C-O et C-C des glucides.

Des études amenées par [17] ont rapporté qu'à environ  $1640\text{ cm}^{-1}$  l'apparition de bandes est due à la fois à l'eau et à une petite quantité des molécules de protéines. La région située entre ( $920\text{ cm}^{-1}$  au  $700\text{ cm}^{-1}$ ) fournit un spectre unique pour chaque composé dans lequel la position et l'intensité des bandes sont spécifiques à chaque sucre [17].



#### IV.4. Résultats du plan d'expérience :

Comme décrit dans la section expérimentale, trois variables opérationnelles ont été choisies pour optimiser l'activité antimicrobienne des deux variétés de miel: pH, la température (°C) et le temps de chauffage (min). D'autre part, les données des diamètres des zones d'inhibition (ZD) ont été utilisées comme réponses à moduler.

##### IV.4.1. Optimisation pour l'activité antimicrobienne :

###### IV.4.1.1. Variété de miel de Béchar (1) :

Une procédure expérimentale de Box-Behnken comprenant trois paramètres et trois niveaux différents d'expérience, a été mise en place pour étudier la performance de variété de miel de Béchar sur l'activité antimicrobienne par des zones d'inhibitions contre trois types de micro-organismes, dont deux bactéries (*E. coli* et *S. aureus*) et une levure *C. albicans* et de même pour identifier les interactions entre les différentes variables.

**Tableau 7:** Matrice de Box-Behnken des zones d'inhibition pour la variété de miel de Béchar (1)

N°	Facteurs actuelles			Zone d'inhibition (mm)					
	pH	T (°C)	t (min)	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
				Valeurs actuelles	Valeurs prévues	Valeurs actuelles	Valeurs prévues	Valeurs actuelles	Valeurs prévues
1	4	60	12,5	13,0	13,2	14,0	13,8	15,0	14,6
2	4	40	5	11,0	9,25	12,0	10,125	13,0	11,5
3	4	60	12,5	13,0	13,2	13,0	13,8	14,0	14,6
4	2	60	20	30,0	28,0	33,0	30,875	34,0	32,0
5	2	60	5	24,0	23,5	26,0	25,375	27,0	26,5
6	6	40	12,5	8,0	7,75	8,0	7,75	9,0	8,5
7	6	60	5	8,0	10,0	9,0	11,125	10,0	12,0
8	2	80	12,5	23,0	23,25	24,0	24,25	25,0	25,5
9	6	60	20	9,0	9,5	10,0	10,625	10,0	10,5
10	4	60	12,5	13,0	13,2	14,0	13,8	14,0	14,6
11	4	60	12,5	14,0	13,2	14,0	13,8	15,0	14,6
12	4	40	20	12,0	11,75	13,0	12,625	13,0	13,0
13	6	80	12,5	8,0	5,75	9,0	6,5	9,0	7,0
14	4	80	5	9,0	9,25	9,0	9,375	10,0	10,0
15	4	60	12,5	13,0	13,2	14,0	13,8	15,0	14,6
16	4	80	20	9,0	10,75	10,0	11,875	11,0	12,5
17	2	40	12,5	20,0	22,25	22,0	24,5	24,0	26,0

\* Cinq tests supplémentaires au point central (0, 0, 0)



Les conditions expérimentales des 17 expériences du BBD sont incluses dans le tableau 7, avec les réponses mesurées pour chacune des expériences.

❖ **Analyse statistique :**

L'analyse de la variance a été réalisée sur les résultats obtenus (tableau 7). Cette analyse permet de tester la pertinence des variables impliquées dans le plan expérimentale et de représenter graphiquement l'importance de chaque paramètre sur la réponse obtenue (zones d'inhibitions).

Le principe de l'analyse consiste à comparer la variance des expériences réalisées entre elles de manière à évaluer si elles sont différentes ou non de la moyenne. Il faut alors comparer la variance de diverses répétitions d'un échantillon à la variance des moyennes entre tous les échantillons [18]. Le rapport entre ces deux variances est appelé "ratio-*F*". Ainsi, la pertinence statistique de chaque facteur est déterminée et peut être représentée dans le tableau 7. La valeur "ratio-*F*" dépend du nombre de degrés de liberté (Dl) impliqués dans le modèle et représentée dans la colonne valeur-*P* à un niveau de confiance de 95% par référence à une table statistique. De ce fait, les effets inférieurs à 0,05 dans cette colonne sont considérés comme significatifs.

**Tableau 8 :** Paramètres statistiques de la conception Box-Behnken de la zone d'inhibition pour la variété de miel de Béchar.

Espèce	Effet	Coefficient	Somme des carrés	Ratio-F	Valeur-P
<i>E. coli</i>	Constant	9,76111	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-10,8833	512,0	2560,00	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,975833	0,5	2,50	0,1890
	X <sub>3</sub>	0,555556	8,0	40,00	<b>0,0032</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,13125	86,2132	431,07	<b>0,0000</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,01875	2,25	11,25	0,0285
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,0833333	6,25	31,25	<b>0,0050</b>
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0074375	37,2658	186,33	<b>0,0002</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	-0,00166667	0,25	1,25	0,3262
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0,000444444	0,00263158	0,01	0,9142



<i>S. aureus</i>	Constant	16,3361	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-13,1375	595,125	2975,63	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,98875	1,125	5,63	0,0767
	X <sub>3</sub>	0,355556	12,5	62,50	<b>0,0014</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,30625	114,95	574,75	<b>0,0000</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,00625	0,25	1,25	0,3262
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,1	9,0	45,00	<b>0,0026</b>
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0081875	45,1605	225,80	<b>0,0001</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,0	0,0	0,00	1,0000
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0,00844444	0,95	4,75	0,0948
<i>C. albicans</i>	Constant	19,9778	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-13,3167	648,0	2160,00	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,931667	2,0	6,67	0,0612
	X <sub>3</sub>	0,355556	8,0	26,67	<b>0,0067</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,33125	119,392	397,97	<b>0,0000</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,00625	0,25	0,83	0,4130
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,116667	12,25	40,83	<b>0,0031</b>
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0079375	42,4447	141,48	<b>0,0003</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,00166667	0,25	0,83	0,4130
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0,00577778	0,444737	1,48	0,2903

Selon le tableau ci-dessus on observe que le pH, le temps de chauffage, l'effet quadrique de pH, l'effet quadrique de température et l'effet d'interaction pH et temps de chauffage sont jugés comme étant significatif pour les trois souches microbiennes à savoir ; *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* (Valeur-p < 0,05).

Suite à cette étude statistique, un diagramme de Pareto (figure 32) représentant les différents effets de manière standardisée a pu être élaboré afin de mettre en évidence les effets les plus significatifs par ordre d'importance pour chaque variable (linéaire, d'interaction et quadratique).

La barre transversale représente l'amplitude minimale à laquelle les effets seront considérés comme statistiquement significatifs pour la réponse étudiée, en considérant un niveau de confiance de 95 %.



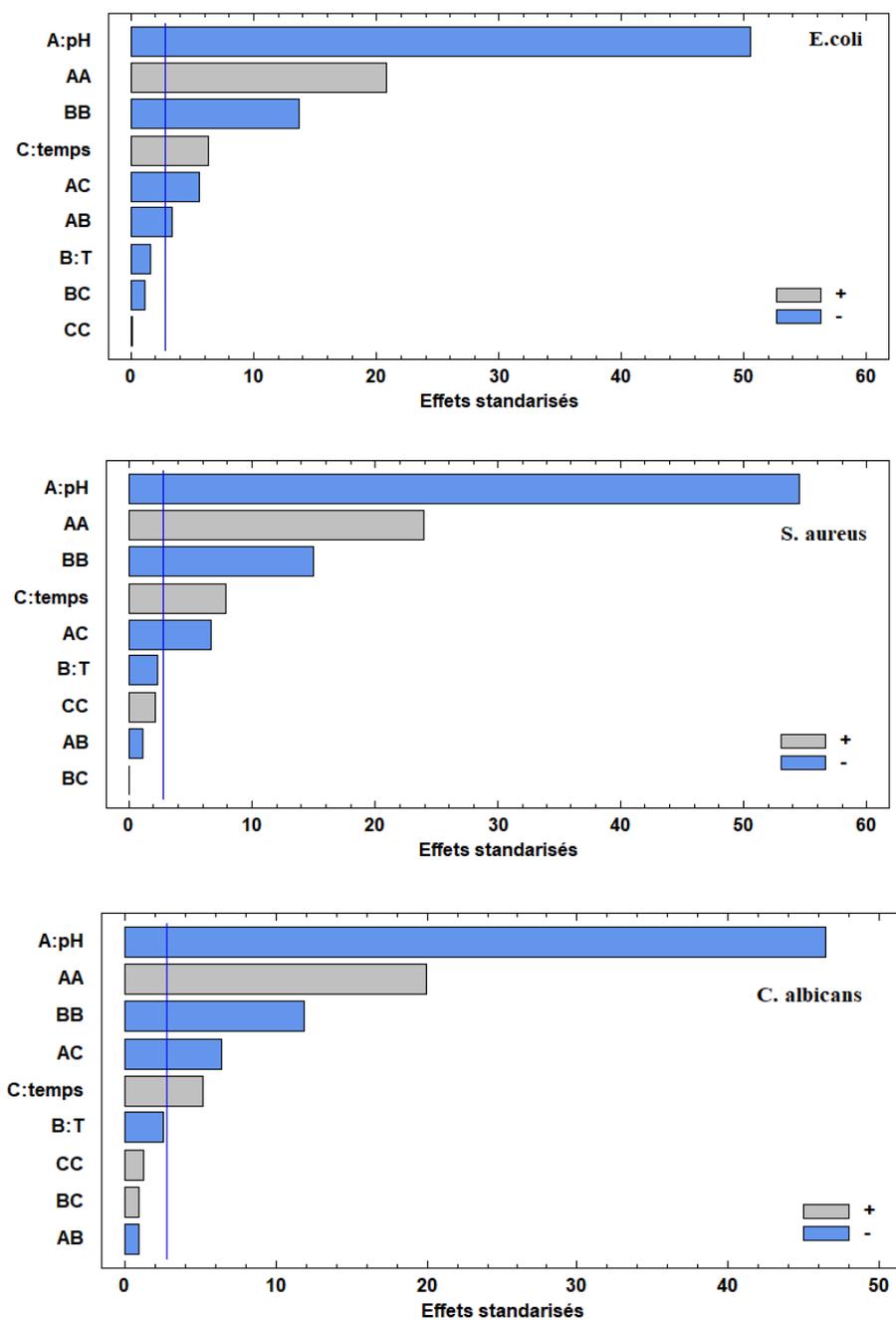
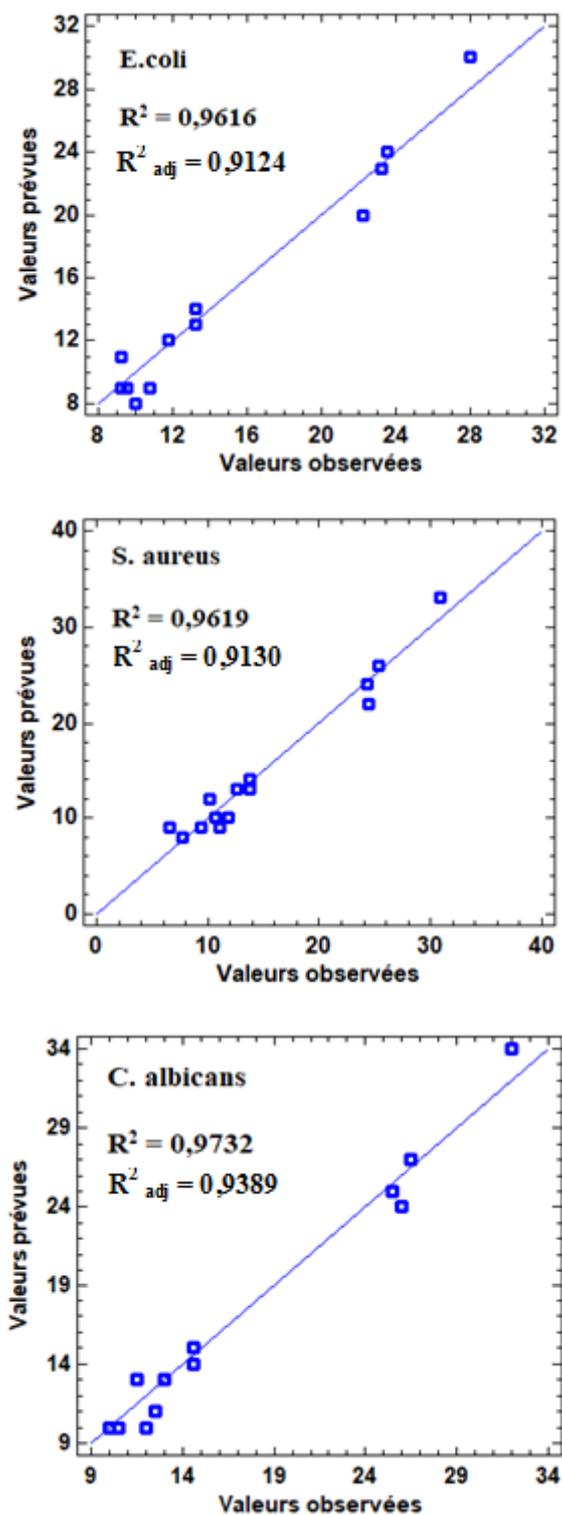


Fig. 32 : Diagramme de Pareto pour variété de miel de Béchar (1)

L'interprétation de ces graphiques pour les différentes souches microbiennes démontre que les facteurs pH et le temps de chauffage sont hautement significatifs. Ils ont des effets négatifs sur la zone d'inhibition. Une diminution de ces deux facteurs diminue l'efficacité d'inhibition, Cependant, l'effet quadrique de température à un effet positif net sur la zone d'inhibition. Un modèle quadratique a été choisi pour déterminer les relations mathématiques entre la zone d'inhibition et les facteurs efficaces.





**Fig. 33 :** Comparaison du zone d'inhibition prévu et observé des différentes espèces pour la variété du miel de Béchar

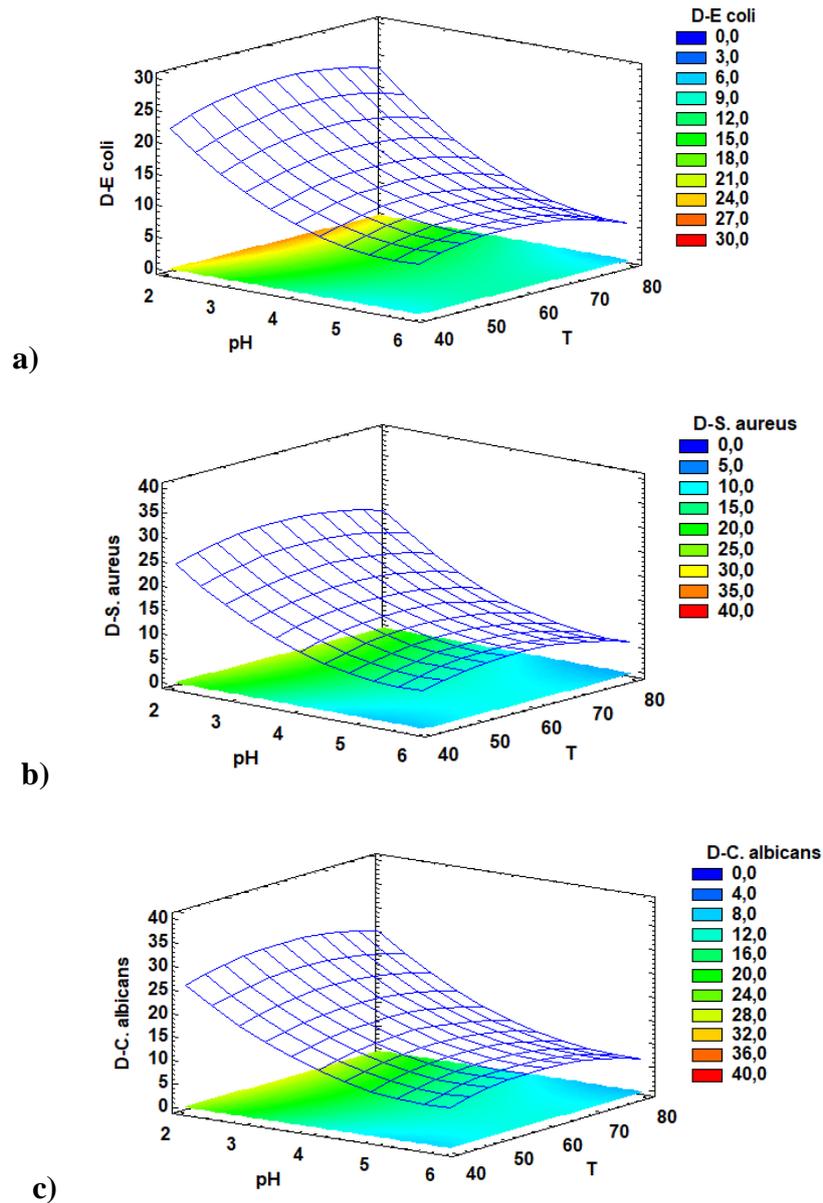
La figure 33 montre les tracés de diagnostic de cette étude d'optimisation. Pour évaluer le degré d'explication du modèle par rapport aux réponses mesurées, le coefficient de corrélation



$R^2$  est établi. La valeur  $R^2$  obtenue est supérieure à 0,961 pour les différentes souches microbiennes, soit plus de 96,1 % de la variation de variable réponse qui s'explique par un modèle, dont on assure un ajustement satisfaisant du modèle quadratique avec les données expérimentales. Ces corrélations sont confirmées par les valeurs de  $R^2$  ajusté ( $R^2_{adj} > 0,9124$ ).

❖ **Analyse de la surface de réponse :**

Des courbes de réponse (figure 34) sont tracées en fixant successivement les trois facteurs à des valeurs centrales.



**Fig. 34 :** Surfaces des réponses de la zone d'inhibition des espèces *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* pour la variété du miel de Béchar à  $t = 12,5$  min



Les résultats ont confirmé que les effets de pH et le le temps de chauffage étaient significatifs pour l'inhibition de la croissance des trois souches microbiennes. Les figures 35a, b et c montrent l'effet de pH (X1) et la température (X2) sur l'inhibition de croissance des bacteries et levure à un temps fixe à 12,5 min (X3 = 0). La surface de réponse montre une diminution du diameter des zones d'inhibition lorsque le pH passe de son niveau -1 à +1.

Les conditions optimales pour d'inhibition de la croissance bactériennes et levure ont été obtenues en analysant les données ci-dessus à l'aide du logiciel Statgraphics Centurion XVI. Ces valeurs optimales et les zones d'inhibition correspondant sont résumés dans le tableau 9.

**Tableau 9 :** Les conditions optimales des zones d'inhibition (théorique et expérimentale) des différents espèces microbiennes pour la variété du miel de Béchar.

Souche microbienne	Valeur réel			Zone d'inhibition théorique (mm)	Zone d'inhibition experimentale (mm)
	pH	T (°C)	t (min)		
<i>E. coli</i>	2,0	60,84	20,0	28,00	30,0
<i>S. aureus</i>	2,0	59,66	19,99	30,88	33
<i>C. albicans</i>	2,0	60,0	20,0	32,00	34

Les conditions optimales de variété du miel de Béchar qui donne une inhibition maximal sur la croissance microbienne en unités réel sont les suivantes : X1 = 2,0 = X2 = 60,84 et 59,66 et 60,0 respectivement pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*) et X3 = 20,0 et 19,99 et 20,0 respectivement pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*). Les diameters des zones d'inhibition expérimentale pour les souches obtenus sont égal à 28,00 et 30,88 et 32,00 pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*), respectivement. La différence entre les diameters des zones d'inhibition prévu (théorique) et expérimentale peut être considérée comme négligeable. tels valeurs pour l'inhibition de croissance des bacteries et levure n'a jamais été obtenue lors des 17 expériences réalisées. Ce résultat est a priori très intéressant.

#### IV.4.1.2. Variété de miel de Saida (2) :

La procédure expérimentale de Box-Behnken comprenant trois paramètres et trois niveaux différents d'expérience, a été aussi mise en place pour étudier la performance de deuxième variété de miel; il s'agit de celle de Saida sur l'activité antimicrobienne par des zones



d'inhibitions vis-à-vis les mêmes souches microbiennes précédemment décrit, et de même pour vérifier les interactions entre les différentes variables.

**Tableau 10 :** Matrice de Box-Behnken des zones d'inhibition pour la variété de miel de Saida (2)

N°	Facteurs actuelles			Zone d'inhibition (mm)					
	pH	T (°C)	t (min)	E. Coli		S. aureus		C. albicans	
				Valeurs actuelles	Valeurs prévues	Valeurs actuelles	Valeurs prévues	Valeurs actuelles	Valeurs prévues
1	4	60	12,5	11,0	11,4	11,0	11,8	12,0	12,4
2	4	40	5	9,0	8,375	10,0	9,5	10,0	9,25
3	4	60	12,5	11,0	11,4	12,0	11,8	12,0	12,4
4	2	60	20	23,0	22,125	25,0	24,25	29,0	28,375
5	2	60	5	20,0	19,625	22,0	21,75	27,0	26,625
6	6	40	12,5	7,0	6,75	7,0	6,75	7,0	7,125
7	6	60	5	7,0	7,875	8,0	8,75	8,0	8,625
8	2	80	12,5	19,0	19,25	21,0	21,25	26,0	25,875
9	6	60	20	8,0	8,375	8,0	8,25	9,0	9,375
10	4	60	12,5	12,0	11,4	13,0	11,8	13,0	12,4
11	4	60	12,5	11,0	11,4	11,0	11,8	12,0	12,4
12	4	40	20	10,0	9,875	10,0	10,0	11,0	10,5
13	6	80	12,5	7,0	6,0	7,0	6,25	8,0	6,875
14	4	80	5	8,0	8,125	9,0	9,0	9,0	9,5
15	4	60	12,5	12,0	11,4	12,0	11,8	13,0	12,4
16	4	80	20	9,0	9,625	10,0	10,5	10,0	10,75
17	2	40	12,5	18,0	19,0	20,0	20,75	24,0	25,125

\* Cinq tests supplémentaires au point central (0, 0, 0)

Les conditions expérimentales des 17 expériences du BBD sont présentés dans le tableau 10, avec les réponses mesurées pour chacune des expériences.

#### ❖ Analyse statistique :

Une analyse de la variance a été effectuée sur les résultats obtenus (tableau 10). Cela permet de vérifier la pertinence des variables impliquées dans le plan expérimentale et de représenter graphiquement l'importance de chaque paramètre sur la réponse obtenue (Diamètres des zones d'inhibitions). Le principe de l'analyse est la même précédemment décrit.



**Tableau 11** : Paramètres statistiques de la conception Box-Behnken de la zone d'inhibition pour la variété de miel de Saida.

Espèce	Effet	Coefficient	Somme des carrés	Ratio-F	Valeur-P
<i>E. coli</i>	Constant	14,2306	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-9,24583	325,125	1083,75	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,64125	0,125	0,42	0,5538
	X <sub>3</sub>	0,377778	4,5	15,00	<b>0,0179</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0,85625	49,3921	164,64	<b>0,0002</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,00625	0,25	0,83	0,4130
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,0333333	1,0	3,33	0,1419
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0051875	18,1289	60,43	<b>0,0015</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,0	0,0	0,00	1,0000
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-0,00577778	0,444737	1,48	0,2903
<i>S. aureus</i>	Constant	20,3222	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-10,575	420,5	600,71	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,611667	0,0	0,00	1,0000
	X <sub>3</sub>	0,177778	2,0	2,86	<b>0,0166</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0,99375	66,5289	95,04	<b>0,0006</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,00625	0,25	0,36	0,5823
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,05	2,25	3,21	0,1475
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0050625	17,2658	24,67	<b>0,0077</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,00166667	0,25	0,36	0,5823
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-0,000444444	0,00263158	0,00	0,9541
<i>C. albicans</i>	Constant	30,9944	-	-	-
	X <sub>1</sub>	-16,1417	684,5	2281,67	<b>0,0000</b>
	X <sub>2</sub>	0,69125	0,125	0,42	0,5538
	X <sub>3</sub>	0,238889	3,125	10,42	<b>0,0321</b>
	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,5125	154,116	513,72	<b>0,0000</b>
	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0,00625	0,25	0,83	0,4130
	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-0,0166667	0,25	0,83	0,4130
	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0,0055	20,3789	67,93	<b>0,0012</b>
	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,0	0,0	0,00	1,0000
	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-0,00355556	0,168421	0,56	0,4954



Selon le tableau ci-dessus on observe que le pH, le temps de chauffage, l'effet quadrique de pH et l'effet quadrique de temps de chauffage sont jugés comme étant significatif pour les trois souches objets de ce test (Valeur-p < 0,05).

Un diagramme de Pareto est effectuée suite à cette étude statistique, (figure 35) représentant les différents applications de manière standardisée et qui pu être élaboré afin de mettre en évidence les effets les plus significatifs par ordre d'importance pour chaque variable (linéaire, d'interaction et quadratique).

La barre transversale représente l'amplitude minimale à laquelle les effets seront considérés comme statistiquement significatifs pour la réponse étudiée 95 %.

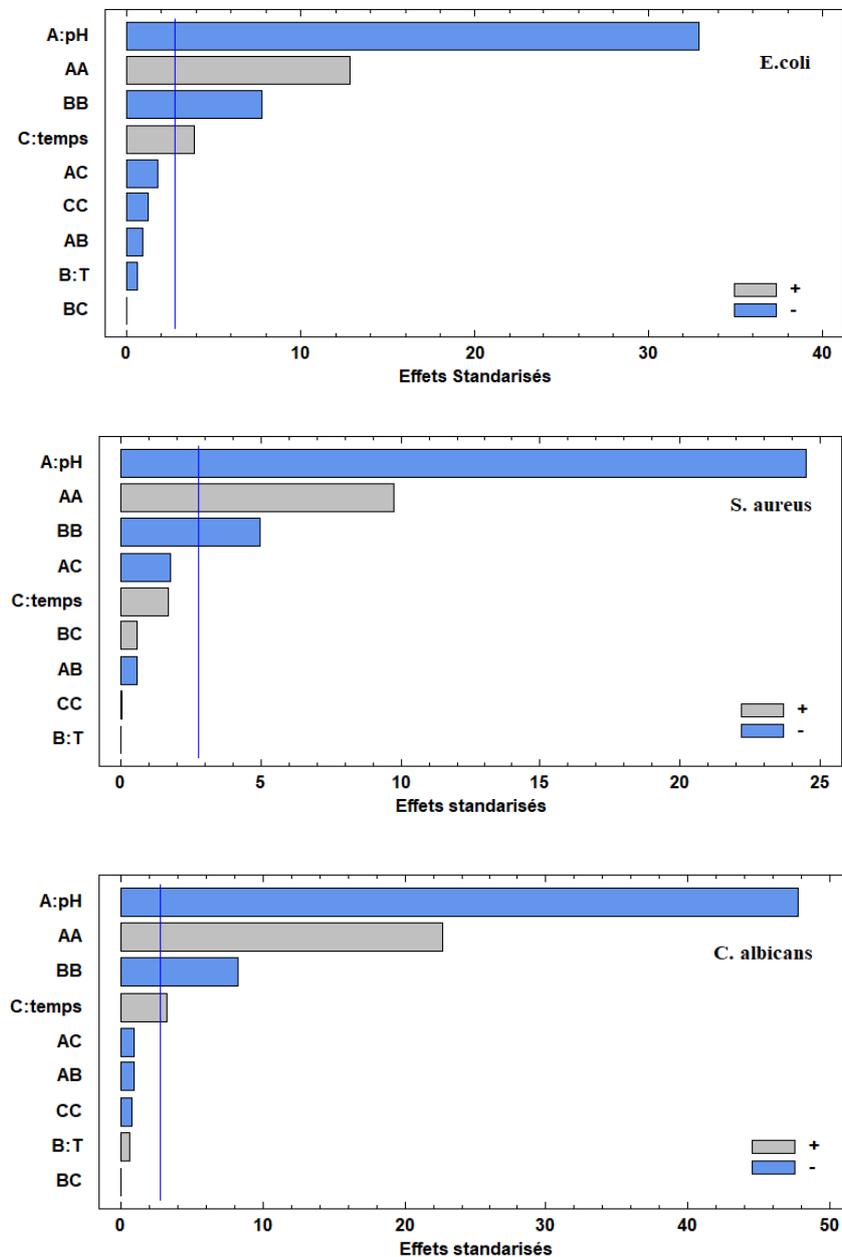
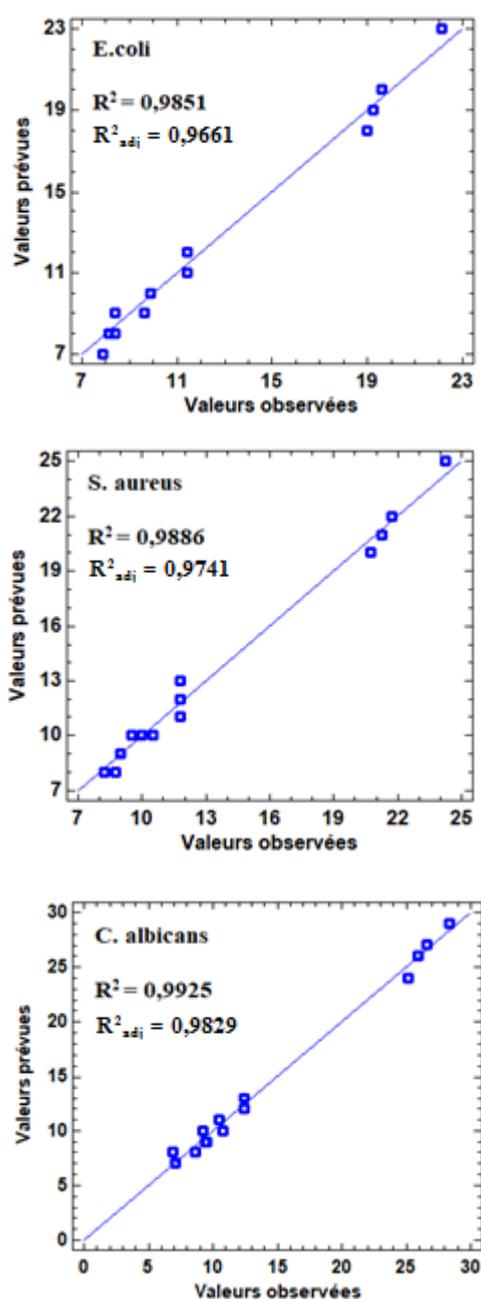


Fig. 35: Diagramme de Pareto pour variété de miel de Saida (2)



L'interprétation de ces graphiques pour les différentes souches microbiennes démontre que les facteurs pH et le temps de chauffage sont hautement significatifs. Ils ont des effets négatifs sur la zone d'inhibition. Cependant, l'effet de température à un effet positif net sur la zone d'inhibition.

Un modèle quadratique a été choisi pour déterminer les relations mathématiques entre la zone d'inhibition et les facteurs efficaces.



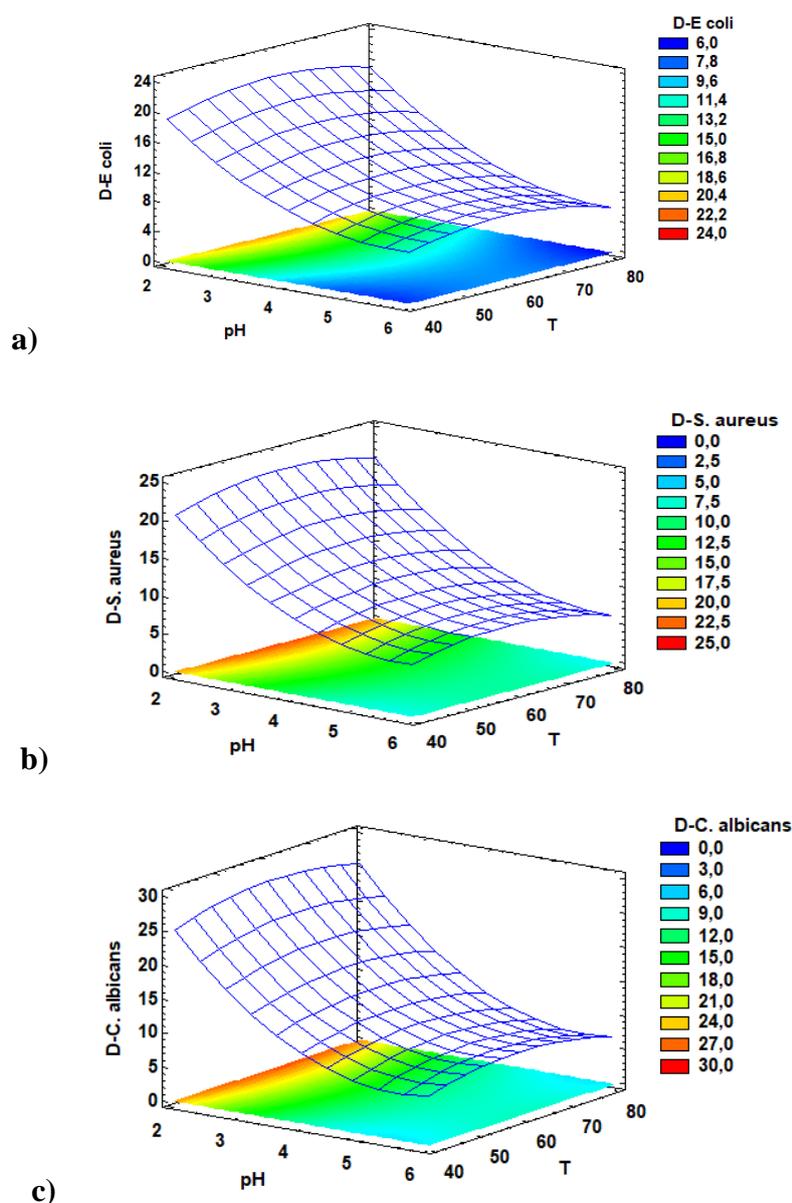
**Fig. 36 :** Comparaison du zone d'inhibition prévu et observé des différentes espèces pour la variété du miel de Saida



La figure 36 illustre les tracés de diagnostic de cette étude d'optimisation. Pour évaluer le degré d'explication du modèle par rapport aux réponses mesurées, le coefficient de corrélation  $R^2$  est établi. La valeur  $R^2$  obtenue est supérieure à 0,985 pour les différentes bactéries et levure, soit plus de 98,5 % de la variation de variable réponse qui s'explique par un modèle, dont on assure un ajustement satisfaisant du modèle quadratique avec les données expérimentales. Ces corrélations sont confirmées par les valeurs de  $R^2$  ajusté ( $R^2_{adj} > 0,9741$ ).

#### ❖ Analyse de la surface de réponse :

Des courbes de réponse (figure 37) sont tracées en fixant successivement les trois facteurs à des valeurs centrales.



**Fig. 37 :** Surfaces des réponses de la zone d'inhibition des espèces *E. coli* , *S aureus* et *C. albicans* pour la variété du miel de Saida à  $t = 12,5$  min



Les résultats ont confirmé que les effets de pH et le temps de chauffage étaient significatifs pour l'inhibition de la croissance des trois souches microbiennes. Les figures 35a, b et c montrent l'effet de pH (X1) et la température (X2) sur l'inhibition de croissance des bactéries et levure à un temps fixe à 12,5 min (X3 = 0). La surface de réponse montre une diminution du diamètre des zones d'inhibition lorsque le pH passe de son niveau -1 à +1.

Les conditions optimales pour l'inhibition de la croissance bactériennes et levure ont été obtenues en analysant les données ci-dessus à l'aide du logiciel Statgraphics Centurion XVI. Ces valeurs optimales et les zones d'inhibition correspondant sont résumés dans le tableau 12.

**Tableau 12 :** Les conditions optimales des zones d'inhibition (théorique et expérimentale) des différents espèces microbiennes pour la variété du miel de Saida.

Souche microbienne	Valeur réel			Zone d'inhibition théorique (mm)	Zone d'inhibition expérimentale (mm)
	pH	T (°C)	t (min)		
<i>E. coli</i>	2,0	60,59	19,99	22,12	23,0
<i>S. aureus</i>	2,0	62,43	20,0	24,25	25,0
<i>C. albicans</i>	2,0	61,66	19,99	28,37	29,0

Les conditions optimales de variété du miel de saida qui donne une inhibition maximal de croissance microbienne en unités réel sont les suivantes : X1 = 2,0 = X2 = 60,59 et 62,43 et 61,66 respectivement pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*) et X3 = 19,99 et 20,0 et 19,99 respectivement pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*). Les diameters des zones d'inhibition expérimentale pour les souches obtenus sont égal à 23,0 et 25,0 et 29,0 pour les trois souches à savoir (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*), respectivement. La différence entre les diameters des zones d'inhibition prévu (théorique) et expérimentale peut être considérée comme négligeable. tels valeurs pour l'inhibition de croissance des bactéries et levure n'a jamais été obtenue lors des 17 expériences réalisées. Ce résultat est a priori très intéressant.

#### IV.5. Résultats d'activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne de deux variétés du miel (Béchar et Saida) en fonction de différents paramètres à savoir ; pH, la température et le temps de chauffage a été



effectuée sur trois espèces microbiennes tout en déterminant les taux des polyphénols et flavonoïdes.

#### IV.5.1. Variété de miel de Béchar (1) :

Le tableau 13 récapitule les différents résultats obtenus avec la variété de miel de Béchar.

**Tableau 13 :** Résultats d'activité antimicrobienne de différentes espèces microbiennes sur la variété du miel de Béchar et détermination des teneurs TPC et TFC

N°	Facteurs			Zone d'inhibition (mm)				
	pH	T (°C)	t (min)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	TPC (mg GAE/100 g)	TFC (mg QE/100 g)
1	6	40	12,5	08	08	09	85.09	37.4
2	2	60	20	30	33	34	101.40	54.0
3	4	40	20	12	13	13	93.07	47.9
4	4	60	12,5	13	14	15	95.08	48.2
5	4	80	20	09	10	11	96.0	45.3
6	2	60	5	24	26	27	101.20	52.7
7	2	80	12,5	23	24	25	99.5	51.4
8	6	80	12,5	08	09	09	88.52	38.5
9	4	60	12,5	13	13	14	94.82	46.9
10	4	80	5	09	09	10	99.7	44.1
11	6	60	5	08	09	10	89.25	41.2
12	4	60	12,5	13	14	14	94.81	47.0
13	4	60	12,5	14	14	15	95.12	48.1
14	2	40	12,5	20	22	24	97.12	49.6
15	4	60	12,5	13	14	15	95.12	46.7
16	4	40	5	11	12	13	92.09	42.1
17	6	60	20	09	10	10	90.21	42.0

Le tableau ci-dessus résume les différents résultats d'activité antimicrobienne en coordination avec leurs taux des polyphénols (TPC) et flavonoïdes (TFC).

Le pH et le temps ont eu un impact significatif sur le TPC avec un niveau d'adéquation du modèle assez élevé ( $R^2 = 0,98$ ).

Une augmentation du TPC correspondait à une augmentation de l'activité antimicrobienne chez les trois souches mais par ordre décroissant dont chez *C. albicans* mieux que *S. aureus* et plus que *E. coli* qui pourrait être attribuée à la production de produits riches en pouvoir inhibitrice qui peut être principalement attribuée aux polyphénols [19] et la structure de



parois bactérienne. L'augmentation des taux de TPC par regression de pH (2 à 6) et avec l'augmentation de température (40 à 80 °C), probablement dû aux composés phénoliques, car ceux-ci réduisaient la sensibilité à l'oxydation à une diminution des taux de TPC relativement au pH du à la protection des groupes hydroxyle par protonation [19].

Les variables du test (pH et temps) se sont avérées significative sur TFC avec un important coefficient de détermination ( $R^2 = 0,97$ ).

Le TFC était plus élevée à pH acide car l'activité antimicrobienne des polyphénols est plus élevée à pH acide et diminue de manière progressive avec l'augmentation du pH de 2 à 6 en raison de déprotonation des groupes hydroxyle [20].

#### IV.5.1. Variété de miel de Saida (2) :

Le tableau 14 résume les différents résultats obtenus avec la variété de miel de Saida.

**Tableau 14 :** Résultats d'activité antimicrobienne de différentes espèces microbiennes sur la variété du miel de saida et détermination des teneurs TPC et TFC

N°	Facteurs			Zone d'inhibition (mm)				
	pH	T (°C)	t (min)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	TPC (mg GAE/100 g)	TFC (mg QE/100 g)
1	6	40	12,5	07	07	07	70.06	27.89
2	2	60	20	23	25	29	91.37	47.12
3	4	40	20	10	10	11	79.44	34.15
4	4	60	12,5	11	11	12	85.78	41.15
5	4	80	20	09	10	10	82.0	37.22
6	2	60	5	20	22	27	90.33	46.45
7	2	80	12,5	19	21	26	89.08	44.97
8	6	80	12,5	07	07	08	75.0	28.43
9	4	60	12,5	11	12	12	84.67	40.97
10	4	80	5	08	09	09	81.73	36.46
11	6	60	5	07	08	08	78.05	30.26
12	4	60	12,5	12	13	13	84.01	41.09
13	4	60	12,5	11	11	12	85.12	41.67
14	2	40	12,5	18	20	24	87.71	43.0
15	4	60	12,5	12	12	13	85.99	42.0
16	4	40	5	09	10	10	92.09	33.51
17	6	60	20	08	08	09	77.54	31.0



Le tableau ci-dessus résume les différents résultats d'activité antimicrobienne en coordination avec leurs taux des polyphénols (TPC) et flavonoïdes (TFC).

Le pH et le temps ont eu un impact significatif sur le TPC avec un niveau d'adéquation du modèle assez élevé ( $R^2 = 0,96$ ).

La même appréciation est observée pour la sensibilité des différentes souches microbiennes étudiées vis-à-vis la variété de miel de Saida traduit par une augmentation du TPC correspondait à une augmentation de l'activité antimicrobienne mais par ordre toujours décroissant dont chez *C. albicans* mieux que *S. aureus* et plus que *E. coli* qui pourrait être attribuée à la production de produits riches en pouvoir inhibitrice qui peut être principalement attribuée aux polyphénols [19] et qui peut être aussi expliquée par la structure de parois bactérienne. Cette réponse favorable à l'augmentation des taux de TPC et diminution de pH (2 à 6) et avec élévation de la température (40 à 80 °C) est probablement dû aux composés phénoliques, car ceux-ci réduisaient la sensibilité à l'oxydation à une diminution des taux de TPC relativement au pH dû à la protection des groupes hydroxyle par protonation [20].

Les variables du test (pH et temps) se sont avérées significatives sur TFC avec un important coefficient de détermination ( $R^2 = 0,96$ ). Le TFC était plus élevée à pH acide car l'activité antimicrobienne des polyphénols est plus élevée à pH acide et diminue de manière progressive avec l'augmentation du pH de 2 à 6 en raison de déprotonation des groupes hydroxyle [20].



**Référence bibliographique :**

- [1]. **Codex alimentais commission.** Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey : 2001. 1-7.
- [2]. **Houmani Z., Belhadj S., Mekious S., Masseaux C., Daoud N.** Caractéristiques Méliissopalynologiques Et Contenu Phénolique Du Miel De *Ziziphus Lotus* D'Algérie. Article, 2020 .p220-228.
- [3]. **Gonnet.** « L'analyse des miels ». Description de quelques méthodes de contrôle de qualité. Bull. Tech. Apic, 1986. 54, 13 (1) PP 17-36.
- [4]. **Codex alimentais commission.** Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey : 2001. 1-7.
- [5]. **Ajlouni, S., & Sujirapinyokul, P.** Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food chemistry*, 2010. 119(3), 1000-1005
- [6]. **Horn, Helmut und Lüllmann.** Cord. DAS GROBE HONIGBUC. Verlag: Ehrenwirth, München, 1992.
- [7]. **CIM.** Qualité du miel et normes internationales. Rapport de la commission internationale de miel, abeille et Cie. N° 71, 1999. 20-25.
- [8]. **Khenfar, A., Fettal, M.** Les produits de la ruche. Edition PAO. 2001. 11-13.
- [9]. **Bogdanov S., Gallmann P., Stangaciu S., Cherbuliez P.** « Produits apicoles et sant». ALP forum No 41F. 2006. 52 p.
- [10]. **Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S.** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food chemistry*, 2009. 112(4), 863-867.
- [11]. **Snowdon, J. A., and Cliver, D. O.** Microorganisms in honey. *Int J Food Microbiol.* 1996. 31, 1-26.
- [12]. **Silvia P., Ersilia A., Diana O., tioiu, I.C., Isidora R., Adina B., Roxana N.L., Eliza S., Nicoleta M.V., Anca H., Dragos, M.** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Some Types of Honey from Banat Region, Romania. *Molecules.* 2022. 27, 4179.
- [13]. **Elicoh-Middleton, J., Chithan, K., and Theoharis, C.** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2000. 4(52), 673-751.



- [14]. **Gok, S., Severcan, M., Goormaghtigh, E., Kandemir, I., Severcan, F.** Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis. *Food Chem.* 2015. 170
- [15]. **Tewari, J., Irudayaraj, J.,** Quantification of Saccharides in Multiple Floral Honeys Using Fourier Transform Infrared Microattenuated Total Reflectance Spectroscopy. 2004.
- [16]. **Anjos, O., Campos, M.G., Ruiz, P.C., Antunes, P.,** Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food Chem.* 2015. 169
- [17]. **Li-Chan, E., Chalmers, J., Griffiths, P.,** Applications of Vibrational Spectroscopy in Food Science. 2011. 872.
- [18]. **Gulzar Ahmad N., Vikas N., Beenish Z., Dar B.N., Mohammad J. A., Sami Al O., Otilia B.** Response surface approach to optimize temperature, pH and time on antioxidant properties of wild bush (*Plectranthus rugosus*) honey from high altitude region (Kashmir Valley) of India. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 2022. 29, 767–773
- [19]. **Nayik, G.A., Nanda, V.,** Physico-chemical, enzymatic, mineral and colour characterization of three different varieties of honeys from Kashmir valley of India with a multivariate approach. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 2015. 65 (2), 101–108.
- [20]. **Nayik, G.A., Dar, B.N., Nanda, V.,** Optimization of the process parameters to establish the quality attributes of DPPH radical scavenging activity, total phenolic content, and total flavonoid content of apple (*Malus domestica*) honey using response surface methodology. *Int. J. Food Prop.* 2016. 19 (8), 1738–1748.



## ***Conclusion générale***

---

**L**e miel est un aliment très apprécié, il est surtout utilisé à des fins thérapeutiques. C'est pour cette raison que sa qualité doit être correctement traitée, bien conservé et de très près surveillée, afin qu'il reste un produit de bonne qualité et qui gardera l'essentiel de ses qualités organoleptiques et biologiques d'origine.

**A** des fins thérapeutiques, ce produit naturel est aussi très largement utilisé. Mais Hélas...!! Pour atteindre ces vertus pharmacologiques, spécialement antimicrobienne, certaines paramètres physico-chimiques doit être optimiser et contrôler.

**G**lobalement, ce travail de recherche a vu le jour pour répondre à des questions pertinentes concernant le quadrillage de l'activité antimicrobienne tout on optimisant certains paramètres physico-chimiques qui reste un impératif; et qui sont toujours d'actualité, malgré l'évolution de la production et la profusion d'études scientifiques sur cette thématique. Suite à cela notre étude a abouti aux conclusions suivantes :

**L**a détermination de la teneur en humidité est importante pour la qualité du miel car elle nous permis de connaître les conditions de stockage et la fermentation du miel. Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons étudiés, de Béchar et Saida, contiennent un taux d'humidité inférieur ou égale à 14%. Selon les normes prescrits par la commission internationale du miel, la fermentation devient rare dans les miels ayant une teneur en eau inférieur à 19%, c'est le cas de tous nos échantillons.

**L**a détermination de la conductivité électrique et du pH nous a permis de connaître l'origine et le type des miels. Les résultats obtenus pour les valeurs de conductivité électrique et pH révèlent que la variété de miel de Saida est un miel de fleur (nectar) avec (0,47 mS/cm, 3,81), respectivement par contre celle de Béchar est un miel de forêt (miellat) avec (0,91 mS/cm, 5,12), respectivement.

**P**our l'acidité libre les valeurs varient de 15 Meq/kg à 40 Meq/kg pour la variété de miel de Béchar et Saida, respectivement. Il est à noter que nos échantillons de miel sont conformes aux normes de qualité préconisés par le Codex Alimentarius et l'Union Européenne (< 50 Meq /kg).



## ***Conclusion générale***

---

**L**a richesse de nos variétés de miel en composés phénoliques permet d'expliquer leur utilisation en médecine traditionnelle. Cela est témoigné avec les taux en polyphénols totaux (TPC) pour les variétés de Béchar et Saida (1447,14 GAE mg/100g, 1297,29 GAE mg/100g), respectivement et les taux en flavonoïdes totaux (TFC) pour les variétés de Béchar et Saida (525,7 QE mg/100g, 501,22 QE mg/100g), respectivement.

**L**es analyses FT-IR réalisés sur nos deux variétés de miel d'origine de Béchar et Saida dévoilent l'existence de plusieurs métabolites secondaires témoignant sur leurs activités pharmacologique à savoir; les glucides, les protéines et les acides carboxyliques.

**L**es analyses de plan d'expérience nous a permis de prédire que l'activité antimicrobienne est largement sensibiliser avec la variation de pH, la température et le temps de chauffage. En ajustant tout les trois variables de processus (pH, température et temps de chauffage), il est possible d'optimiser les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux ainsi que l'activité antimicrobienne du miel. Le pH bas, la température modérée (60 °C), et le temps prolongé s'est avéré être le choix le plus souhaité pour une bonne activité antimicrobienne.

**F**inalement, nous pouvons affirmer que ces miels offrent des possibilités intéressantes quant à leur utilisation en médecine douce et qu'il serait intéressant de les développer dans les futurs travaux.

**N**ous proposons les perspectives suivantes à notre étude :

- ❖ Elargir l'étude on essayons de voir l'effet de d'autres facteurs tel que la durée de stockage sur d'autres activités.
- ❖ Tester le potentiel de ce produit naturel avec d'autres produits naturels ou synthétique et pourquoi pas des matériaux organiques ou minérales sur les différents activités pharmacologiques.
- ❖ Essayer d'expliquer le mécanisme des activités pharmacologiques de ces produits apicoles.

