



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Production et Biotechnologie Animales

THÈSE

Présentée pour l'obtention du Diplôme de

Doctorat 3^{ème} Cycle LMD

Par

Mme RADJA Djamaia Sabiha

Intitulé

Diversité de la flore mellifère et caractéristiques des miels dans la région de Mostaganem

Soutenue publiquement le : 31.10.2024

Devant le jury composé de :

Président	Pr. Larid Mohamed	Université de Mostaganem
Directeur de thèse	Pr. Haddad Ahmed	C. U. El Bayedh
Co-directrice de thèse	MCB. Homrani Mounia	Université de Mostaganem
Examineur	MCA. Ait Saada Djamel	Université de Mostaganem
Examineur	Pr. Belhadi Abdelkader	Université de Saida

Année Universitaire (2024-2025)



Table des matières

Introduction	1
Partie I	
Chapitre I. Généralités sur le miel	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Origine du miel	5
I.2.1. Nectar	5
I.2.2. Miellat	5
I.3. Description des abeilles	6
I.3.1 Période de butinage.....	8
I.3.2. Formation du miel.....	8
I.3.3. Récolte.....	8
I.4. Production du miel en chiffres dans la région de Mostaganem	10
Chapitre II. Caractérisation pollinique des miels	12
II.1. L'abeille et le monde végétal	12
II.2. Pollinisation	12
II.3. Pollen.....	13
II.4. Structure, composition et taille du grain de pollen.....	14
II.5. Forme et symétrie du grain de pollen	15
II.5.1.Symétrie	15
II.5.2. Forme	16
II.5.3. Apertures.....	16
II.5.4. Ornementation de l'exine.....	17
Figure 12 : différentes formes d'ornementation de l'exine (Punt <i>et al</i> , 1994)	17
II.6. Origine du pollen dans le miel	17
II.7.Plantes mellifères.....	18
II.8.Principaux type de miel selon leurs origines florales	20
II.8.1. Miels monofloraux	20
II.8.2.Miels polyfloraux	21
II.9. Méliissopalynologie.....	22
II.9.1. Analyse pollinique qualitative	22
II.9.2. Analyse pollinique quantitative	23
II.9.3. Méthodes utilisées en méliissopalynologie	24
II.9.3.1. Méthode classique.....	24
II.9.3.2. Méthode de l'Acétolyse	24
II.10. Labellisation du miel	25
II.11. Etiquetage.....	26

II.11.1. Dénomination de vente	26
II.11.2. Date limite de consommation	27
Chapitre III. Caractérisation physicochimique	28
III.1. Composition chimique du miel	28
III.2. Propriétés physicochimiques des miels	30
III.2.1. Viscosité	30
III.2.2. Densité	30
III.2.3. Hygroscopicité	30
III.2.4. Activité de l'eau (aw)	31
III.2.5. Abaissement du point de congélation	31
III.2.6. Couleur	31
III.2.7. Solubilité	31
III.2.8. Contrôle de qualité du miel	31
III.2.8.1. Teneur en eau	32
III.2.8.2. Teneur en hydroxyméthylfurfural	32
III.2.8.3. Indice diastasique	33
III.2.8.4. pH et acidité	34
III.2.8.5. Conductivité électrique (CE)	34
III.2.8.6. Sucres	34
III.2.8.6.1. Teneurs en matières insolubles dans l'eau	35
III.3. Conditions de stockage du miel	36
III.3. Modes d'altération du miel	36
III.3.1. Cristallisation	36
III.3.2. Fermentation	37
III.3.3. Changement de couleur du miel	37
III.3.4. Détérioration par la chaleur	38
Chapitre IV. Propriétés biologiques du miel	39
IV.1. Propriétés antibactériennes	39
IV.1.1. Pression osmotique	39
IV.1.2. pH	39
IV.1.3. Formation du peroxyde d'hydrogène	39
IV.1.4. Méthylglyoxal (MGO)	40
IV.1.5. Défensine d'abeille-1	40
IV.1.6. Composés phénoliques	41
IV.1.7. Microorganismes	41
IV.2. Activité antioxydante	41
IV.3. Activité anti-tumorale et anti-inflammatoire	44

IV.4. Activité immunomodulatrice.....	45
IV.5. Activité antidiabétique.....	45
IV.6. Apithérapie et miel médical.....	46
IV.6.1. Miel médical.....	46
IV.6.2. Conditionnement du miel médical.....	47
IV.6.3. Contre-indications et précautions d'emploi.....	47
IV.6.4. Usages externes.....	47
IV.6.4.1. Applications sur la peau et les muqueuses.....	47
IV.6.4.2. En ophtalmologie.....	48
IV.6.5. Usages internes.....	48
IV.6.5.1. Traitement des gastroentérites.....	48
IV.6.5.2. Affections respiratoires.....	48
IV.6.5.3. Effet prébiotique.....	49
IV.6.6. Usage vétérinaire du miel.....	49
IV.6.6.1. Traitement des mammites chez les bovins.....	49
IV.6.7. Intérêts.....	50
IV.6.7.1. Disponibilité et facilité de conservation et d'utilisation.....	50
IV.6.7.2. Coût.....	50
IV.6.7.3. Innocuité.....	51
Chapitre V. Miel et bactéries lactiques.....	52
V.1. Microorganismes du miel.....	52
V.2. Bactéries lactiques.....	53
V.3. Intérêts des bactéries lactiques.....	54
V.4. Rôle des bactéries lactique dans le miel.....	56

Partie II

I. Objectifs.....	57
Chapitre II. Présentation de la zone d'étude.....	58
II. Présentation de la zone d'étude.....	57
III. Matériels et méthodes.....	60
III.1. Matériels.....	60
III.1.1. Echantillonnage.....	60
III.1.2. Souches bactériennes pathogènes.....	62
III.1.3. Milieux de cultures utilisées.....	62
III.2. Méthodes.....	63
III.2.1. Situation de la filère apicole dans la région de Mostaganem.....	63
III.2.2. Analyses polliniques des miels (méliissopalynologie).....	63
III.2.2.1. Analyse quantitative.....	63

III.2.2.2. Analyse qualitative	64
III.2.3.1. Teneur en eau	65
III.2.3.2. Conductivité électrique.....	65
III.2.3.2. pH	66
III.2.3.3. Détermination de la teneur en Hydroxyméthyl-fulfural (HMF).....	66
III.2.3.4. Intensité de la couleur ABS450	66
III.2.3.5. Dosage des sucres	67
III.2.3.6. Dosage des polyphénols totaux.....	68
III.2.3.7. Dosage des flavonoides	68
III.2.4. Caractérisation biologiques des miels.....	69
III.2.4.1. Activité antioxydante.....	69
III.2.4.2. Activité antibactérienne	70
III.2.4.2.1. Revivification des souches pathogènes	70
III.2.4.2.2. AntibioGramme des souches indicatrices	70
III.2.4.2.3. Estimation de l'activité antibactérienne des miels	70
III.2.5. Isolement, identification et effet inhibiteur des lactobacilles	71
III.2.5.1. Isolement des lactobacilles à partir des miels	71
III.2.5.1.1. Préparation de la solution mère	71
III.2.5.1.2. Pré-enrichissement et isolement de bactéries lactiques.....	71
III.2.5.2. Identification phénotypique	71
III.2.5.2.1. Test de catalase	71
III.2.5.2.2. Coloration de Gram	72
III.2.5.2.3. Purification et conservation	72
III.2.5.3. Identification moléculaire par REP-PCR (séquençage d'ADNr 16S).....	72
III.2.5.3.1. Extraction de l'ADN.....	73
III.2.5.3.2. Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par	74
spectrophotométrie	74
III.2.5.3.3. Amplification d'ADN par PCR	74
III.2.5.3.4. Électrophorèse sur gel d'agarose	75
III.2.5.3.5. Comparaison des séquences d'ADN obtenues	75
III.2.6. Etude de l'activité antibactérienne des lactobacilles isolés à partir des miels :	75
III.2.6.1. Méthode des spots (Fleeming et al 1975).....	75
III.2.6.2. Méthode des puits (Barfoot et Klaenhammer, 1983)	76
III.2.7. Traitement statistique des résultats.....	76
IV.1. Situation de l'apiculture dans la région de Mostaganem.....	76
IV.1.1. Apiculteur	76
IV.1.2. Conduite de rucher	77

IV.1.3. Production	78
IV.1.4. Contraintes de la filière.....	78
V.2. Analyse palynologique.....	80
IV.2.1. Analyse pollinique quantitative	80
V.2.2. Analyse qualitative	83
V.2.2.1. Nombre des formes polliniques et leurs densités relatives.....	83
V.2.2.2. Diversité taxonomique spécifique	85
V.2.2.3. Spectre de fréquence des types polliniques des miels analysés.....	86
V.2.2.4. Spectre de fréquence des familles botaniques des miels analysés	87
V.2.2.5. Spectre pollinique des miels selon l'origine géographique	88
V.2.2.6. Origine botanique et typicité des miels dans la région de Mostaganem	90
V.2.2.7. Typicité des miels monofloraux dans la région de Mostaganem.....	93
V.2.2.7.1. Miel d' <i>Eucalyptus</i>	93
V.2.2.7.2. Miel d'agrumes	95
V.2.2.7.3. Miels de <i>Genista</i>	96
V.2.2.7.4. Miel de carotte sauvage.....	97
V.2.2.7.5. Miel de grenadier	98
VI. Caractérisation physicochimique	100
VI. 1. Teneur en eau	100
VI. 2. pH.....	102
VI.3. Conductivité électrique.....	103
VI.4. Teneur en Hydroxyméthyl-furfural.....	105
VI .5. Dosage des sucres	106
VI.6. Intensité de la couleur ABS ₄₅₀	112
VII. Etude des propriétés biologiques	115
VII.1. Dosage des polyphénols totaux	115
VII.2. Dosage des flavonoides	117
VII.3. Estimation de l'activité antioxydante	119
VII .4. Effet antibactérien des miels contre des bactéries pathogènes	124
VII.4.1. Effet inhibiteur des miels contre des souches bactériennes pathogènes selon l'origine botanique.....	126
VIII. Caractérisation microbiologique des miels frais	133
VIII.1. Isolement des lactobacilles	133
VIII.2. Screening des bactéries du genre <i>Lactobacillus</i>	134
VIII 3. Nombre de lactobacilles détectés dans les miels frais selon leur région, origine botanique et le milieu d'isolement.....	137
VIII.4. Fréquence de distribution des lactobacilles selon les milieux d'isolement	139

VIII. 5. Identification géotypique	140
VII.6.1. Antibiogramme des souches bactériennes indicatrices	142
VIII. 6.2. activité antibactérienne de la culture des lactobacilles (méthode de double couche) :	144
VIII.6.3. Activité antibactérienne des surnageants des cultures bactériennes	146
Conclusion générale	151
Les références bibliographiques	155

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens tout d'abord à remercier particulièrement et profondément mon directeur de thèse Pr Haddad Ahmed et ma co-directrice de thèse Dr Homrani Mounia pour ses précieux conseils, ses orientations, ses supervisions et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je remercie également le Pr Larid pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury de Thèse ; sincères reconnaissances.

Aux membres du jury : Pr Ait Saada Djamal et Pr Belhadi Abdelkader. d'avoir accepté de juger notre Thèse ; nos profonds respects.

Je voudrais adresser de profonds remerciements à Dr. DAHOU Abdelkader El- Amine pour son soutien moral et son aide précieuse et sa disponibilité dans les moments les plus difficiles.

Je tiens à remercier infiniment Dr. YEROU Houari, Mr MEHABA Nabil et Mr Daoudi Mohamed pour leur aide précieuse dans l'analyse des données.

Je remercie particulièrement Pr HOMRANI Abdelkader, directeur de laboratoire des sciences et techniques de production animale, mes collègues doctorants ainsi qu'au laborotain.

Je souhaite bien évidemment remercier mes parents, ma famille, mon mari ,mon fils Amir et ma belle famille pour leur soutien constant et leur encouragement.

Je remercie infiniment les apiculteurs de la wilaya de Mostaganem qui ont partagé avec moi leurs connaissances dans l'apiculture et à obtenir mes échantillons de miel.

Enfin je remercie tous ceux qui d'une façon ou d'une autre ont contribué à la réalisation de cette thèse

Liste des figures		
Figure	Titre	Page
Figure 01	Insectes sécrétant le miellat	6
Figure 02	Principales abeilles mellifères	7
Figure 03	Différentes étapes de l'extraction	9
Figure 04	Evolution de la production de miel dans la wilaya de Mostaganem	10
Figure 05	Evolution de nombre des ruches dans la wilaya de Mostaganem	11
Figure 06	Mécanisme d'action de la pollinisation	13
Figure 07	Structure du grain de pollen	15
Figure 08	Différentes formes de grain de pollen selon la symétrie	15
Figure 09	Différentes formes de grain de pollen en vue polaire	16
Figure 10	Différentes formes de grain de pollen en vue équatoriale	16
Figure 11	Principaux types de grains de pollen selon le nombre et la disposition des ouvertures	17
Figure 12	Différentes formes d'ornementation de l'exigé	17
Figure 13	Principales plantes mellifères présentes dans la région de Mostaganem	19
Figure 14	Aspect microscopique d'un miel monofloral	20
Figure 15	Aspect microscopique d'un miel polyfloral	21
Figure 16	Recommandation de <i>l'Union Européen, 2002</i> et <i>Codex Alimentarius, 2001</i> de certains critères de qualité	26
Figure 17	Variations de la couleur selon la lumière et la température	38
Figure 18	Différents mécanismes de l'activité antibactérienne de miel	41
Figure 19	Formation enzymatique du peroxyde d'hydrogène	40
Figure 20	Mécanisme d'inhibition des pathogènes par les bactéries lactiques	55
Figure 21	Représentation géographique de la wilaya de Mostaganem	57
Figure 22	Communes de la wilaya de Mostaganem	58
Figure 23	Production des agrumes dans la wilaya de Mostaganem (DSA, 2019)	59
Figure 24	Répartition des forêts dans la wilaya de Mostaganem	59
Figure 25	Principales contraintes de l'apiculture dans la wilaya de Mostaganem	79
Figure 26	Classe de richesse en pollen des miels	83
Figure 27	Fréquence de distribution des taxons	84
Figure 28	Classes de diversité taxonomique	85
Figure 29	Spectre de fréquence des familles botaniques en % des miels	87
Figure 30	Pourcentage d'authenticité du miel selon des apiculteurs	93
Figure 31	Fréquence des spectres polliniques de miel d' <i>Eucalyptus</i>	94
Figure 32	Aspect microscopique de pollen d' <i>Eucalyptus</i>	94
Figure 33	Fréquence des spectres polliniques de miel d'agrumes	95
Figure 34	Aspect microscopique de pollen de <i>Citrus</i>	96
Figure 35	Fréquence des spectres polliniques de miel de <i>Genista</i>	96
Figure 36	Aspect microscopique de pollen de <i>Genista</i>	97
Figure 37	Fréquence des spectres polliniques de miel de carotte sauvage.	98
Figure 38	Aspect microscopique de pollen de <i>Daucus carotta</i>	98
Figure 39	Fréquence des spectres polliniques de miel de grenadier	99
Figure 40	Aspect microscopique de pollen de <i>Punica granatum</i>	99
Figure 41	Teneurs en eau des miels selon l'origine florale et la région de production	101

Figure 42	Valeurs du pH des miels selon l'origine floral et la région de production	103
Figure 43	Valeurs de la conductivité électrique des miels selon l'origine florale et la région de production	104
Figure 44	Répartition des miels selon leurs teneurs en HMF	106
Figure 45	Cristallisation des miels selon le rapport (glucose/eau)	107
Figure 46	Teneur en fructose selon l'origine floral	108
Figure 47	Teneur en glucose selon l'origine floral	109
Figure 48	Teneur en maltose selon l'origine floral	110
Figure 49	Teneur en turanose selon l'origine floral	111
Figure 50	Variations de l'intensité de la couleur selon l'origine florale et la région de production	114
Figure 51	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols totaux	116
Figure 52	Teneurs en PT des miels selon l'origine florale et la région de production	117
Figure 53	Courbe d'étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des flavonoides totaux	118
Figure 54	Teneurs en FT des miels selon l'origine florale et la région de production	119
Figure 55	Pouvoir antioxydant des miels selon l'origine florale et la région de production	120
Figure 56	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition de chaque souche bactérienne	124
Figure 57	Activité antibactérienne des miels contre des souches bactériennes pathogènes	125
Figure 58	Effet inhibiteur des miels contre <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon l'origine florale	126
Figure 59	Effet inhibiteur des miels contre <i>Enterobacter sp</i> selon l'origine florale	127
Figure 60	Effet inhibiteur des miels contre <i>Staphylococcus simulans</i> selon l'origine florale	127
Figure 61	Effet inhibiteur des miels contre <i>Staphylococcus xylosus</i> selon l'origine florale	128
Figure 62	Observation maroscopique des colonies de lactobacille isolé de miel sur milieu MRS	133
Figure 63	Observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram	134
Figure 64	Fréquence de répartition des présumés des lactobacilles selon leurs milieux d'isolement	135
Figure 65	Profil du dendogramme <i>Lactobacillus pentosu</i> et gel d'électrophorèse des produits de la (GTG)5-PCR des isolats	140
Figure 66	Profil du dendogramme <i>Lactobacillus plantarum subsp. plantarum</i> et gel d'électrophorèse des produits de la (GTG)5-PCR des isolats	142
Figure 67	Antibiogramme des souches pathogènes	142
Figure 68	Activité antibactérienne des cultures bactériennes des lactobacilles par méthode de double couche.	144
Figure 69	Activité antibactériennes des cultures bactériennes par méthode de surnageant	145
Figure 70	Activité antibactérienne des lactobacilles contre les souches bactériennes pathogènes.	147
Figure 71	Activité antibactérienne des lactobacilles contre les souches bactériennes	150

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
Tableau01	Recommandation de <i>l'Union Européen, 2002</i> et <i>Codex Alimentarius, 2001</i> de certains critères de qualité.	35
Tableau 02	Détérioration des enzymes et formation d' HMF e fonction de température	38
Tableau 03	Composés phénoliques des miels et leurs méthodes d'identification	43
Tableau 04	Identification des échantillons des miels	60
Tableau 05	Classification de <i>Maurizio (1975)</i>	64
Tableau 06	Tableau réactionnel de la PCR	74
Tableau 07	Age et ancienneté dans le domaine des apiculteurs	76
Tableau 08	Formation, l'entourage, agrément sanitaire et participation aux séminaires et salons d'expositions.	76
Tableau 09	Pratiques utilisées dans la conduite du rucher	77
Tableau 10	Classes de richesse en pollen des miels étudiés	78
Tableau 11	Classes de richesse en pollen des miels étudiés.	81
Tableau 12	Fréquence de répartition des taxons dans le miel.	86
Tableau 13	Familles botaniques et les taxons correspondants.	88
Tableau 14	Authenticité des appellations des miels analysés.	92
Tableau 15	Corrélations entre la CI, la couleur, la teneur en polyphénols, la teneur en flavonoïdes et activité antioxydante des miels.	122
Tableau 16	Nombre de lactobacille isolé de chaque miel.	138
Tableau 17	Sensibilité des souches indicatrices aux antibiotiques	143
Tableau 18	Diamètres des zones d'inhibition par méthode de double couche.	145
Tableau 19	Diamètres des zones d'inhibition par méthode de surnageant	146

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

CE : Conductivité Electrique

CNS : Staphylocoque à Coagulase Négative

CRL : Cell Repository Lines

dNTP : désoxyribonucléotide triphosphate

DSA : Direction des Services Agricoles

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

ERO : Espèces Radicalaires de l'Oxygène

F : Fructose

FAO : Food and Agriculture Organization

FNRDA : Fonds national de régulation et de développement agricole

FLAB: Fructophilic lactic acid bacteria (anglais)

G : glucose

GRAS : Generally Recognized As Safe (anglais)

GP : Grain de Pollen

HMF : hydroxyméthylfurfural

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

HDL lipoprotéines de haute densité

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

LAB : Lactic Acide Bacteria

Lb : Lactobacille

LDL : Lipoprotéine de basse Densité

MADR : Ministère d'Agriculture et de Développement Rural

MRSA: Staphylococcus Aureus Méricilline Résistante

mS/cm : millisiemes par centimère

OMS : Organisation mondiale de la Santé

pH : Potentiel Hydrique

REP-PCR : Répétitive Element sequence Polymerase chain reactio (anglais)

RMN : La résonance magnétique nucléaire **TES** : acide N-[tris(hydroxyméthyl)méthyl]-2-aminoéthanesulfonique,

Résumés

Résumé

La présente étude a pour objectifs l'étude des caractéristiques polliniques, physicochimiques (humidité, pH, Conductivité Electrique, HMF, et la couleur, sucres), biologiques et microbiologiques de soixante quinze (75) échantillons de miel cru de la région de Mostaganem. L'analyse pollinique quantitative et qualitative a été réalisée par dénombrement sous microscope optique, Le dosage des sucres a été effectué par résonance magnétique nucléaire. L'activité antibactérienne a été testée par méthode de diffusion sur gélose sur quatre souches bactériennes pathogènes responsables de mammite bovine. Le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux), ainsi que l'estimation de l'activité antioxydante (DPPH) ont été évalués par spectrophotométrie. L'identification phénotypique et génotypique de *Lactobacillus* isolés à partir des miels frais a été effectuée ainsi que son pouvoir antibactérien a été évalué par méthode des disques et méthode des puits.

Les résultats de l'analyse pollinique révèle que 29 miels sont « polyfloraux » et 46 sont « monofloraux », répartis en cinq (5) origines botaniques différentes (*Eucalyptus*, *Citrus*, *Genista t*, *Punica granatum*, *Daucus carota*), 20 familles botaniques et 40 taxons ont été détectés. La moyenne de la densité en grain de pollen dans le miel est de $2,5 \times 10^4$ grains/g de miel. La plus part des résultats physicochimiques correspondent aux normes établis par le *Codex Alimentarius*. Statistiquement, une corrélation a été observée entre les teneurs en polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antioxydante et la couleur. Les miels ont montré des activités antibactériennes diversifiées. *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* isolées à partir des miels possèdent un pouvoir antibactérien.

Les miels dans la région de Mostaganem possèdent des qualités palynologiques, physicochimiques, biologiques et microbiologiques non négligeables dont la valorisation et la certification pourrait être confirmés via une labéllisation par un label des indications géographiques protégées.

Mots clés : Miel, Méliissopalynologie, Physicochimique, Activité biologique, *Lactobacillus*, Mostaganem.

Abstract

In order to characterize seventy-five (75) raw honey samples from the Mostaganem region, collected during year 2019, mellissopalynological analyzes (quantitative en qualitative), physicochemical (humidity, pH, electrical conductivity, sugars, hydroxymethyl-5-furfural, color), biological and micrioniological properties were used.

The quantitative and qualitative pollen analysis was carried out by counting an optical microscope, the dosage of sugars was carried out by nuclear magnetic resonance. The antibacterial activity was tested by agar diffusion method on four pathoggenic bacterial starins responsible for bovine mastitis. The dosage of phenolic compounds (total polyphenols and total flavonoids), as well as the estimation of the antioxidant activity (DPPH) were evaluated by spectrophotometry. The phenotypic and genotypic identification of *Lactobacillus* isolated from fresh honeys was carried out as welle as its antibacterial activity was evaluated by disk method and well method.

The results of the pollen analysis record 29 polyfloral honeys and 46 monofloral honeys divided into five (5) botanical origins (*Eucalyptus*, *Citrus*, *Genista t*, *Punica granatum*, and *Daucus carota*), 20 botanical families and 40 taxa were detected. The average of density in pollen grains in honey is $2,5 \times 10^4$ grains/g. Most of the physicochemeical results correspond to the standards established by the *Codex Alimentarius*. Statistically, a correlation was observed between the levels of polyphenols, flavonoids, antioxidant activity and color. Honeys have shown divers antibacterial activities.

Lactobacillus plantarum and *lactobacillus pentosus* isolated from hneys have an antibacterial power.

The honeys in the Mostaganem region have palynological, physicochemical, biological and microbiological qualities that cannot be ignored, the valuation and certification of which could be confirmed by a label of protected geographical indications.

Keywords: Honey, Melissopalynology, Physicochemical, Biological activity, *Lactobacillus*, Mostaganem

الملخص

من أجل تقييم خمس وسبعين (75) عينة عسل خام من منطقة مستغانم، خلال عام 2019، تم استخدام تحاليل الطلعية (الكمية والنوعية)، والخصائص الفيزيوكيميائية (الرطوبة، ودرجة الحموضة، والتوصيل الكهربائي، والسكريات، HMF، واللون) والخصائص البيولوجية.

إجراء التحليل الكمي والنوعي لحبوب اللقاح عن طريق العد تحت المجهر الضوئي، وتم تنفيذ كمية السكريات بالرنين المغناطيسي النووي. فيما يخص اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للعسل انجزت بطريقة انتشار في الاغار على أربع سلالات بكتيرية ممرضة مسؤولة عن التهاب الضرع البقري. تمت عملية تقييم كمية المركبات الفينولية (Polyphénols flavonoides)، وكذلك تقدير النشاط المضاد للأكسدة (DPPH) عن طريق القياس الطيفي. لقد تم إجراء التعرف على النمط الظاهري والوراثي للعصيات اللبنية المعزولة من العسل الطازج وكذلك تم تقييم قوتها المضادة للبكتيريا بطريقة القرص وطريقة الأبار.

سجلت نتائج تحليل حبوب اللقاح 29 عسلًا متعدد الأزهار و46 عسلًا أحادي الأزهار مقسمة إلى خمسة (5) أصول نباتية (*Daucus carota*، *Punica granatum*، *Citrus*، *Genista* و *Eucalyptus*) تم اكتشاف 20 عائلة نباتية و40 نوعًا من حبوب اللقاح. تم الكشف عن ثراء الحبوب في العسل بمتوسط 2.5×10^4 حبة / جرام عسل. تتوافق معظم النتائج الفيزيائية والكيميائية مع المعايير التي وضعها الدستور الغذائي، وقد لوحظ ارتباطًا إحصائيًا بين مستويات، Polyphénols flavonoides ونشاط مضادات الأكسدة واللون. أظهر العسل أنشطة متنوعة مضادة للبكتيريا. *Lactobacillus pentosus* و *Lactobacillus plantarum* المعزولان من العسل لهما قوة مضادة للبكتيريا. يمتلك العسل في منطقة مستغانم صفات قيمة طلعية، وفيزيوكيميائية، بيولوجية وميكروبيولوجية لا يمكن تجاهلها، ويمكن تأكيد قيمتها واعتمادها من خلال ملصق للمؤشرات الجغرافية المحمية.

الكلمات المفتاحية: العسل، علم الأجنة، الكيمياء الفيزيائية، النشاط البيولوجي، العصيات اللبنية، مستغانم

Introduction

Indroduction

Le miel est une substance naturelle qui accompagne l'homme depuis la plus haute antiquité, produite par les abeilles mellifères *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou des exsudats d'arbres et des plantes (Liu *et al.*, 2013), sursaturée en sucres avec la combinaison des minéraux, enzymes, vitamines, composés organiques aromatisants, acides aminés libres et nombreux composés volatils (Gorjanović *et al.*, 2013; Kayode et Oyeyemi., 2014). La composition, la couleur, l'arome et la saveur du miel dépendent de l'origine florale, l'origine géographique, le climat et les espèces d'abeilles impliquées dans sa production (Kadri *et al.*, 2017).

En Algérie, l'apiculture est en pleine expansion. Ce phénomène s'explique par l'augmentation des apiculteurs agréés et le soutien apporté par le ministère d'agricultture et de développement rural à ces apiculteurs dans le cadre du programme FNRDA (Fonds national de régulation et de développement agricole) lancé en 2001. L'élevage apicole est pratiqué principalement dans le Nord du pays où la flore mellifère fournit une miellée pendant toute l'année, notamment dans les régions montagneuses comme les Aurès, la Kabylie et le Dahra, ou encore dans les plaines littorales comme celle d'Oran, de Mostaganem, de Relizane et dans les vallées des grands oueds comme le Soummam, l'Oued-el-Kebir. Différentes variétés de miel sont produites en Algérie, dont treize (13) variétés sont recensés par le ministère de l'agriculture et du développement rural (miel d'agrumes (*Citrus*), d'*Eucalyptus* (*Eucalyptus globulus*), de romarin (*Rosmarinus officinalis t*), de lavande (*Lavandula angustifolia*), de jujubier (*Ziziphus lotus*), d'euphorbe (*Euphorbia t*), de la carotte sauvage (*Daucus carota*), d'arbousier (*Arbutus unedo*), de thym (*Thymus t*), de caroubier (*Ceratonia silliqua*), de chardon (*Silybium marianum*), d'origan (*Origanum vulgare*), de peganum (*Peganum harmala*) et miel de toutes fleurs du printemps.

Malgré une forte augmentation de la production nationale de miel au cours des dix dernières années (+85%) avec une quantité de 74420 quintaux/an, soit 176 grammes/an par habitant (MADR, 2019), elle reste néanmoins très inférieure par rapport à l'importance et l'abondance du potentiel mellifère existant dans le pays, cela est due à plusieurs facteurs notamment le changement climatique, l'usage des pesticides et les pathologies apicoles (ITLEV, 2019). Par ailleurs, trois défaillances principales dans le pays caractérisent la commercialisation du miel local : l'absence de législation nationale de commercialisation, le manque de traçabilité dans la production et l'absence de mentions sur les critères de qualité

sur l'étiquetage de l'emballage ce qui conduit à la création d'un marché mal structuré. D'autre part les laboratoires d'analyses de miel ne sont pas accrédités par ALGERAC (Organisme algérien d'accréditation) en tant que laboratoires compétents cela constitue une véritable contrainte au développement de la filière car les organismes accrédités peuvent contrôler le miel local et le miel importé et permettre aux producteurs nationaux d'exporter leur production (ITELV, 2019).

Afin d'assurer au consommateur un miel authentique et de bonne qualité des normes internationales ont été établis par le Codex alimentaire. L'authentification et la détermination de l'origine botanique du miel est un processus complexe basé principalement sur l'analyse méliissopalynologique, réalisés en laboratoire (Belay *et al.*, 2017). Cependant, en Algérie les appellations attribuées aux miels se font le plus souvent selon la connaissance des apiculteurs des lieux de butinage de l'abeille en sources mellifères ce qui peut être considéré comme une fraude sur le plan international. Par ailleurs, l'analyse des paramètres physico-chimiques des miels est également essentielle pour contrôler leur qualité et leur authenticité. Les paramètres tels que la conductivité électrique, la couleur, contribuent à l'identification et la confirmation de l'origine florale d'un miel, tandis que d'autres tels que l'HydroxyMéthyl-Furfural (HMF), le taux d'humidité, le pH et l'acidité, l'indice diastasique et les sucres déterminent sa qualité (état de fraîcheur) et sa stabilité dans le temps (Da Silva *et al.*, 2016). Ces dernières années d'autres techniques d'authentification ont été mise en place notamment, le profil volatil (Escriche *et al.*, 2011 ; Oroian *et al.*, 2015a), le dosage des sucres (Gašić *et al.*, 2015), le dosage des minéraux (Bastista *et al.*, 2012 ; Oroian *et al.*, 2015b) et les caractéristiques sensorielles (khalil *et al.*, 2012).

Dans de nombreux pays, le miel occupe le premier rang dans la médecine traditionnelle (Alqarni *et al.*, 2012), c'est l'un des principaux ingrédients utilisés comme remède dans les mélanges naturels (Alqarni., 2011). La propriété curative du miel est due à sa composition chimique (Arvanitoyannis *et al.*, 2005), certains rapports mentionnent que le miel contient plus de 200 composants (Kucuk *et al.*, 2007). Par ailleurs, Le miel est de plus en plus utilisé comme un médicament réputé et efficace par les praticiens de la médecine (Aljohar *et al.*, 2018). En effet, il possède diverses propriétés biologiques comme, l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire, antimutagène et anticancéreuse et immunosuppressive (Bogdanov *et al.*, 2008). Cela a été prouvé par des bons

résultats cliniques, il existe également des explications rationnelles à ses actions thérapeutiques (Sampath *et al.*, 2010).

Durant les années précédentes, de nombreuses études ont montré que le stress oxydatif provoque de nombreuses pathologies comme la formation de cancer, l'inflammation, le vieillissement (Di Mascio *et al.*, 1991), la pathogénèse et la progression du diabète (Lau *et al.*, 2013), maladies cardiaques, pulmonaires et optiques (Aras, 2006), maladies cardiovasculaires, affaiblissement du système immunitaire, maladies dégénératives du système nerveux (Diplock *et al.*, 1998 ; Koca et Karadeniz, 2003). L'une des caractéristiques du miel est sa richesse en antioxydants (Isla *et al.*, 2009 ; Wilczyn, 2014). Ces composés antioxydants peuvent fonctionner comme une défense antioxydante cellulaire endogène contre les radicaux libres (Kelsey *et al.*, 2010 ; Cardozo *et al.*, 2013).

Les effets néfastes des antibiotiques synthétiques et chimiques encouragent l'utilisation des méthodes plus traditionnelles et naturelles (Can *et al.*, 2015). Le miel contient des quantités abondantes de composés antimicrobiens qui agissent soit en synergie soit singulièrement dont les plus connus le peroxyde d'hydrogène, l'acidité du miel, acides phénoliques et la pression osmotique exercée par le miel (Isidorov *et al.*, 2015).

Cependant, des études récentes ont identifié une nouvelle source d'activité antimicrobienne dans le miel, c'est un groupe de bactéries lactiques a été détecté dans le miel (Lashani *et al.*, 2020 ; Hasali *et al.*, 2015). Il a été démontré que 13 espèces spécifiques des bactéries lactiques comprenant les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* peuvent avoir un effet inhibiteur contre des agents pathogènes des abeilles (Vasquez *et al.*, 2012), pathogènes de plaies humaines (Butler *et al.*, 2014), pathogènes des volailles (Homrani, 2020) et pathogènes des mammites bovines (Piccart *et al.*, 2016).

L'isolement des bactériens lactiques à partir des miels frais algériens a été décrit par Homrani *et al.* (2019), en Algérie l'utilisation de bactéries lactiques isolées à partir de miel comme une alternative pour traiter les mammites bovines n'est pas encore étudié, cependant des recherches antérieures ont montré que les bactéries lactiques produisent des composés antimicrobiens intéressants pour les utilisés comme médicament naturel et efficace contre les infections (Liu *et al.*, 2003; zalan *et al.*, 2005).

En vue de valoriser et de certifier le miel de la région de Mostaganem, la présente étude a déterminé les caractéristiques palynologiques (quantitative et qualitative) et

physicochimiques (pH, humidité, conductivité électrique, la teneur en Hydroxy Méthyl Furfural, la couleur, dosage des sucres) des miels provenants des différentes régions de Mostaganem, ainsi que l'évaluation de ses propriétés biologiques (antibactérienne contre des souches bactériennes pathogène et antioxydante), afin d'évaluer les miels comme une alternative aux antibiotiques pour le traitement de mammite bovine, des bactéries lactiques ont été isolés à partir des miels frais et identifiées génotypiquement puis son activité antibactérienne *in vitro* a été testée contre des souches responsables de mammite bovine.

L'état sanitaire l'apiculture algérienne a été étudié récemment par [Abed et al, \(2022\)](#). En parallèle il existe un manque de réglementation de commercialisation, donc notre recherche constitue une référence importante sur la qualité des miels de la région de Mostaganem pour l'établissement des normes de certification, d'autre part donne des perspectives sur la possibilité de traiter naturellement les mammites bovines par le miel et les bactéries lactiques isolés à partir du miel comme un traitement alternatif , ainsi la contribution à rechercher d'une composante qui intervient dans l'activité antibactérienne du miel frais.

Dans cette thèse, la première partie aborde les différentes connaissances bibliographiques sur les généralités de miel, la caractérisation méliissopalynologique et physicochimique, les propriétés biologiques et bactéries lactiques de miel.

La deuxième partie se consacre sur l'étude expérimentale qui vise premièrement l'objectif de l'étude, ensuite le deuxième volet détaille la zone d'étude, le matériel et les méthodes analytiques sont développés dans le troisième volet et les résultats sont discutés en comparaison avec les travaux analogues notamment en Algérie dans le quatrième volet.

Partie I :

Revue

bibliographique

Chapitre I. Généralités sur le miel

I.1. Définition

D'après le *Codex Alimentarius* (2001), le miel est défini comme la substance naturelle sucrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certains sécrétions provenant de parties vivantes de plantes qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent murir dans les rayons de la ruche. Cette substance peut être fluide, épaisse ou cristallisée.

I.2. Origine du miel

I.2.1. Nectar

Le nectar se forme à partir de la sève de la plante au niveau des cellules des nectaires ou se localisent des transformations biochimiques complexes ; ces transformations sont à l'origine des différents caractéristiques organoleptiques des miels. C'est une sécrétion aqueuse sucrée qui médie les interactions entre les plantes et les insectes pollinisateurs tels que les abeilles (Brandenburg, 2009). Les composants chimiques du nectar sont l'eau, les glucides (saccharose, glucose et fructose), acides aminés et les volatiles qui servent principalement à l'attraction et la nutrition des visiteurs. Les glucides et les acides aminés libres dans le nectar sont les plus importants pour la fonction d'attraction, les abeilles préfèrent généralement le nectar riche en saccharose (Martin Heil, 2011). Cependant, aucun aliment artificiel n'a été détecté équivalent au nectar (Mohanna, 1989).

Une connaissance sur les ressources florales en nectar dans le rucher est très importante pour les apiculteurs, cela pourrait les aider à planifier la gestion de leurs colonies, ils peuvent même exercer la transhumance pendant certaines périodes vers une autre région riche en nectar pour avoir un bon rendement en miel (Taha, 2015).

I.2.2. Miellat

Le miellat est une excrétion épaisse, visqueuse et sucrée rejetée par les hémiptères et les homoptères (psylles, cochenilles et surtout les pucerons) qui filtrent la sève végétale et excrète le miellat (voir figure 01). Le miellat est plus dense que le nectar et plus riche en azote et acides organiques, il est récolté par les abeilles mellifiques essentiellement sur les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin (Alexis, 2013). Les principales espèces

productrices sont le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le mélèze, le chêne. D'autres espèces en produisent, mais peu et de qualité inférieure (Marchenay, 1988). Il existe aussi du « miel de sucre » qu'est un miel produit par des abeilles nourries de sucres de fruits, de cannes à sucre, etc... (Schweitzer, 2004).

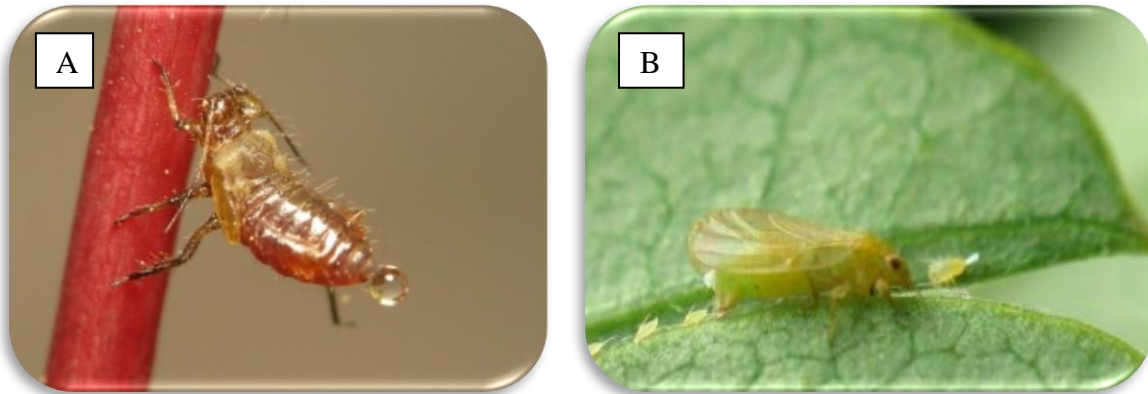


Figure 01 : insectes sécrétant le miellat. A : un puçeron sécrétant du miellat (<https://www.myrmecofourmis.fr>), B : un psylle (<https://www.jardiner-autrement.fr>).

I.3. Description des abeilles

L'abeille est le symbole de l'activité laborieuse et de l'organisation vue son comportement social. On la retrouve un peu partout dans le monde. C'est l'espèce la plus intéressante à élever car ce sont elles qui assurent les meilleurs rendements par la pollinisation des cultures. Les principales espèces d'*Apis mellifera* sont : *Apis mellifera mellifera* (abeille noire d'Europe occidentale), *Apis mellifera ligusùca* (abeille Italienne), *Apis mellifera carnica* (abeille présente des Alpes à la mer Noire), *Apis mellifera caucasica* (abeille Caucasienne), *Apis mellifera intermissa* (pays du Maghreb), *Apis mellifera adansoni* (pays d'Afrique tropicale), *Apis Cerana* (asiatique), (voir [figure 02](#)).

Les abeilles possèdent une organisation sociale fascinante. En effet, trois castes assurant une tâche particulière, structurent la société des abeilles : la reine, les ouvrières et les faux bourdons. L'effectif de la population d'une colonie peut varier de 20 000 à 80 000 individus, dont une reine, 1 000 à 4 000 mâles (présents uniquement d'avril à septembre), le reste étant constitué par les ouvrières (Bruneau, 2002) cité par (Bonté, 2013).

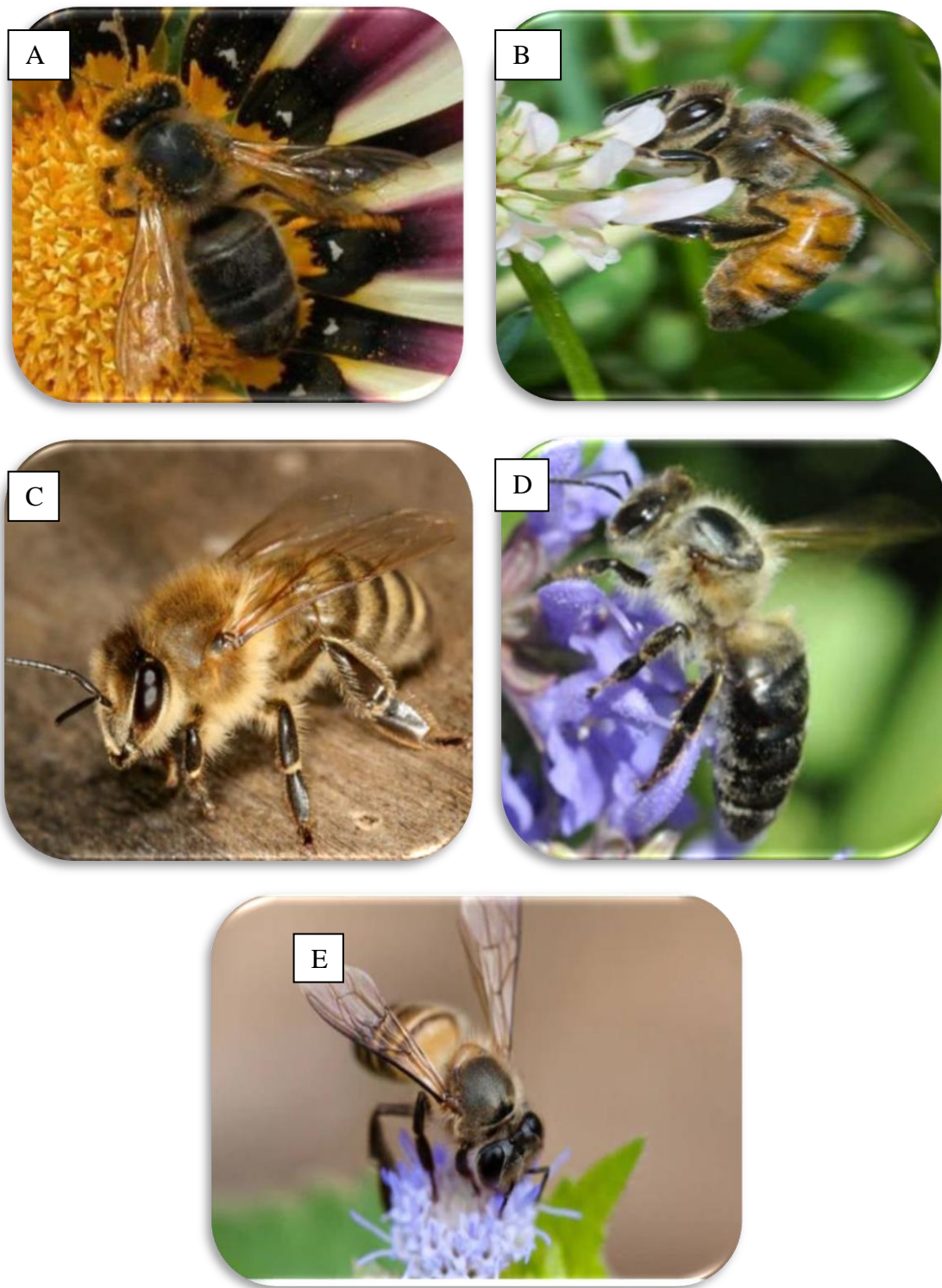


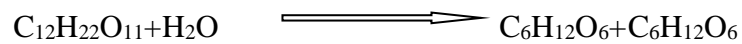
Figure 02 : principales abeilles mellifères, A : *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica*, C : *Apis mellifera carnica*, D : *Apis mellifera caucasica*, E : *Apis cerana* (Trisan Copley Smith, 2018)

I.3.1 Période de butinage

Le butinage est une activité purement saisonnière n'a lieu que pendant la période de floraison, très peu dans le monde où le nectar est disponible toute l'année. En hiver, les abeilles n'hibernent pas mais elles ont une activité réduite (Francois-xavier, 2003). En Algérie, la période de butinage s'étend essentiellement du mois de Mars à mois d'Octobre avec un maximum d'activité en mois de Juin et Juillet.

I.3.2. Formation du miel

La formation du miel commence tout de suite après la récolte du nectar par l'abeille butineuse qui l'emmagasine dans son jabot en y ajoutant de la salive qui contient une enzyme (gluco-invertase) qui transforme le saccharose en deux molécules de sucres simples.



En effet, l'abeille butineuse le transmet à l'abeille ouvrière où se déroule un autre processus de transformation qui s'appelle trophalaxie. Ce dernier correspond au transfert du nectar partiellement digéré d'une abeille à une autre de bouche en bouche par régurgitation.

L'abeille ouvrière déploie et replie plusieurs fois ses pièces buccales, exposant le nectar à l'air et permettant l'évaporation de l'eau cette opération peut durer vingt minutes. A chaque transfert le produit de régurgitation se concentre en sucre et en enzymes salivaires (François-xavier, 2003). Le produit obtenu subit un assèchement par les abeilles ventileuses jusqu'à ce que l'humidité relative du nectar soit de 17 à 19%. Par la suite les abeilles déposent une couche de cire sur chaque cellule pour une meilleure protection de toute absorption d'humidité (Ravazzi, 2007).

En pleine saison et au cours d'un vol de 15 à 30 min, une abeille butineuse visite 50 à 300 fleurs, elle peut récolter de 50 à 60 mg de nectar et parcourt de 1 à 3 km pour trouver une aire mellifère (Syndicat, 2019).

I.3.3. Récolte

Le miel est enfin récolté quand les $\frac{3}{4}$ des alvéoles des rayons de cire sont operculés (Jean-prost, 2005). Dans la région de Mostaganem cette période se situe entre le mois de Mai et le mois d'Octobre. Il s'agit différentes étapes pour extraire le miel, d'abord l'enfumage des ruches, cette étape aura lieu du 11h à 15 h quand les abeilles sont en butinage et les ruches sont pratiquement vides et le décollage des cadres sera facile. Dès que, les cadres sont arrivés

à la miellerie à l'aide d'un couteau à désoperculer l'apiculteur enlève la couche de cire. Maintenant la récupération du miel se fait par l'extraction centrifuge, en utilisant l'extracteur où l'on dispose les cadres désoperculés et de même poids pour qu'il aura un équilibre, par la centrifugation les gouttes de miels se trouvent sur les parois de l'extracteur (Jean-le conte, 2005). Après le miel est versé dans une cuve munie d'un filtre pour éliminer toutes particules de propolis, de cire ou de pollen, ensuite le miel filtré est munié dans un réservoir (maturateur) à une température d'environ 30 °C et conditionné pendant plusieurs jours, permettant à la mousse et aux petites particules de cire de se diffuser à la surface, ces derniers sont à éliminer. Le miel est offert dans une grande variété de bocaux. Les récipients et les bocaux doivent être fermés hermétiquement pour empêcher toute altération due à l'humidité et aux odeurs étrangères (Bogdanov, 2011). (voir figure 03)



Figure 03 : différentes étapes de l'extraction du miel. A : Enfumage des abeilles, B : désoperculation, C : La pesée des cadres, D : Emplacement dans l'extracteur, E : l'écoulement du miel.

I.4. Production du miel en chiffres dans la région de Mostaganem

L'apiculture est pratiquée depuis la plus haute antiquité et encore largement répandue dans les régions montagneuses à population dense, comme les Aurès, la Kabylie, le Dahra, dans les plaines littorales comme celle d'Annaba, de la Mitidja, de Relizane, d'Oran ; dans les vallées des grands oueds comme l'oued El Kébir, Soummam et le Sahara. En outre, l'abeille algérienne est bien acclimatée aux différents écosystèmes. Malgré un potentiel mellifère varié et très abondant, cultivé et spontané la production apicole locale se caractérise par un niveau très faible.

La production nationale de miel est de 64128 Qx en 2019, la plus grande production de miel a été enregistrée dans la wilaya de Skikda (7920 Qx) suivi par la wilaya de Bouira (3875Qx) et Sétif (3875Qx), alors que la wilaya de Mostaganem a enregistré (1420Qx) et (1240Qx) en 2022 (MADR, 2019) (voir figure 04). Il faut noter que la wilaya de Mostaganem est connue par sa flore mellifère (*Eucalyptus* et agrumes) appréciée par l'abeille.

Depuis 2011, le nombre des ruches dans la wilaya de Mostaganem est en augmentation mais cette augmentation ne reflète pas sur le schéma de production de miel, car la production est inférieure par rapport au nombre de ruches, cela est expliqué par le changement climatique, les canicules et les incendies qui affectent directement sur la quantité et la qualité des plantes mellifères par une floraison précoce provoquant ainsi un déficit en source mellifère durant la saison estivale et aussi par sécheresse de nectar des fleurs due aux fortes températures, ces phénomènes ont pour conséquence une fragilisation des abeilles notamment en hiver (voir figure 05).

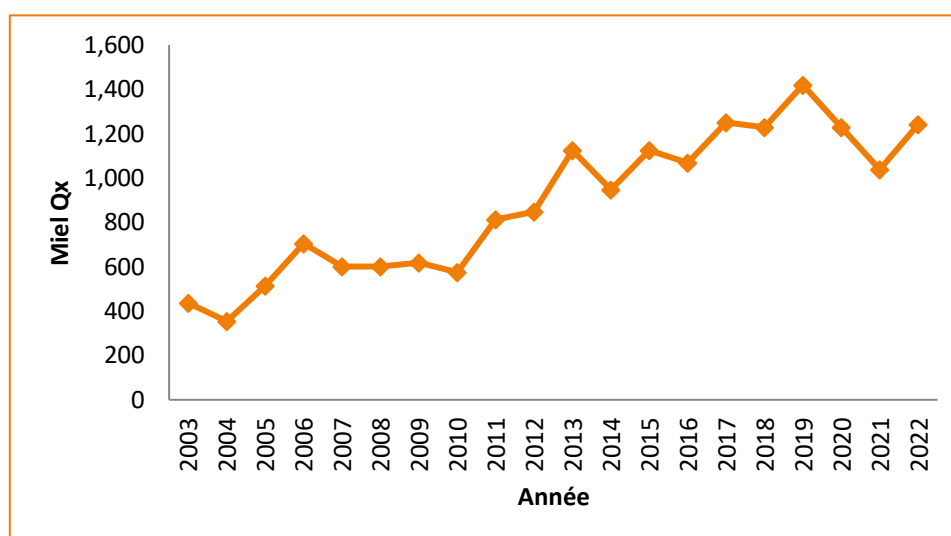


Figure 04 : évolution de la production de miel dans la wilaya de Mostaganem (DSA, 2023).

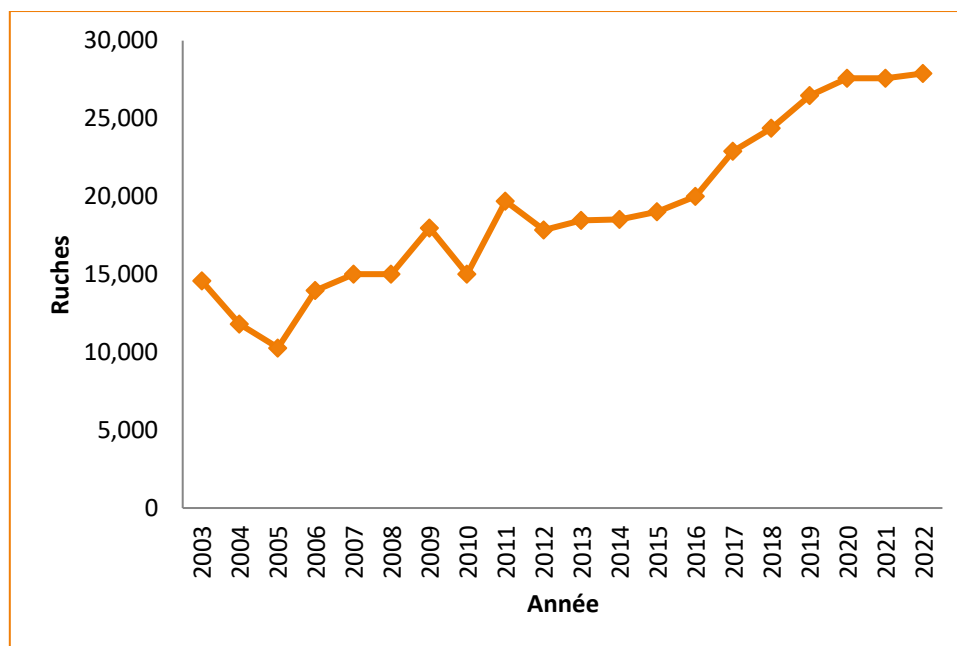


Figure 05 : évolution de nombre des ruches dans la wilaya de Mostaganem (DSA, 2023).

Il a été constaté une augmentation de la production de miel avec le nombre des ruches dans la wilaya de Mostaganem (de 400 Qx en 2003 à 1200 Qx en 2022), le pic a été noté en 2019 (1420 Qx), depuis 2020 la production a enregistré un recul, il faut signaler qu'il existe des rucher non déclarés qui participent à la production d'une façon non négligeable.

Les principaux pays producteurs de miel en 2018 à l'échelle mondiale sont la Chine (446900 tonnes) suivis par la Turquie (114113 tonnes), l'Argentine (79468 tonnes), l'Iran (77567 tonnes), l'Ukraine (71279 tonnes), les Etats unis (69104 tonnes), l'Inde (67442 tonnes), la Russie (65006 tonnes), le Mexique (64253 tonnes), l'Ethiopie (50000 tonnes). (FAOSTAT, 2018).

Chapitre II. Caractérisation pollinique des miels

II.1. L'abeille et le monde végétal

Les butineuses assurent le fonctionnement de la colonie et son approvisionnement en différentes ressources alimentaires tels que : le nectar et le miellat comme aliment sucré destinés à la production et le stockage du miel, et du pollen aliment riche en protéine indispensable à l'alimentation des larves. Les butineuses récoltent aussi une substance résineuse appelée la propolis qui se trouve sur les bourgeons de certains arbres ; la propolis sert à assurer l'étanchéité de la ruche. En parallèle, les abeilles assurent la fécondation des ovules des fleurs, qui peuvent se transformer en fruits, ce phénomène appelé la pollinisation (François-xavier, 2003).

II.2. Pollinisation

La pollinisation est le transport du pollen des anthères productrices sur les stigmates récepteurs, réalisée principalement par le vent (anémophilie) chez 10% des plantes à fleurs et les insectes pollinisateurs (entomophilie) qui pollinisent toutes les autres plantes à fleurs. (Berbard, 2002) (voir figure 06).

Les insectes pollinisateurs comprennent un groupe de différentes espèces (les papillons, les mouches, les bourdons, les syrphes et certains coléoptères), mais l'espèce dominante est surtout les abeilles car elles ont des besoins plus importants en pollen qui est la source protéique pour l'alimentation des larves (Cane et Tepedino, 2017). Par conséquent, ils transportent le pollen de plante en plante en réalisant la pollinisation. La couleur de la fleur, le parfum et l'abondance de nectar constituent des signaux pour attirer les pollinisateurs. Ces signaux sont différents d'une espèce végétale à l'autre, il s'agit des préférences innées et acquises des pollinisateurs de certain odeur florale ou des associations d'odeurs florales spécifiques (Wester et Lunau, 2017). Les odeurs florales sont des facteurs essentiels impliqués dans les interactions plantes-pollinisateurs (Larue *et al.*, 2016).

La pollinisation réalisée par les abeilles va dépendre de la qualité et la quantité des grains de pollen par exemple un pollen trop abondant ne sera pas récolté, un grain très fin et trop agglutinant ne sera pas récolté préférentiellement (cas du troène); un grain trop gros sera également délaissé (cas de la mauve sauvage) (Melin, 2002). Chaque plante avec sa recette particulière attire les abeilles par le pollen le plus riche nutritionnellement (Percie du sert,

2009). Les abeilles contribuent majoritairement dans la pollinisation de très nombreuses cultures : les rosacés fruitières (amandier, fraisier, poirier), les cucurbitacées (courgettes, pastèque), les solanées (tomates, poivron), les cultures protéagineuses (féverole), les cultures oléagineuses, les cultures fourragères (luzerne, colza) et les espèces forestières comme les éricacées (arbusier, bruyère), les lamiacées (thym, romarin). (Berbard, 2002).

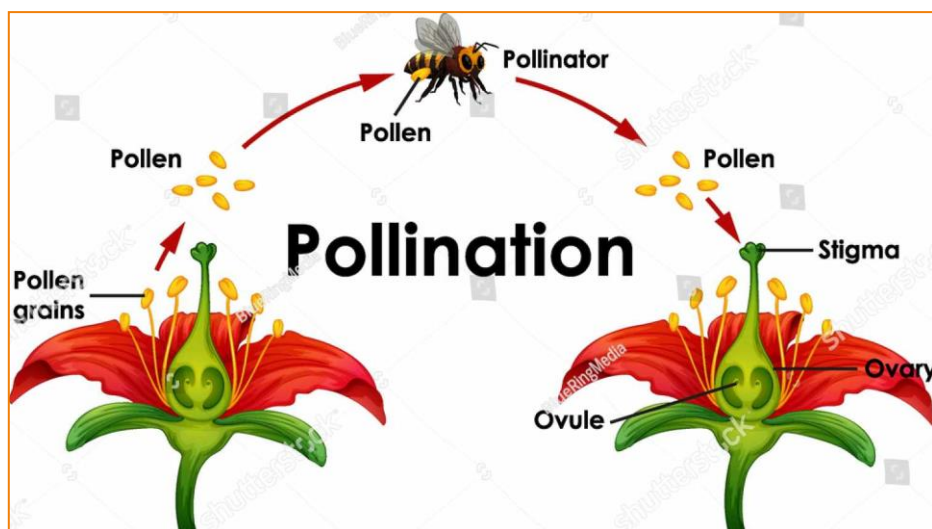


Figure 06 : mécanisme d'action de la pollinisation

II.3. Pollen

Chez les plantes supérieures l'appareil sexuel mâle des fleurs est représenté par les étamines qui sont constitués par le filet et l'anthère ce dernier possède les grains de pollen.

Les grains de pollen sont les gamètes mâles qui vont féconder l'ovule, ils sont déposés sur le stigmate du pistil (organe sexuel femelle) par le vent ou les insectes et surtout les abeilles.

D'après Michener (2000), les besoins alimentaires des abeilles (nectar et pollen), leur méthode de butinage (fidélité à une espèce de plante) et leur morphologie (présence de poils branchus dans le corps) font des pollinisateurs les plus efficaces et les plus précis.

En effet, les abeilles emmagasinent leur pollen dans la corbeille à pollen située sur la face externe des pattes postérieures en utilisant la brosse à pollen située sur la face interne des membres antérieurs qui récupère tout le pollen qui se trouve sur le corps de l'abeille. Dans la ruche les abeilles le déposent dans des alvéoles placés à coté du nid du couvain (la où il y a l'élevage des larves). En y ajoutant des ferments lactiques et du miel pour le faire fermenter ce que l'on appelle pollen fermenté « le pain d'abeille ». Le pollen est facile à récolter par les apiculteurs par l'emplacement d'une trappe fixée à l'entrée de la ruche (Bradman, 2005).

Les pollens entomophiles sont collants et nutritifs constituent une source importante de protéine pour l'abeille mais ils sont surtout riches en pigments protecteurs : caroténoïdes et flavonoïdes pour protéger la viabilité de la cellule fécondante des différents agents agressifs (soleil, dessiccation, oxygène) (P. percie du sert, 2009). Le pollen peut avoir des couleurs différentes varient du jaune à orange, rouge sang ou violet, vert ou même très sombres, presque noirs (Simenel *et al.*, 2015).

II.4. Structure, composition et taille du grain de pollen

Un grain de pollen est formé par deux noyaux reproducteurs l'un végétatif et l'autre reproductif. Il est entouré d'un sporoderme qui est constitué de deux couches :

L'intine : mince et fragile, principalement constitué de fibres de cellulose.

L'exine : constitué de sporollénine substance des caroténoïdes qui sert à protéger le grain du pollen de diverses agressions du milieu extérieur (voir figure 07). L'exine contient aussi des composées lipidiques et des glycoprotéines qui sont à l'origine de l'aspect agglutinant ce dernier temporairement fixe le grain de pollen sur l'abeille (Ravazzi, 2007).

La composition biochimique et nutritionnelle du pollen varie selon l'espèce végétale ; il se compose de protéine 20%, glucides 25 à 48%, lipides 1 à 20 %, vitamines du groupe B et de vitamines liposolubles et sels minéraux.

La taille du pollen varie de moins de 10 μm à plus de 100 μm . Elle dépend du degré d'hydratation et de la méthode de préparation des frottis. En raison de cette variation naturelle, il est recommandé de classer la taille du pollen (Halbritter *et al.*, 2018) :

- Très petite (10 μm).
- Petite (10–25 μm).
- Moyenne (26–50 μm).
- Grande (51–100 μm).
- Très grande (> 100 μm)

La taille du grain de pollen peut varier du pollen de petite taille $\leq 20 \mu\text{m}$ à pollen de grande taille 40-80 μm (Dongock *et al.*, 2008).

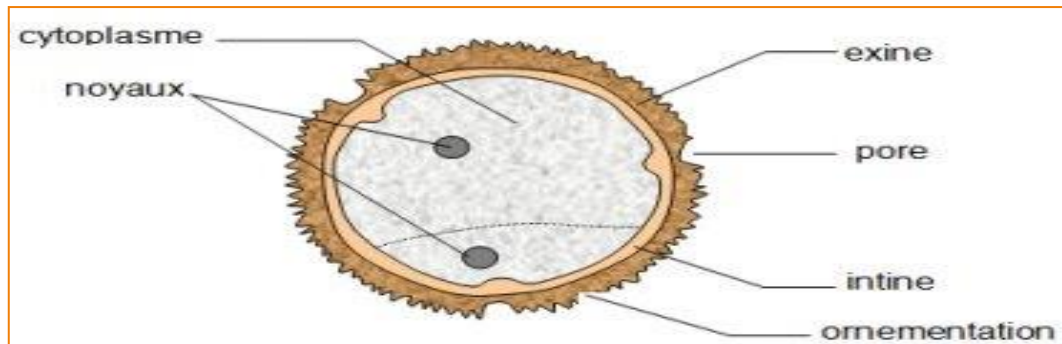


Figure 07 : structure du grain de pollen (Nathalie, 2003)

II.5. Forme et symétrie du grain de pollen

L'étude des caractéristiques morphologiques des pollens a apporté une contribution importante à la systématique des végétaux du fait qu'il est possible, en observant un pollen isolé, de déterminer l'identité de la plante qui l'a produit. En effet, à chaque espèce végétale correspond un type de pollen qui sera déterminé après observation au microscope optique ou au microscope électronique (Reille et Pons, 1990)

II.5.1. Symétrie

On définit deux axes l'axe polaire qui joint les deux pôles proximal et distal et l'axe équatorial perpendiculaire à l'axe polaire, on distingue : le pollen isopolaire : vue polaires identiques et symétriques par rapport au plan équatorial, le pollen hétéropolaire : possédant un axe de symétrie mais les vues polaires sont différentes et le pollen apolaire : ne présentant pas un axe de symétrie (voir figure 08).

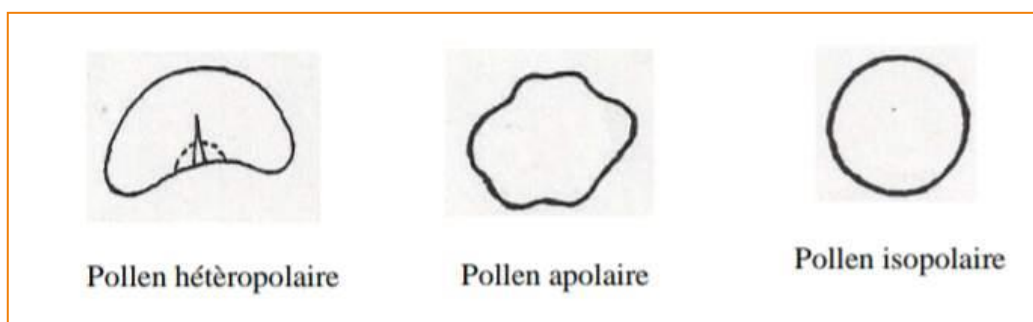


Figure 08 : différentes formes de grain de pollen selon la symétrie (Van Campo, 1966)

II.5.2. Forme

Il existe des formes différentes du grain de pollen selon [Genier \(1966\)](#), le pollen peut avoir la forme en tétrade, calymmée, régulière, subsphérique et tétrade peu lobée. Chez les plantes mellifères on peut déterminer la forme sphérique, triangulaire et longiaxe ([Chefrour et Tahar, 2009](#)). Selon [Louveaux \(1970\)](#) « in [Balaid \(1999\)](#) » la forme d'un grain se définit en fonction de la vue polaire et de la vue équatoriale et qui donne lieu à la classification suivante : En vue polaire, la majorité des grains sont circulaires, triangulaires, subtriangulaires ou bien de forme complexe (voir [figure 09](#)).

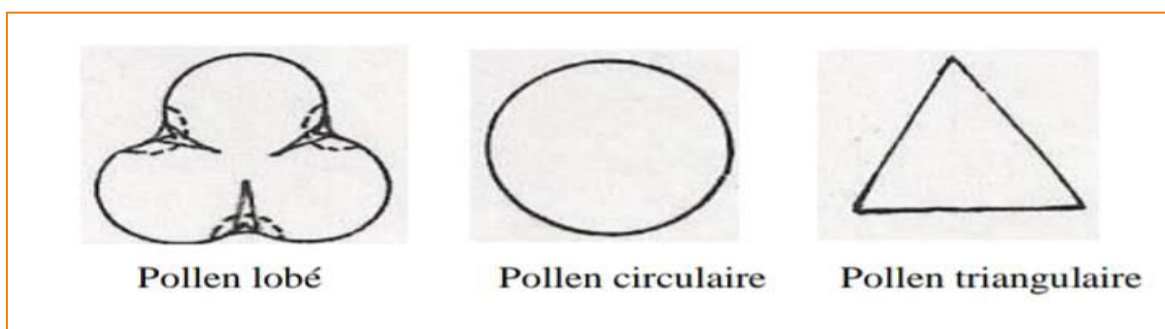


Figure 09 : différentes formes de grain de pollen en vue polaire ([Van Campo, 1966](#))

En vue méridienne : (P): axe polaire, (E): axe équatorial

- quand $P = E$, le grain est sphéroïdal ou équiaxe;
- quand $P > E$, le grain est problé ou longiaxe (grain plus haut que large);
- quand $P < E$, le grain est oblé ou bréviaxe (grain plus large que haut) (voir [figure 10](#)).

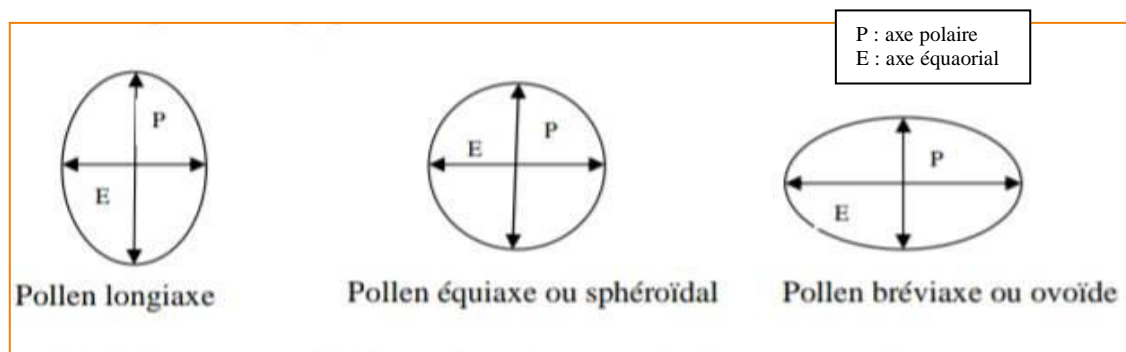


Figure 10 : différentes formes de grain de pollen en vue équatoriale ([Van Campo, 1966](#)).

II.5.3. Apertures

Sont des pores ou sillons ou association des deux, peuvent se situer aux pôles, à l'équateur ou être réparties sur l'ensemble du grain. La forme et le nombre de l'aperture est variable selon les espèces. Les pollens inaperturés sont des pollens ne présentant ni pore, ni sillon. Les

pollens porés présentant de petites ouvertures circulaires (pores). Les pollens colpés présentant seulement une ouverture très allongée (sillon). Les pollens colpés présentant à la fois des pores et des sillons. (voir [figure 11](#)).

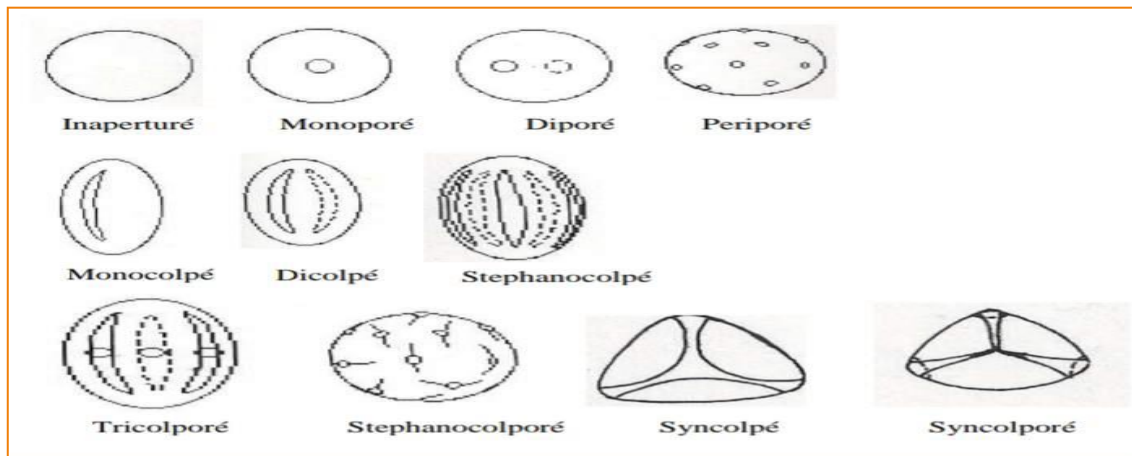


Figure 11 : principaux types de grains de pollen selon le nombre et la disposition des ouvertures (Punt *et al.*, 1994)

II.5.4. Ornementation de l'exine

L'exine est une membrane externe, inerte et très résistante du pollen. La morphologie de l'exine permet l'identification du pollen lors de l'observation microscopique (voir [figure 12](#)).

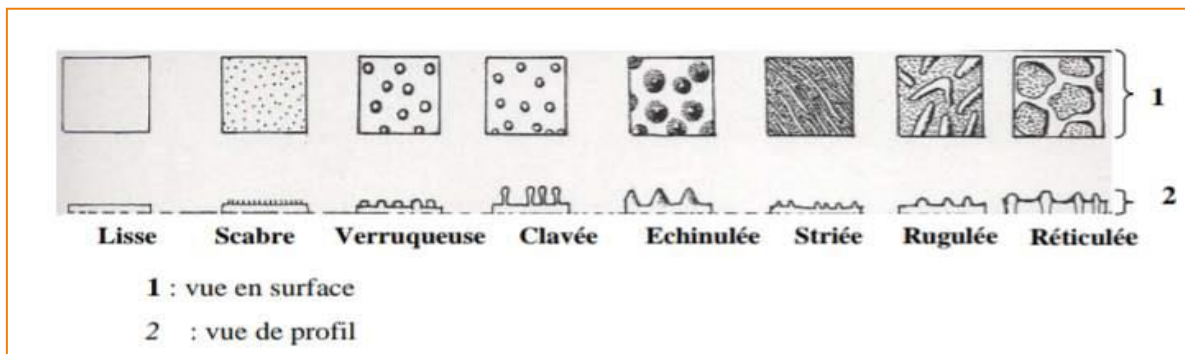


Figure 12 : différentes formes d'ornementation de l'exine (Punt *et al.*, 1994)

II.6. Origine du pollen dans le miel

Au moment de récolte du nectar des fleurs, l'abeille entre en contact direct avec des pièces florales notamment les étamines (organe producteur de pollen). Selon la morphologie des fleurs visitées, ce contact peut intéresser différentes parties du corps de l'abeille mais aussi permet la contamination du nectar par le pollen. Il est par ailleurs certain qu'avant même le

passage de l'abeille, le pollen peut commencer à tomber mûr sur le nectar lorsque la morphologie des fleurs le permet. Il s'agit là d'un véritable marquage car les grains associés au nectar vont le suivre dans le jabot de la butineuse, dans les cellules du rayon puis dans le miel extrait (Ismail *et al.*, 2013). Selon Morais *et al* (2011), il existe d'autres voies de pénétration, le pollen abonde à l'intérieur de la ruche surtout sous forme de provisions stockées dans les cellules à proximité du couvain. Il est également présent dans la fourrure des abeilles, sur leurs pièces buccales et sur leurs pattes. Il a été évoqué aussi une possibilité d'une pollution par les pollens atmosphériques pénétrant dans la ruche par un trou d'aération.

II.7.Plantes mellifères

Certaines espèces végétales sont butinées par les abeilles pour la constitution du miel, ce sont des plantes mellifères au sens strict, qui fournissent nectar et miellat ou les deux. (Briane *et Cabrol*, 1986). D'après Louveaux (1980), les plantes mellifères les plus importantes sont celles qui ont une productivité nectarifère élevée et régulière, qui existe en vastes peuplements et qui donnent un miel de très bonne qualité. D'autres espèces végétales ne servent qu'à la nourriture des abeilles et des larves et n'entre pas dans l'élaboration du miel ce sont des plantes pollinifères, procurant uniquement du pollen aux abeilles. Enfin, d'autres végétaux sont utilisés par la colonie pour l'amélioration des structures de la ruche ou comme élément bactéricide dans ce cas là ces espèces fournissent de la propolis à partir de la gomme des bourgeons, de la résine, de la sève d'écorce (cas du tremble, *Populus tremula*). En outre, certaines plantes apportent plusieurs de ces éléments à la fois ; cas des tilleul (*Tilia sp*) : nectar et miellat, les saules (*Salix sp*) : nectar et pollen, le châtaigner (*Castanea sativa*) : nectar, pollen, miellat. (Briane *et Cabrol*, 1986). L'Algérie possède un couvert végétal mellifère riche et varié, il est réparti dans des étages bioclimatiques différents (humide, subhumide, semi-aride, aride et saharien). Les miels algériens sont caractérisés par des spectres polliniques dominés par *Eucalyptus*, *Hedysarum*, *Pimpinella*, *Tamarix*, *Rubus*, *Daucus carota*, *Vicia*, *Citrus*, *Centaurea*, et *Sedum* type (Makhloufi *et al.*, 2010). Selon Homrani *et al* (2020), la présence de certains types polliniques et leur répartition dans le miel peut être un indicateur de l'origine géographique. En comparant les spectres polliniques des miels, selon les étages bioclimatiques et leur zone de production, il est bien constaté que l'*Eucalyptus* soit très fréquent dans toutes les zones. Il est toutefois plus abondant dans les zones semi-arides des régions telliennes, plus particulièrement dans la région de Mostaganem, de même pour *Olea europea*, *Genista*, *Hedysarum coronarium*, les formes

polliniques appartenant à la famille des *Apiaceae*, notamment *Daucus carota*, *Thapsia garganica*, *Coriandrum sativa* et *Pimpinella anisum*. (voir figure 13)



Figure 13 : principales plantes mellifères présentes dans la région de Mostaganem

II.8.Principaux type de miel selon leurs origines florales

Le miel floral est fabriqué par les abeilles à partir du nectar de fleurs, tandis que le miel de miellat est préparé à partir des sécrétions de parties vivantes de plantes ou excréments des insectes suceurs de plantes sur la partie vivante des plantes (Prodollet et Hischenhuber, 1998). Les miels fabriqués à partir de nectar se divisent en miels monofloraux et miels polyfloraux.

II.8.1. Miels monofloraux

Les miels monofloraux sont fabriqués à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale et cela nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. (voir figure 14).

Si de très nombreux végétaux possèdent des qualités mellifères, un nombre restreint d'entre eux permet une production monoflorale caractéristique (Clément, 2015).

Les miels monofloraux ont des caractéristiques physicochimiques, sensorielles et palynologiques spécifiques (Bogdanov *et al.*, 2004).

Ces dernières années les apiculteurs ont investi à produire des miels monofloraux plus appréciées par les consommateurs en réalisant plusieurs récoltes durant l'année par la pratique de la transhumance vers les hauts plateaux et même le sahara. Les miels monofloraux produits en Algérie sont ceux d'*Eucalyptus*, de carotte sauvage, d'agrume, de lavande, de romarin, d'euphorbe, d'arbousier, de thym, de caroubier, de lavande, de jujubier qui est très réputé de ses caractéristiques thérapeutiques et organoleptiques.

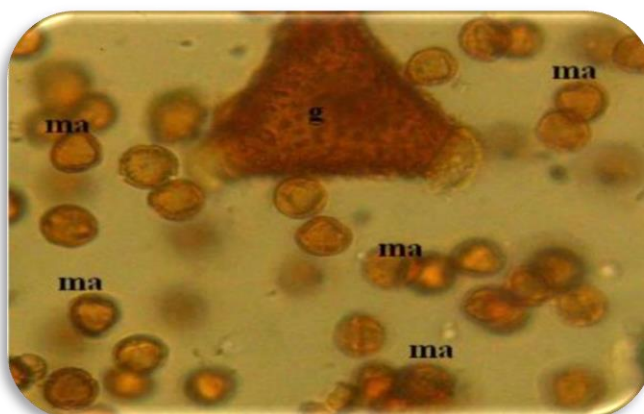


Figure 14 : aspect microscopique d'un miel monofloral, ma : *Macaranga sp*, g : *Grevillea banksii*. (Manda, 2015).

II.8.2. Miels polyfloraux

Les miels polyfloraux sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales (voir [figure 15](#)). Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent leur origine géographique ([Clément, 2015](#)). 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...) ([Bonte et Desmouliere, 2013](#)).

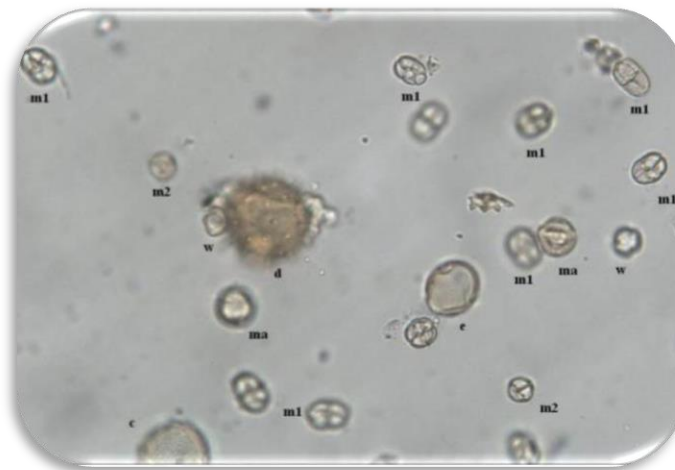


Figure 15 : aspect microscopique d'un miel polyfloral, m1 : *Mimosa sp*, m2 : *Mimosa pudica*, ma : *Macaranga sp*, w : *Weinmania sp*, d : *Dombeya sp*, e : *Euphorbiaceae* ([Manda, 2015](#))

Ils existent d'autres classifications des miels par exemple classification selon leurs modes d'extraction ([Bogdanov, 2003](#)) :

- Miel centrifugé : obtenu par centrifugation des rayons désoperculés ne contenant pas de couvain.
- Miel pressé : obtenu par pressage des rayons, sans chauffage ou avec chauffage modéré.
- Miel en rayons : pour le miel emmagasiné par les abeilles dans les alvéoles operculées de rayons nouvellement construits, et vendu en rayons entiers ou non.
- Miel égoutté : pour le miel obtenu par égouttage des rayons désoperculés ne contenant pas de couvain.

II.9. Méliissopalynologie

La méliissopalynologie est définie comme l'étude du pollen de miel, utilisé pour déterminer les sources florales et l'origine géographique (Ponnuchamy, 2014). La Méliissopalynologie est une méthode de détermination microscopique de l'origine repose sur l'identification et le comptage des éléments figurés obtenus par centrifugation d'une solution de tout miel produit dans les conditions naturelles. Les plus importants de ces éléments figurés sont les grains de pollen, les miels peuvent contenir d'autres éléments, spores de champignons, algues microscopiques, levures, fragments d'insectes et poussières atmosphériques. De nombreux études antérieures suggéraient que l'analyse pollinique permet d'identifier couramment le type de pollen et donne la possibilité de déterminer les espèces botaniques et l'origine géographique des miels ainsi que l'appréciation de la biochimie et la qualité des miels (Herrero, 2002 ; Montenegro, 2010). Par conséquent, l'analyse pollinique est importante pour l'industrie apicole en développant le miel commercial et produit à base de miel (Wahizatul *et al.*, 2015). Dans la méliissopalynologie deux types d'analyses sont exercées : l'analyse pollinique qualitative et une autre quantitative.

II.9.1. Analyse pollinique qualitative

L'analyse pollinique qualitative consiste à identifier les taxons rencontrés dans un échantillon avec leurs fréquences relatives (Louveaux *et al.*, 1970). L'observation microscopique de la totalité des pollens donne des informations non seulement sur (l'origine géographique, origine botanique, l'éventuelle souillure du miel, la quantité de levure, la présence éventuelle anormale de particules insolubles dans l'eau qui ne se trouvent pas normalement dans le miel) (Louveaux *et al.*, 1970), mais aussi sur la végétation d'intérêt apicole dans une région (intensité, proportion et répartition).

Les caractères retenus dans l'identification des grains de pollen sont : la taille, la forme, l'ornementation de l'exine, les apertures.

L'identification de grains de pollen se limite souvent à la forme du genre. L'appellation scientifique doit être limitée aux cas où une détermination sûre est possible. Dans le cas douteux, il convient d'accompagner le nom scientifique d'une mention précisant clairement que celui ci doit être pris dans un sens large: par exemple *Trifolium repense* s.l. (sensu lato) ou «groupe *Trifolium repense*», c'est à dire pollen qui d'après ses dimensions et sa structure est plus ou moins semblable à celui de *T. resupinatum* ou *T. arvens* (Maurizio et Louveaux, 1965). Les grains de pollen abortifs et malformés sont comptés, dans la mesure où il est

possible de les identifier (Louveaux *et al.*, 1970). Selon Louveaux *et al.* (1970), les taxons identifiés sont regroupés en classes de fréquences : pollens dominants et principaux, pollens d'accompagnement, pollens isolés importants, pollens isolés ou rares. D'après Louveaux *et al.* (1978), lorsque le nombre de pollen dominant dans un miel est supérieur à 45% ça permet de le considérer comme miel « monfloral » ou « unifloral », s'il n'y a pas de pollen dominant, le miel est considéré comme « toutes fleurs » ou « multifloral ».

On considère comme indicateurs de miellat : les hyphes et les spores de Champignons, et tout particulièrement de Fumagines, les Algues et les sécrétions cireuses provenant de certains producteurs de miellat (Louveaux *et al.*, 1970).

Cas particuliers, les pollens de quelques plantes sont sur-représentés dans le miel correspondant c'est-à-dire que le pourcentage des pollens trouvés est plus élevé que le pourcentage réel du nectar le cas de châtaignier, on peut admettre qu'un miel ne provient en majorité du châtaignier que lorsque le pollen de cette plante apparaît avec une fréquence de 90%. Chez d'autres plantes il se produit un phénomène inverse : le pollen se trouve sous-représenté le pourcentage de pollen considéré est de 10 à 30% le cas miel de *Citrus*, la lavande, romarain, tilleul. En principe les miels provenant de plantes mellifères dont le pollen est sous-représenté ont une faible teneur absolue en éléments végétaux (Louveaux *et al.*, 1970).

II.9.2. Analyse pollinique quantitative

C'est un procédé microscopique consiste à compter le nombre total des éléments figurés présents dans le sédiment obtenu par centrifugation d'une solution de miel.

Les résultats obtenus sont classés selon la quantité de pollen en 5 classes : Classe I (miels de fleurs pauvres en pollen et miels de miellat), Classe II (renferme la plupart des miels de fleurs), Classe III (miels riches en pollen), Classe IV (miels très riches en pollen), Classe V (miels des fleurs extrêmement riches en pollen) (Maurizio, 1939).

D'autre part, l'analyse quantitative permet le dénombrement des indicateurs de miellat présents dans le sédiment et de calculer le rapport I.M / Pollen pour apprécier la participation du miellat dans un miel donné. L'analyse quantitative donne des informations sur :

- Le mode de récolte du miel : pressage, centrifugation, filtration, etc.,
- Des indications sur d'éventuelles falsifications ou sur la présence en quantités importantes de particules étrangères (salissures, succédanés de pollen, levures, etc.).

II.9.3. Méthodes utilisées en méliissopalynologie

Depuis les travaux fondamentaux de Zander (1935, 1937, 1941, 1949, 1951), un grand nombre d'examens microscopiques de miels ont été faits dans beaucoup de pays. L'expérience ainsi acquise rend souhaitable de donner une nouvelle version des « Méthodes d'analyse pollinique des miels » publiées par la Commission internationale de botanique apicole de l'U.I.S.B. (1962-1963) (Louveaux *et al.*, 1970).

Deux méthodes d'analyses polliniques sont appliquées :

II.9.3.1. Méthode classique

C'est une méthode codifiée par la Commission Internationale de Botanique Apicole, se base sur l'extraction et le montage des grains de pollens. 10 g de miel sont mis en solution dans l'eau chaude (< 40°C) et centrifugée à 3000 tours /minute pendant 10 minutes. Le sédiment est prélevé, déposé sur une lame, séché, inclus dans la gélatine et recouvert d'une lamelle. Un sédiment très faible indique soit un miel naturellement pauvre en pollen (par exemple miel d'agrumes) soit un miel ayant subi un traitement (filtration sur des matériaux à pores très fins) ou une falsification (par exemple nourrissage au sucre).

Les préparations de référence se modifient avec le temps. On constate un gonflement et une augmentation des dimensions des grains de pollen. Malgré cela les vieilles préparations ne sont pas sans valeur car elles montrent parfois de façon très nette certains détails. Elles ne sont toutefois pas utilisables pour les comparaisons de dimensions. La collection doit donc, après quelques années, être complétée par des préparations nouvelles. Le lutage des préparations avec du Caedax, du baume du Canada ou du Kranings est recommandé pour améliorer la conservation (Maurizio et Louveaux, 1970).

II.9.3.2. Méthode de l'Acétolyse

Elle permet une observation fine et rigoureuse de la structure de la paroi pollinique, élément qui devient indispensable dans le cas des régions où la flore mellifère est mal connue (Gadbin, 1979). Jusqu'en 1970, l'International Commission de botanique apicole (I.C.B.B.) de l'U.I.S.B. ne mentionne pas l'acétolyse du miel parmi les méthodes de méliissopalynologie. En 1967, Vorwhol exclut l'acétolyse des méthodes d'analyse du miel « comme prenant trop de temps et provoquant la destruction d'éléments figurés accessoires tels que les algues, levures, morceaux d'insectes, intéressants pour l'étude du miel ». Les

arguments de Vorwhol demeurent valables pour l'étude des divers composants du miel, mais en méliissopalynologie plusieurs

faits ont rendu nécessaire l'application des méthodes de traitement acétolytique mises au point par Erdtman (1936, 1943, 1952 et 1960) : d'une part, la recherche de l'origine florale de miels provenant de zones où la flore mellifère est inconnue; d'autre part, la rareté, pour ces régions, des pollens décrits le cas des pollens exotiques mal connus.

Selon Erdtman (1943), 10 g de miel préalablement dissous dans 100 ml d'eau tiède (pas plus de 40°C) et centrifugé à 2500 tours par minute pendant 5 minutes. L'acide acétique pur après de mélange acétolytique (mélange d'acide acétique et acide sulfurique) sont ajoutés sur le culot. L'ensemble est placé dans un bain-marie à 70°C. Le culot est rincé par l'eau distillée réalisant plusieurs centrifugations et décantations, enfin le montage est réalisé dans la glycérine pure.

II.10. Labellisation du miel

Le meilleur moyen de valorisation et de protection des produits agroalimentaires locaux est de labelliser. En Europe les produits de haute qualité sont labellisés avec le label l'**AOP** (Appellation d'Origine Protégée), l'**IGP** (indication géographique Protégée), et la **STG** (Spécialité Traditionnelle Garantie). Un produit labellisé est soumis obligatoirement d'un cahier des charges strict et contraignant, ces labels sont représentés par des logos (voir figure 16).

La fabrication et la transformation d'un produit labellisé **AOP** doivent avoir lieu dans une aire géographique déterminée avec un savoir-faire spécifique, reconnu avec des ingrédients de la zone pour une **IGP**. Le cahier des charges est identique mais les ingrédients ne proviennent pas nécessairement de l'aire géographique de la production. La **STG** considère les produits dont les ingrédients présentent un caractère traditionnel sans avoir de lien avec une aire géographique déterminée. Des analyses de laboratoire sont effectuées chaque année sur des lots de miel prélevés sur les exploitations apicoles ou sur les mielleries, l'origine géographique du miel est systématiquement vérifiée grâce à la méliissopalynologie. En Algérie malheureusement aucun type de miel n'est certifié par un label car une **stabilité phytoécologique** est nécessaire pour obtenir ce dernier.



Figure 16 : différents logos des miels

II.11. Etiquetage

II.11.1. Dénomination de vente

D'après le *Codex Alimentarius* (1981), la Norme générale pour l'étiquetage de denrées alimentaires préemballées ci-après s'applique :

- Seuls les produits conformes à la définition du *Codex Alimentarius* du miel seront désignés sous le nom de « miel ».
- Pour les miels de nectar, le nom du produit pourra être complété par le mot « nectar ».
- Pour les miels de miellat, le mot « miellat » pourra figurer à proximité du nom de l'aliment - pour les mélanges de miel de nectar et miel de miellat, le nom de l'aliment pourra être complété par les mots « un mélange de miel de miellat et de miel de nectar ».
- Le miel peut être désigné selon le nom de la région géographique sous réserve d'être produit exclusivement de la zone indiquée dans la désignation et le nom du pays sera aussi indiqué.
- Le miel peut être désigné en fonction de la source florale, s'il provient totalement de ladite source et s'il présente les propriétés organoleptiques, physico-chimiques et microscopiques correspondant à ladite origine, le nom botanique de la source florale devra mentionnée à proximité du mot « miel » et le nom du pays sera aussi indiqué.
- Le miel peut être désigné en fonction de la méthode d'extraction du rayon, (miel pressé, miel égoutté) et aussi par les modes de présentation suivants :

- Miel sous forme liquide ou cristallisé ou un mélange des deux formes.
- Miel en rayons entiers operculés ou en sections de rayons operculés.
- Miel avec morceaux de rayons.
- .- Miel filtré qui a subi une filtration aboutissant à l'élimination de grande quantité de pollen sera désigné par le nom de « miel filtré ».

L'étiquetage comporte aussi : le poids, le nom et l'adresse de l'apiculteur, la date de la récolte, la date de conditionnement, le numéro du lot de conditionnement.

Pour l'étiquetage des récipients non destinés à la vente au détail, le nom du produit, l'identification du lot, le nom et l'adresse du producteur, du transformateur doivent être mentionnés sur le récipient.

II.11.2. Date limite de consommation

Les propriétés organoleptiques et physicochimiques doivent être conservées. Cette date doit figurer sur l'étiquette, elle sert à garantir au consommateur que le miel possède tous ses critères de qualité. Généralement, la date limite d'utilisation optimale est de deux ans (Clémence, 2005).

Chapitre III. Caractérisation physicochimique

III.1. Composition chimique du miel

Le miel est un produit naturel dont la composition est très complexe et variable ; elle est influencée par de nombreux facteurs tels que : la nature de la flore butinée, la nature du sol, les conditions météorologiques, la spécificité génétique des abeilles, l'état physiologique de la colonie (Bonte, 2013).

Généralement, le miel est constitué d'hydrates de carbone pour 80 % environ, d'eau pour 17 % environ et de divers éléments (acides organiques, acides aminés, protéines, lipides, sels minéraux, enzymes, pigments et vitamines). Les hydrates de carbone se composent de :

- Les monosaccharides avec en moyenne 31 % de glucose et 38 % de fructose (ou lévulose) 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.

- Les disaccharides comme le maltose (7,3 %) et le saccharose (1,3%).

- Les tri et polysaccharides qui représentent 1,5 à 8 %. On peut citer parmi eux : l'erlose, le raffinose, le mélézitoze, le kojibiose, le dextrantrose, le mélibiose.

Le fructose prédomine dans la plupart des miels suivi par le glucose, alors que les miels de miellat contiennent plus de sucres supérieurs que de glucose et de fructose.

Selon Prost (2005), la répartition entre le glucose et le fructose conditionne la cristallisation:

- si le rapport F/G est supérieur à 1, la cristallisation sera lente.
- si le rapport F/G est inférieur à 1, la cristallisation sera rapide.

La teneur en eau constitue un critère important qui conditionne la qualité et la conservation de miel. Le miel est operculé par les abeilles lorsque sa teneur en eau atteint en moyenne 17 à 18 % (Bogdanov *et al.*, 2005), un excès d'eau favorise l'augmentation de risque de fermentation de miel. Sa teneur est influencée par nombreux facteurs tels que :

- La teneur en eau du nectar,
- Le niveau d'operculation des rayons,
- Les conditions de stockage,
- Les conditions climatiques au moment de la récolte.

Le miel contient aussi des acides organiques, le plus dominant est l'acide gluconique on y trouve également d'autres acides 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. Des quantités infimes d'acide formique, d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique. Les lactones sont présentes d'une façon constante, ont également une fonction acide. En parlant des acides aminés et protéines, ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26 %) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041 %. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante surtout des grains de pollen soit des sécrétions de l'abeille, les acides aminés sont présents sous forme de traces comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est souvent la plus abondante des acides aminés du miel (Bonte, 2013).

La teneur en sels minéraux d'un miel est faible, mais ils sont plus abondants dans les miels foncés. La teneur dépend des plantes visitées par les abeilles et le type de sol sur lequel elles poussent. Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales, mais il s'agit également du calcium, sodium, magnésium, cuivre, manganèse, chlore, soufre, silicium, et du fer.

Certains enzymes sont présents dans le miel, comme la gluco-invertase responsable de l'hydrolyse des disaccharides, les amylases alpha et bêta qui permettent la dégradation de l'amidon, la gluco-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Il est noté également la présence dans le miel d'une catalase, et une phosphatase ; et qui sont ces enzymes produites par les glandes hypopharyngiennes et les sécrétions salivaires de l'abeille. Leur nature protéique fragile les rend sensibles à la chaleur, en effet les enzymes du miel constituent un indicateur de surchauffe.

Une faible teneur en vitamines présente dans le miel, y compris des vitamines du groupe B issus des grains de pollen qu'il renferme, les vitamines liposolubles sont quasi absentes. Il s'agit notamment de la thiamine B1, de la riboflavine B2, de la pyridoxine, de l'acide pantothénique, de l'acide nicotinique B3, de la biotine et de l'acide folique B9, la vitamine C a été également trouvée dans le miel de menthe, provenant du nectar des menthes.

Les substances aromatiques et les pigments qui se trouvent dans le miel sont à l'origine des caractéristiques organoleptiques comme le goût et la couleur du miel. Certaines substances

aromatiques sont identifiées notamment le diacétyl, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone et l'isobutyraldéhyde, l'antranilate.

Les pigments sont constitués principalement par des flavonoïdes et des caroténoïdes, varient quantitativement et qualitativement en fonction de la flore butinée. Parmi les flavonoïdes identifiés dans le miel : la pinocembrine, la pinobanskine, la chrysin, la galangine, la quercétine, la lutéoline et la kaempférol.

On peut aussi retrouver dans le miel des spores, des algues unicellulaires, des levures osmotolérantes (responsables de la fermentation), et des champignons microscopiques, de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) substance qui provient de la transformation du fructose en milieu acide, est présent dans les vieux miels ou ceux ayant subi un surchauffage. Le miel peut contenir des contaminants proviennent des traitements des cultures comme les pesticides et les herbicides, mais également des résidus d'antibiotiques et des antiparasitaires utilisés dans les traitements des colonies et des métaux lourds.

III.2. Propriétés physicochimiques des miels

III.2.1. Viscosité

La viscosité est reliée d'une façon directe à la teneur en eau et à la température ; une température de 35°C est suffisante pour assurer à un miel normal la fluidité dont il a besoin à fin de le manipuler dans les appareils de la miellerie. Certains miels dites thixotrope, cas de miel de callune capable de passer de l'état gel à l'état liquide par simple agitation et de revenir à l'état gel sans intervenir ni température ni teneur en eau (Louveaux, 1959).

III.2.2. Densité

C'est le rapport du poids de l'unité de volume et le poids du même volume d'eau. La densité est variable en fonction de la teneur en eau, plus un miel est riche en eau moins il est dense, mesurée à l'aide d'un densimètre, la valeur moyenne est de 1.4225 à 20°C.

III.2.3. Hygroscopicité

Le miel possède le caractère d'absorption de l'humidité de l'air, le fructose participe majoritairement à cette opération. Un miel normal de 18% d'eau si on le laisse dans une atmosphère humide peut atteindre une hygrométrie de 55%.

III.2.4. Activité de l'eau (a_w)

L'activité de l'eau est définie comme le rapport entre la pression de vapeur d'eau à la surface d'un produit et la pression de vapeur de l'eau pure à la même température du produit, Les valeurs « a_w » moyenne du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' a_w est $< 0,60$ peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que, l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement (Bogdanov *et al.*, 2003).

III.2.5. Abaissement du point de congélation

Cette caractéristique dépend fortement de la proportion de glucose et de lévulose ainsi que de la teneur en saccharose et en dextrans : un abaissement de 1,42°C à 1,53°C en solution aqueuse à 15% et 2,75°C à 3,15°C en solution aqueuse à 25%.

III.2.6. Couleur

Provient des matières pigmentaires présentes dans le miel (caroténoïdes et xanthophiles), et varie en fonction de ses origines florale et géographique. Le miel peut présenter différents couleurs, car il existe des miels limpides comme de l'eau, des miels jaunes, ambrés, verdâtres, rougeâtres, et certains presque noirs. À l'exception du violet et du bleu la couleur des miels varie à l'infini (Clémence, 2005). Le chauffage, le vieillissement ainsi que la lumière favorisent l'intensification de la coloration du miel, même la présence de certaines substances encore mal connues est aussi à l'origine de la coloration du miel (Louveaux, 1968).

III.2.7. Solubilité

Le miel est soluble dans l'eau, l'alcool dilué et insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme, le benzène (Clémence, 2005).

III.2.8. Contrôle de qualité du miel

Pour qualifier un miel il faut vérifier son authenticité. En effet, le miel doit être produit par les abeilles à partir du nectar ou du miellat sans aucune addition ni élimination. Le contrôle de la qualité consiste du miel à déterminer la salubrité c'est-à-dire sans aucune contamination microbiologique, chimique et évaluer l'intégrité le miel doit être vérifié de toute addictions, soustractions, altérations.

Le *Codex Alimentarius* (ensemble de normes alimentaires internationales sur la qualité et l'innocuité des aliments élaborées par la Commission mixte Food and Agriculture Organization, [Organisation mondiale de la santé \(2001\)](#) et le [Journal Officiel de la Communauté Européenne \(2002\)](#)) ont mis au point des normes pour certains paramètres physicochimiques. Ces dernières sont variables en fonction de mode et la durée de conservation et la composition initiale du miel. En plus des paramètres physicochimiques, le contrôle de qualité doit être complété par la détermination de l'origine botanique et géographique.

Pour obtenir des résultats fiables et certifiés par tous les laboratoires les méthodes et les techniques d'analyses ont été étalonnés par Commission Européenne du Miel en 1997, en collaboration avec les travaux de [Bogdanov et al. \(1997\)](#), (méthodes harmonisés par la commission européenne de miel, publiées dans la revue de *Apidologie*). Les principaux indicateurs de qualité physicochimique sont :

III.2.8.1. Teneur en eau

Constitue un important indicateur de qualité, et typiquement variable en fonction de la saison de récolte, le climat et le moment de la récolte. En effet une récolte précoce donne un miel dont la teneur en eau élevée ([bogdanov, 2004](#)), affecte sur les paramètres physiques du miel (viscosité et cristallisation) et peut influencer aussi sur la valeur du rapport glucose/eau et son augmentation provoque la fermentation ([Persano-Oddo et Piro, 2004](#)) in ([bogdanov, 2004](#)).

Selon les normes du *Codex Alimentarius* un miel normal doit avoir un teneur en eau est inférieur ou égale 20% à l'exception du miel de bruyère (*Calluna*) et Miel de trèfle (*Trifolium*) où la teneur en eau ne doit pas dépasser 23 %, mais seuls les miels dont l'humidité est inférieure à 18% se conservent lentement, Les miels qui ont une teneur en eau de 15 à 18% ont une bonne cristallisation, alors que ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement, l'humidité est déterminée habituellement par réfractométrie ([Bogdanov, 1997](#)).

III.2.8.2. Teneur en hydroxyméthylfurfural

C'est le critère le plus fiable pour évaluer la fraîcheur et la détection d'éventuel surchauffage. Le HMF se forme quand les monosaccharides et plus particulièrement le fructose sont dégradés en milieu acide par déshydratation moléculaire. La production de

HMF est favorisée par la forte teneur en fructose et par l'acidité du milieu. Le HMF se forme rapidement dans les miels de nectar que dans les miels de miellat, qui sont moins acides (Bogdanov, 1999), ni miel de nectar frais ni miel de miellat frais contient du HMF (Clémence, 2005).

Sa teneur augmente en fonction de l'acidité du miel et la température de stockage et les normes le *Codex Alimentarius* admettent une teneur de 40 mg/kg, l'exception est faite pour les miels de zones tropicaux en raison de la température élevée de stockage un taux de 80 mg/kg est acceptable. Trois méthodes pour déterminer le taux d' HMF sont décrites et validées par (Bogdanov *et al.*, 1997); seuls deux d'entre elles sont recommandées : la méthode de White (1979) par spectrophotométrie au Bisulfite, l'autre par utilisation de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) la plus fiable mais coûteuse. La méthode de Winkler (1955) ne doit pas être utilisée car l'un des réactifs est la paratoluidine, qui est cancérigène.

III.2.8.3. Indice diastasique

La présence des enzymes dans le miel est bien évidemment connue, et parmi les enzymes comme la diastase ou l'amylase provenant essentiellement des sécrétions salivaires des abeilles.

L'activité diastasique diffère d'un miel à un autre, probablement dépend de stade physiologique des glandes salivaires au cours de la saison productive et le rythme de flux du nectar (Bogdanov, 2004). La diastase perd totalement ses propriétés à température élevée 35°C, à travers la mesure de l'activité diastasique, l'état de vieillissement et les altérations par surchauffage sont détectés. Deux méthodes sont utilisées en routine : la méthode de Schade (1958) par l'utilisation de l'amidon comme substrat et la méthode de Phadebas (Persano-Oddo *et al.*, 1999) pour les miels qui ont une faible teneur en enzymes. L'indice diastasique d'un miel normal est de 8 sur l'échelle de Schade. La grande variabilité de ce paramètre due fortement à l'origine botanique du miel. Chez les miels de robinier, d'agrumes, de *Taraxacum*, d'*Erica* et particulièrement d'arbousier la diastase peut être absente ou en tout cas inférieure au minimum de 3 prévu par les normes, par contre les miels d'*Hedysarum*, de miellat, d'*Eucalyptus*, de châtaigner et encore plus de thym ont un indice diastasique élevé. Cette grande variabilité a conduit à reconsidérer ce paramètre comme indicateur de la fraîcheur du miel, car les limites légales sont trop larges pour certains types de miels et trop restrictives pour d'autres (Persano-Oddo *et al.*, 1990).

III.2.8.4. pH et acidité

Tout les miels sont acides en raison de la présence d'acides organiques, le pH et l'acidité ont un certain pouvoir de classification des miels (Bogdanov, 2004). Les miels de nectar ont un pH généralement oscillant entre 3,5 et 4,5 alors que les miels de miellat leur pH oscille entre 4,5 et 5,5. Le pH agit sur le degré de dégradation des monosaccharides et enzymes présent dans le miel ; plus le miel est acide plus il est rapidement dégradé.

L'acidité est considérée comme un critère important de qualité, contribue plus ou moins sur sa saveur et sa stabilité (Bogdanov, 2004). La norme européenne fixe une valeur maximale de 50 milliéquivalents/kg (Bogdanov, 1997).

III.2.8.5. Conductivité électrique (CE)

La mesure de CE a été introduite il y a long temps (Vorwohl, 1964) in (Bogdanov, 2004) comme paramètre de la qualité. Actuellement, la CE est le paramètre de qualité de plus utilisé pour la classification des miels selon l'origine (nectar ou miellat) ; la CE des miels de miellat est plus élevée que celle de miel de nectar. La CE est introduite dans les normes de Codex Alimentarius en remplaçant la teneur en cendres et en effet la CE correspond à la teneur en minéraux (Accorti *et al.*, 1987) cité par (Bogdanov, 2004).

La CE est déterminée par une instrumentation peu coûteuse et sa valeur est exprimée en milli Siemens/cm à 20°C. Les miels de nectar à l'exception des *Arbutus*, *Erica*, *Eucalyptus*, *Lavandula*, *Gossypium*, *Calluna*, *Tilia* ont une conductivité inférieure à 0,7 mS/cm tandis que les miels de miellat et le miel de châtaignier ont une conductivité supérieure à 0,7 mS/cm (Bogdanov, 1997).

III.2.8.6. Sucres

Constituent la partie la plus importante du miel, responsable de sa viscosité, sa cristallisation et son hygroscopie. Il s'agit notamment en grande partie du « glucose et fructose », du saccharose, du maltose, du isomaltose, et du turanose. A l'état de traces il existe de l'erlose, le mélézitose, le tréhalose, le mélibiose, le nigérose, le turanose, le kojibiose, le raffinose, le palatinose. Seules les méthodes de chromatographie (chromatographie liquide à haute performance, chromatographie en phase gazeuse) donnent des meilleurs résultats des teneurs en sucres (Bogdanov, 2004). La nature des sucres présents dans le miel dépend des espèces de plantes butinées et la quantité des enzymes excrétées par les glandes salivaires de l'abeille. Le rapport fructose/glucose conditionne la cristallisation, si

le rapport F/G est supérieur à 1 la cristallisation est lente et si le rapport F/G est inférieur à 1, la cristallisation est rapide (Prost, 2005). Il existe des différences entre les miels de nectar et les miels de miellat ces derniers contiennent le mélézitose et le raffinose (Bogdanov, 2004).

III.2.8.6.1. Teneurs en matières insolubles dans l'eau

Cette opération consiste à détecter les impuretés présentes dans le miel par exemple : pollen, des ailes d'abeilles, des pattes d'abeilles, particules de cire etc. Elles sont obtenues et identifiées après plusieurs filtrations, par la suite le filtrat est lavé, séché et pesé. Le *Codex Alimentarius*, et UE en 1997 ont autorisé une teneur de 0,1 g/100 g de matières insolubles pour un miel normal et une teneur de 0,5 g/100 g pour miel pressé. (voir [tableau 01](#)).

Tableau 01 : recommandation de *l'Union Européen, 2002* et *Codex Alimentarius, 2001* de certains critères de qualité.

Type de miel	Recommandation UE	Recommandation codex
	Eau g/100g	
Miel en général	20 au max	20 au max
Bruyère et trèfle	23 au max	23 au max
	Teneur en (fructose et glucose)g/100g	
Miel en général	≥60	≥60
Miel de miellat, ou mélanges avec miel de nectar	≥45	≥45
	Teneur e saccharose g/100	
Miel en général	≤5	≤5
Miel de miellat ou mélange avec miel de nectar	≤10	≤10
Luzerne, hedysaron, agrume, eucalyptus rouge	≤10	≤10
	Substances insolubles g/100g	
Miel en général	0.1 au max	0.1 au max
Miel prèssé	0.5 au max	0.5 au max
	Teneur en HMF mg/ kg	
Tout les miels	≤40	≤40, ≤80 en pays chauds
	Indice diastase (en unités de Schade)	
Miel en général	≥8	≥8
Miel pauvre en enzymes(acacia, agrume)	≤3	Pas de recommandation
	Conductivité électrique mS/cm	
Miel en général	≤8	≤8
Miel de miellat ou mélange avec miel de nectar	≥8	≥8
Exception : Arbousier, eucalyptus, bruyère commune et cendrée, Tilleul	Pas de recommandation	Pas de recommandation

III.3. Conditions de stockage du miel

Comme tout les produits d'origine animale, le miel présente des risques de vieillissement et d'altération et c'est pour ce la il est strictement recommandé de conserver le miel dans des conditions optimales à fin de sauvegarder sa fraîcheur et ses propriétés (sensorielles et physico-chimiques).

D'après [Bogdanov \(1999\)](#), une température de stockage basse (10-18°C) conjuguée à une humidité dans l'air de moins de 60% et à une odeur neutre, constituent une atmosphère de bonnes conditions d'entreposage.

III.3. Modes d'altération du miel

III.3.1. Cristallisation

Vu que le miel est une solution sucrée sursaturée, il est prédisposé lors de son stockage à des transformations de couleur et de texture : c'est la cristallisation.

La cristallisation est un processus naturel ([Bogdanov, 1999](#)), elle peut être fine ou grossière, fine dans les miels de luzerne, trèfle, colza, bruyère et grossière dans les miels de châtaignier, oranger, sapin, tilleul. Certains miels se cristallisent rapidement (dans les jours qui suivent la mise en pot) comme le miel de colza, alors que d'autres restent à l'état liquide pendant des années à température ordinaire, le cas du miel d'acacia et des miels de miellat ([Clémence, 2005](#)).

La vitesse de cristallisation dépend des facteurs suivant :

-Teneur en sucres : plus la teneur en glucose est élevée plus rapidement sera la cristallisation, les miels avec plus de 28% de glucose se cristallisent rapidement, chez les miels de miellat une teneur en mélézitose de 10% se transforme en miel dit miel-ciment.

-Teneur en eau : les miels qui ont une teneur en eau de 15 à 18% subissent une bonne cristallisation. Ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement.

La consistance varie selon la teneur en eau, les miels tartinables ont une teneur en eau de 17 à 18%, ceux au contenu hydrique faible deviennent durs, alors que ceux avec plus de 18% d'eau restent mous. D'après [Bogdanov \(2011\)](#) les miels ayant une haute teneur en eau se cristallisent souvent en deux phases (une phase solide de glucose cristallisé et une phase liquide).

-Température de stockage : une température de 10 à 18°C constitue une température optimale pour la cristallisation .une température de 14°C est idéale. A basse température par exemple dans le congélateur, le miel reste liquide ; les miels à cristallisation rapide comme le miel de colza se figent sous la forme de cristaux très fins. A température élevée (plus de 25°C), la cristallisation est lente et grossière. (Bogdanov, 1999).

Selon White *et al.* (1962), l'aptitude à cristalliser un miel est en fonction du rapport glucose/eau, la cristallisation est nulle ou très lente lorsque l'indice est inférieur à 1,6 mais elle est rapide et totale lorsque l'indice dépasse 2.

III.3.2.Fermentation

La fermentation du miel dépend de la teneur en eau, de la température de stockage et de la quantité initiale des levures. Lorsque la teneur en eau est élevée et la température de stockage est convenable à la multiplication des levures, le miel va se fermenter. Tout miel fermenté est un miel acide dont l'acidité est beaucoup plus élevée par rapport à la norme.

Les levures responsables sont des levures osmophiles qui proviennent du nectar, des pollutions dues aux abeilles ou par contamination après la récolte (Makhloufi, 2011). Selon Gonnet (1982), seuls les miels dont la teneur en eau est inférieure à 18% sont de bonne conservation. Toute augmentation de la teneur en eau au cours du stockage provoque une augmentation des levures, Vu les propriétés très hygroscopique, le miel absorbe l'humidité de l'air quand celle-ci est plus de 60% ; les récipients contenant le miel doivent être étanches à l'air et à l'eau (Bogdanov, 1999).

III.3.3.Changement de couleur du miel

Lors du stockage, la couleur du miel varie, elle devient plus foncée à la chaleur et à la lumière (Bogdanov, 1999).

- A droite : à la lumière et à température ambiante.
- Au milieu : dans l'obscurité et à température ambiante.
- A gauche : dans l'obscurité et à température de 15c°. (voir figure 17).



Figure 17 : les variations de la couleur selon la lumière et la température.

III.3.4. Détérioration par la chaleur

En fonction de la durée et de la température lors de l'entreposage du miel, l'activité enzymatique diminue et la teneur en HMF augmente. En effet, la saccharase est beaucoup plus sensible que la diastase, la teneur en inhibine (glucose-oxydase) baisse aussi selon la durée de l'entreposage. La teneur en HMF augmente lors de l'élévation de température, la valeur du pH joue un rôle important. (voir [tableau 02](#))

Tableau 02 : détérioration des enzymes et formation d' HMF en fonction de température
(White *et al.*, cité par Bogdanov, 1999).

Température du stockage, C°	Temps nécessaire à la formation de 40mg HMF/kg	Durée de demi-vie Diastase	Durée de demi-vie Invertase
10	10-20 années	35 années	26 années
20	2-4 années	4 années	2 années
30	0.5-1 année	200 jours	83 heures
40	1-2 mois	31 jours	9,6 jours
50	5-6 jours	5.4 jours	1,3 jours
60	1-2 jours	1 jour	4,7 heures
70	6-20 heures	5.3 heures	47 minutes

Chapitre IV. Propriétés biologiques du miel

IV.1. Propriétés antibactériennes

Actuellement, des travaux médicaux ont montré non seulement que le miel est efficace pour soigner et cicatriser les plaies mais aussi le miel est considéré comme un alternatif intéressant dans la thérapeutique anti-infectieuse et surtout contre les germes résistants aux antibiotiques. Ces germes sont à l'origine des problèmes majeurs de santé.

Le terme antibactérien engendre un ensemble de composantes qui peuvent tuer totalement les bactéries (bactéricide) ou réduire la multiplication bactérienne (bactériostatique).

Plusieurs mécanismes interviennent dans l'activité antibactérienne et agissent en synergie, il s'agit notamment (voir [figure 18](#)) :

IV.1.1. Pression osmotique

Le mécanisme de la pression osmotique est induit par la forte teneur en sucres du miel, entraînant un abaissement de l'activité de l'eau car le circuit d'eau suit la loi osmotique ce qui provoque par conséquent une diminution de disponibilité de l'eau nécessaire au développement bactérien et déshydratation des bactéries. Mais la teneur en sucres du miel est suffisante pour conserver l'activité antibactérienne du miel lorsqu'il est dilué à environ 30 à 40 %. Dans le cas des dilutions plus élevées, l'activité antibactérienne est due à d'autres composés que les sucres ([Kwakman et Zaat, 2012](#)).

IV.1.2. pH

Il est bien connu que le miel est acide, son pH situe entre 3.5 et 6, ce faible pH semble être suffisamment efficace pour inhiber la croissance des microorganismes pathogènes. Cependant, quand il s'agit la dilution du miel par exemple les fluides corporels peuvent être responsables cette dilution, l'effet du pH bas est facilement négligé ([Kwakman et al., 2010](#)), donc il existe d'autres composés impliqués dans l'activité antibactérienne et qui sont à élucider.

IV.1.3. Formation du peroxyde d'hydrogène

La principale activité antibactérienne du miel est due à la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène grâce à la glucose oxydase (voir [figure 19](#)), qui est une enzyme

secrétée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles au moment de récolte du nectar ou miellat et aussi lors des trophallaxies successives (White *et al.*, 1963).

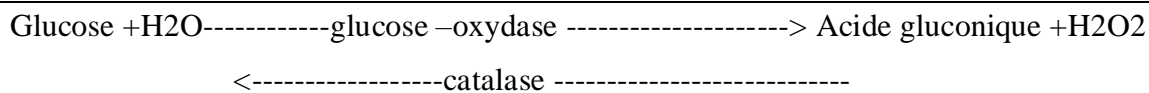


Figure 19 : formation enzymatique du peroxyde d'hydrogène selon Bang *et al.* (2003)

La fonction principale du H₂O₂ est la prévention de l'altération d'origine microbienne du miel non mur lorsque la concentration en sucres est insuffisante pour inhiber la croissance bactérienne.

Le glucose oxydase est inactivé dès que le miel est mur mais elle retrouve son activité lors de la dilution du miel. L'accumulation de H₂O₂ est la plus élevée dans la plage de 30 à 50% de miel et diminue rapidement en dessous de 30% de miel en raison de l'affinité relativement faible du glucose oxydase des abeilles mellifères pour son substrat glucose (Schepartz *et al.*, 1964). C'est une enzyme thermolabile et photosensible, les miels qui ont été stockés dans de mauvaises conditions produisent moins de peroxyde d'hydrogène. Il a été suggéré que la catalase provenant du pollen, du nectar ou des micro-organismes représente l'antagoniste responsable de l'activité neutralisante enzymatique H₂O₂ du miel (Huidobro *et al.*, 2005).

IV.1.4. Méthylglyoxal (MGO)

Il existe différents miels dont l'activité antibactérienne est non peroxyde substantielle, le miel Manuka est réputé par sa forte activité antibactérienne sans production de peroxyde, en parallèle des niveaux élevés en MGO ont été trouvés dans ce miel (Mavric *et al.*, 2008).

Le MGO se forme au cours du stockage du miel par la conversion non enzymatique de la dihydroxyacétone présente en concentrations élevées dans le nectar des fleurs de *Leptospermum scoparium*, sur la base de la forte corrélation entre les niveaux de MGO et le potentiel du miel à inhiber la croissance bactérienne. Il a été suggéré que le MGO est entièrement responsable de l'activité antibactérienne non peroxyde du miel de manuka (Adams *et al.*, 2008).

IV.1.5. Défensine d'abeille-1

C'est un peptide sécrété par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille, possède une puissante activité antibactérienne contre les bactéries notamment les bactéries à Gram positif tels que *B. subtilis*, *S. aureus* et *Paenibacillus larvae* (Kwakman *et al.*, 2010). Cette dernière

bactérie représente l'agent causal de la loque américaine (une maladie à déclaration obligatoire, dévastatrice des larves). La présence et la concentration de défensine-1 d'abeille dans différents miels n'ont pas encore été établies.

IV.1.6. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été proposés comme source potentielle de composés antimicrobiens dans le miel. D'après [Aljadi \(2003\)](#), des fractions phénoliques complexes trouvées dans les miels malaisiens ont un pouvoir antibactérien mais l'identification de ces fractions est mal connue.

IV.1.7. Microorganismes

Des bactéries réputées par leur pouvoir antibactérien contre les bactéries à gram positif et gram négatif ont été isolés à partir des miels tels que bactéries lactiques qui peuvent produire et excréter des composés antimicrobiens lorsqu'elles sont cultivées *in vitro*.

D'après [Bogdanov et Blumer \(2001\)](#), autres composés sont incriminés dans l'activité antibactérienne tels que les lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques et autres composants indéterminés ont été décelés.

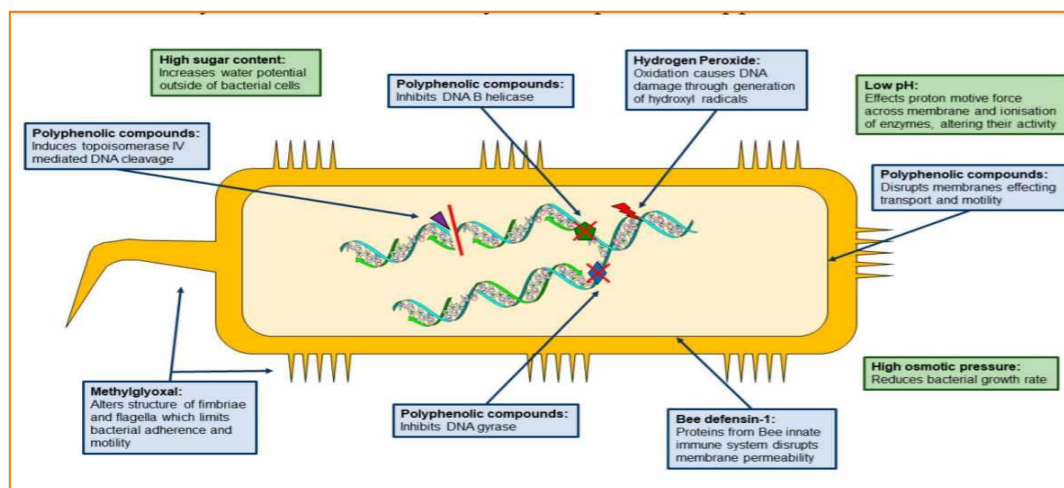


Figure 18: différents mécanismes de l'activité antibactérienne de miel (Nolan, 2019).

IV.2. Activité antioxydante

L'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par la formation d'espèces radicalaires (réactives) de l'oxygène (ERO), de très

nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle des ERO dans le développement de nombreuses pathologies comme l'athérosclérose et la cancérogenèse.

A l'état physiologique, les antioxydants et les prooxydants sont équilibrés mais lorsque cet équilibre est corrompu en faveur des prooxydants, le stress oxydatif se déclenche. Tout déficit en antioxydant (par une alimentation pauvre en vitamine A, C et E ou une diminution de l'activité des enzymes de défense antioxydantes) ou une production excessive des radicaux libres conduit à l'apparition du stress oxydatif (Pincemail *et al.*, 2002).

Un radical libre est une substance chimique (atome ou molécule) qui possède un électron non apparié, instable et fortement réactif, libéré principalement lors de processus inflammatoire produit par les cellules phagocytaires activées ou lors des agressions par des agents infectieux, la pollution, UV, la fumée de cigarette.

Les radicaux libres les plus courants sont le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH^\bullet) et le monoxyde d'azote (NO^\bullet). D'autres molécules, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ion peroxydite ($ONOO^-$), sont des substances oxygénées réactives non radicalaires, ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres et ils peuvent être générés par différentes réactions chimiques. On regroupe sous le terme d'ERO les radicaux libres et leurs dérivés activés depuis longtemps considérés comme potentiellement toxiques car ils ont la capacité d'endommager différents composants cellulaires vitaux, tels que les lipides, les protéines et l'ADN cellulaire en augmentant les mutations, et de conduire à la mort cellulaire par stress oxydatif (Ré *et al.*, 2005).

Une alimentation riche en antioxydants est potentiellement suffisante pour empêcher la libération des radicaux libres. Les antioxydants sont présents naturellement dans les fruits, légumes, plantes médicinales et le miel puisqu'il est élaboré à partir des plantes. Les pri

ncipaux agents antioxydants du miel sont :

- Les antioxydants primaires ou antiradicalaires : capables de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH), anion superoxyde (O_2^-) et radicaux peroxylipidiques ; il s'agit principalement les composés phénoliques.

- Les antioxydants secondaires ou préventifs : La vitamine E est le principal antioxydant liposoluble, responsable de la détoxification des radicaux peroxydes et alkoxydes et donc dans la prévention des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique. Comme autres antioxydants liposolubles on peut citer l'ubiquinol (coenzyme Q), les caroténoïdes et la

vitamine A, les flavonoïdes. La composition phénolique des différents miels a été définie par [David *et al.*, \(2011\)](#) par la méthode HPLC (chromatographie liquide à haute performance) et par électrophorèse capillaire (CE) avec des techniques de détection par barrette de diodes (DAD) (voir [tableau 03](#)). La vitamine C ou acide ascorbique est un piègeur d'ERO à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxyle et superoxyde ainsi que contre le peroxyde d'azote ([Ré *et al.*, 2005](#)). Plusieurs composés enzymatique et non enzymatique interviennent dans l'activité antioxydante du miel notamment la glucose oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les acides phénoliques, les dérivés de caroténoïdes, les acides organiques, des protéines et les flavonoïdes. Les variations des activités antioxydantes des miels sont en fonction du caractère quantitatif et qualitatif de leur contenu phénolique ([Aljadi *et Kamaruddin*, 2004](#)). La composition de l'activité antioxydante du miel dépend de la source florale et de l'environnement (voir [tableau 03](#)), il a été démontré une corrélation entre le profil des flavonoides et l'origine florale ([Yao *et al.*, 2004](#)) cité par ([Marghitas, 2009](#)). Les oligo-éléments tels que le sélénium (Se) et le zinc (Zn) jouent eux aussi un rôle important dans l'équilibre prooxydant-antioxydant. Ils ont un fort pouvoir antiradicalaire et interviennent au niveau du fonctionnement des enzymes qui préviennent le photovieillissement ([Rigal, 2012](#)).

Tableau 03 : composés phénoliques des miels et leurs méthodes d'identification ([David *et al.*, 2011](#))

Type du miel	Technique	Composés phénoliques identifiés
Eucalyptus, bruyère, châtaigne, lavande, tournesol, romarin acacia, orange	HPLC-DAD	L'acide 4-hydroxybenzoïque, acide protocatéchique, acide gallique, acide syringique, acide vanillique, acide férulique, acide caféique, acide p-coumarique
Miel d'eucalyptus (australien)	HPLC-DAD	Acide chlorogénique, acide ellagique, acide gallique, acide caféique, acide p-coumarique, acide férulique
Agrumes, lavande, thym, romarin	CE-DAD	Acide gallique, acide caféique, acide p-coumarique, acide syringique,

Miel d'eucalyptus	HPLC-DAD	acide chlorogénique, acide férulique, acide cinnamique Myricétine, tricetin quercétine, lutéoline éther, quercetine-3-méthyl, Kaempferol, pinocembrin chrysin, pinobanksine genkwanine, isorhamnétine
Miel de romarin	CE-DAD	Kaempferol, chrysin, acide p-coumarique, pinocembrin acide férulique

IV.3. Activité anti-tumorale et anti-inflammatoire

Des études ont montré que l'application de miel sur un site tumoral inhibe d'une façon significative la croissance tumorale chez la souris et certaines cellules cancéreuses *in vitro*. En effet, [Moammed \(2020\)](#) a prouvé que le miel d'acacia possède un effet anti-tumoral contre trois lignées de cellules cancéreuses humaines *in vitro* (foie, sein, colon), alors qu'aucun essai clinique chez l'homme n'a confirmé ce potentiel d'action anti-cancéreux ([Bogdanov et al., 2008](#)).

Les polyphénols sont connus par ses propriétés chimiopréventives, il a été démontré que le miel avec une charge phénolique plus élevée, est plus puissant pour inhiber la prolifération des cellules cancéreuses ([Jaganathan et Mandal, 2009](#)). Divers polyphénols présents dans le miel ont été singulièrement étudiés pour leurs mécanismes d'action sur des modèles de cancer, y compris l'acide caféique, les dérivés de l'acide caféoylquinique, acide rosmarinique et ses dérivés, acide ellagique, ainsi que les flavonoides : chrysin, luéoline, acacétine, fisétine, myricétine, wogonine, apigénine, hespéridine, galangine, quercétine, kaempférol, la pinobanksine et la pinocembrine ([Jaganathan et Mandal, 2009](#); [Abubakar et al., 2012](#)).

Lors de l'application du miel sur les plaies, on observe une diminution remarquable de l'inflammation avec atténuation de l'œdème et disparition d'exsudat. Concernant la douleur, une autre composante de l'inflammation peut aussi être diminuée par le miel ([Viuda-Martos., et al 2008](#)). Le mécanisme supposé serait une action sur la production de radicaux libres agissant sur les tissus inflammés.

Sur le plan histologique, des biopsies de blessures d'animaux sans infection, moins de leucocytes associés à l'inflammation ont été observés lors de l'application du miel sur une plaie (Molan, 2001). L'action anti-inflammatoire du miel joue un rôle thérapeutique important. L'inflammation peut devenir délétère et empêcher la guérison lorsqu'elle est excessive et prolongée, surtout avec la production de radicaux libres dans les tissus. Même si les antioxydants n'agissent pas directement sur l'inflammation, mais ils éliminent les radicaux libres et évitent leurs effets néfastes (Bergman *et al.*, 1983 ; Burdon, 1995).

En plus d'élimination des radicaux libres formés, le miel possède une activité antioxydante par le biais du peroxyde d'hydrogène, qui génère la séquestration des ions métalliques, tels le fer et le cuivre, et constitue un important système antioxydant (Benhanifia, 2011).

IV.4. Activité immunomodulatrice

En plus de son activité antibactérienne directe, le miel permet de combattre l'infection en stimulant le système immunitaire. Il a été, également, rapporté que la multiplication des lymphocytes T et lymphocytes B en culture est stimulée en présence de miel (Abuharfeil *et al.*, 1999). Il active aussi les polynucléaires neutrophiles et il a également été rapporté que la stimulation des monocytes en culture libère les cytokines TNF- α , interleukine IL-1 et IL-6 impliquées comme messagers cellulaires activant la réponse immunitaire face à l'infection (Bergman *et al.*, 1983).

L'acidité du miel favorise l'action antibactérienne des macrophages comme elles sont des vacuoles de phagocytose impliquées dans la destruction des bactéries ingérées, car elles ont un pH acide (Boukraà *et al.*, 2010). Les sucres fermentescibles du miel puissent stimuler le système immunitaire (Tonks *et al.*, 2007).

Mehdi *et al.* (2016) confirment la vertu thérapeutique attribuée par le miel de la région de Tiaret qui s'est traduit par une manifestation suppressive sur le plan humoral de la réponse immunitaire des souris soumis sous allergène, cela ouvre une perspective intéressante dans le domaine clinique, car les agents immunosuppresseurs jouent un rôle important dans le greffe des organes et les maladies du système immunitaire.

IV.5. Activité antidiabétique

Il a été démontré que le miel est capable de réduire la glycémie dans des modèles animaux et chez les patients présentant une intolérance au glucose ou au diabète. Le fructose est un agent antidiabétique potentiel tandis que la présence dans le miel d'un mélange équilibré de

fructose et de glucose pourrait jouer un rôle supplémentaire dans ce genre d'effet puisque les deux sucres sont connus pour agir en synergie dans le métabolisme glucidique hépatique (Erejuwa, 2012). L'administration du miel chez les rats provoque une augmentation significative du taux de cholestérol HDL et une réduction des triglycérides et du cholestérol LDL (Yaghoobi, 2008). La combinaison de metformine et de miel a entraîné des réductions supplémentaires des triglycérides, du cholestérol total et du LDL, tandis que le cholestérol HDL a été augmenté chez les rats diabétiques (Erejuwa, 2011).

IV.6. Apithérapie et miel médical

Vient des mots grec « *Apis* » pour abeille et « *therapia* » veut dire la cure ou le soin, est une discipline qui consiste à utiliser les produits récoltés, transformés ou sécrétés par l'abeille (miel, propolis, pollen, gelée royale, cire et même le venin) pour leurs bienfaits sur notre santé et notre bien être. L'apithérapie est utilisée depuis l'antiquité dans de nombreuses cultures et communautés, et maintenant fait l'objet de nombreux travaux dans le monde entier.

IV.6.1. Miel médical

En médecine douce le miel agit en prévention et permet de soigner les pathologies en stimulant l'organisme. Le miel est le plus utilisé en apithérapie, vue ses vertus thérapeutiques et il est considéré comme un « alicament ». Le miel médical doit répondre à certains critères : une composition et qualité constante, sans contaminants surtout pas bactériologique, une bonne capacité d'inhibition des germes rencontrés en milieu hospitalier et un potentiel de cicatrisation. Pour assurer le bon fonctionnement des principes actifs du miel, il doit être frais et non chauffé. Cependant, les miels commercialisés sont souvent stockés avant d'être consommés. Le miel médical n'est pas un miel ordinaire, il doit être standardisé par la charte établie par l'association européenne de l'apithérapie. Le contrôle du miel destiné à des fins médicales est effectué durant toutes les étapes de l'élevage, de la production et du conditionnement.

Pour éviter la contamination chimique, les ruchers sont placés dans des zones géographiques préservées, et les exigences en matière de qualité bactériologique préconisent que la totalité des germes ne doivent pas dépasser 50 unités formant colonies (UFC) par grammes. Le non respect des dispositions de la charte entraînera, l'interdiction définitive de produire du miel à vocation thérapeutique (Clémence, 2005).

IV.6.2. Conditionnement du miel médical

Plusieurs laboratoires commercialisent des tubes de miels stériles ou produits dérivés du miel à des fins thérapeutiques. Ces miels sont conservés dans des tubes en aluminium afin de les protéger de la lumière et de maintenir autant que possible une température constante ou variant moins à l'intérieur du tube, limitant donc la perte de ses propriétés (Fanny, 2015).

IV.6.3. Contre-indications et précautions d'emploi

Peu de contre-indications retrouvées à l'utilisation du miel, l'ingestion est formellement contre-indiquée chez le nourrisson de moins de 12 mois en raison du risque de *Clostridium botulinum*, tout risque potentiel pour la santé du aux spores de *Clostridium Botulinum* peut être éliminé par une irradiation du miel aux rayons gamma sans perte de son activité antibactérienne (King *et al.*, 2010).

Les patients allergiques aux miels ou au pollen doivent être prévenus d'une possible réaction, même si les cas d'allergies rapportés sont très rares (Fanny, 2015).

L'utilisation thérapeutique du miel médical est devenue courante dans les établissements hospitalière par exemple en France, entre cinq et six services du CHU de limoges commandent régulièrement du miel et notamment la réanimation (Clémence, 2005).

IV.6.4. Usages externes

IV.6.4.1. Applications sur la peau et les muqueuses

Des études antérieures décrivent les effets positifs du miel sur la guérison des plaies, il peut être utilisé comme excellente thérapie d'appoint pour les patients postopératoires (Norhafiza, 2013). Van der Weyden (2003) a montré une guérison rapide et complète des plaies, il a constaté aussi l'efficacité du miel pour soigner des escarres, l'une située à la cheville l'autre concernant la région sacrée chez deux de ses patients. De plus, il a souligné les effets désodorisant et anti-inflammatoire du miel ainsi qu'une atténuation de la douleur. Lorsque le miel est comparé à la sulfadiazine argentique (SSD), le pansement au miel améliore la cicatrisation des brûlures, rend la plaie stérile en moins de temps, donne des meilleurs résultats en termes de prévention de cicatrisation hypertrophique et des contractures

post-brulures et diminue le besoin de débridement quel que soit le moment d'admission (Baghel *et al.*, 2009).

La plus part des patients sous radiothérapie et chimiothérapie développent une mucite, limitant ou empêchant l'alimentation per os. Le miel semble très efficace en terme de guérison des mucites induites par chimiothérapie (Abdulrhman *et al.*, 2012). Il est recommandé d'administrer le miel avant et après la radiothérapie, et au coucher (Fanny, 2015).

IV.6.4.2. En ophtalmologie

L'application du miel est un promoteur alternatif dans le domaine d'ophtalmologie. Il a été prouvé que le miel réduit les rougeurs et les gonflements de la conjonctive et éradique les infections bactériennes oculaires (Al-waili *et al.*, 2004). Des preuves montrent que le miel peut être utile dans le traitement de sécheresse oculaire, œdème cornée postopératoire et kératopathie bulleuse, cependant les preuves scientifiques à l'appui de ces propriétés bénéfiques du miel sont limités (Majtanova *et al.*, 2016).

IV.6.5. Usages internes

IV.6.5.1. Traitement des gastroentérites

Depuis les temps anciens, les gens ont spéculé sur les propriétés curatives du miel. Les anciens égyptiens, azssyriens, chinois, grecs et romains utilisaient tous le miel en combinaison avec d'autres herbes et seul, pour traiter les maladies de l'intestin.(Molan *et al.*, 1998).

En Europe, les gastroentérites sont très majoritairement d'origine virale (*Rotavirus*) ; par contre, dans les pays en voie de développement, ce sont les bactéries (Salmonelles, colibacilles, shigelles) qui sont le plus souvent impliquées (Clémence, 2005). Le miel a été détecté bactéricide pour ces bactéries pathogènes et d'autres organisme à gram négatif.

Le miel est capable d'inhiber la croissance *in vitro* d'*Helicobacter pylori* (Osato *et al.*, 1999 ; Al Somai *et al.*, 1994) qui provoque des gastrites, des ulcères gastriques et des ulcères duodénaux .

IV.6.5.2. Affections respiratoires

L'organisation mondiale de la santé recommande la prise de miel dans le traitement de la toux depuis 2008. [Cohen et al. \(2012\)](#) ont mené une étude avec 300 enfants de 1 à 5 ans souffrant de toux nocturne due au rhume, la moitié recevait, avant le coucher, 10 g de miel alors que l'autre recevait un sirop de datte à la texture et au goût semblables, des paramètres sont évalués par les parents à l'aide de scores, ils notaient, une diminution de la fréquence des quintes et la sévérité de toux et une amélioration de la qualité du sommeil a été plus importante dans le groupe ayant reçu le miel.

L'efficacité s'explique par la composition sucrée du miel, qui provoque un réflexe de salivation qui pourrait induire une sécrétion de mucus au niveau des voies aériennes. Ces sécrétions de mucus peuvent avoir un effet de soulagement sur l'inflammation du larynx et du pharynx (responsables de l'augmentation de la toux, particulièrement de la toux sèche).

La relation anatomique entre les fibres sensibles nerveuses qui initient la toux et les fibres nerveuses gustatives peuvent aider à produire un effet antitussif via le système nerveux central ([Fanny, 2015](#)).

IV.6.5.3. Effet prébiotique

Des oligosaccharides non digestibles sont fournis en tant que substrats prébiotiques fermentescibles pour moduler l'équilibre microbien intestinal en faveur des lactobacilles et des bifidobactéries probiotiques, et aussi améliorer la fonction métabolique de l'hôte. Le miel contient des oligosaccharides qui peuvent être utilisés par les fermenteurs saccharolytiques pour produire des métabolites bénéfiques qui favorisent l'effet prébiotique ([Mohan, 2017](#)).

IV.6.6. Usage vétérinaire du miel

IV.6.6.1. Traitement des mammites chez les bovins

La Mammite est une inflammation du tissu mammaire, causée le plus souvent par une infection bactérienne. La mammite bovine est devenue courante et causant d'énormes pertes à l'industrie laitière. Le traitement habituel est basé sur l'antibiothérapie mais cette dernière présente des inconvénients d'une part sur son coût élevé, et d'autre part, le lait ne peut être commercialisé avant la disparition de toute trace d'antibiotique.

Il a été montré que le miel inhibe la croissance *in vitro* des bactéries les plus fréquemment impliqués dans les mammites comme suit : *Actinomyces pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*,

Streptococcus aqalaciiae, *Streptococcus dysagalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans*, *Enterobacter*, *E. coli*.

L'utilisation du miel présente un double avantage: le coût du traitement est relativement faible et le lait n'est pas "pollué" comme avec les antibiotiques. Le miel apparaît donc comme une alternative intéressante à l'antibiothérapie pour traiter les mammites (Clémence, 2005).

Dans une étude préliminaire, L'efficacité du miel s'est avéré l'une des nouvelles thérapies alternatives pour traiter les mammites subcliniques bovines due au *Pseudomonas aerogenosa* et *Staphylococcus aureus*. D'autres études pourraient élucider la sensibilité des microorganismes pathogènes impliqués dans les mammites bovines cliniques et subcliniques, ainsi la dynamique et la perfusion du miel dans la glande mammaire (Benhanifia, 2019).

IV.6.7. Intérêts

IV.6.7.1 .Disponibilité et facilité de conservation et d'utilisation

La pratique de l'apiculture est possible dans toutes les régions du globe à l'exception des zones polaires. L'élevage est simple, maintenu durant toute l'année et ne nécessite ni un niveau scolaire déterminé (une formation aux techniques d'apiculture est suffisante pour gérer un rucher), ni un équipement coûteux mais nécessite par contre une surveillance de l'état de la ruche et de l'abondance des ressources florales mellifères. Le miel est une denrée qui se conserve bien si elle a été extraite dans de bonnes conditions d'hygiène, ces dernières permettent d'obtenir un miel dépourvu de toute contamination microbienne.

Enfin, l'utilisation thérapeutique, ne nécessite ni transformation ni addition, et son administration est facile soit par voie orale ou par application topique. Toutes ces qualités font du miel un produit utilisable partout, par tous et pour tous.

IV.6.7.2. Coût

A l'heure actuelle les économies en matière de santé ont pris l'attention des autorités un peu partout dans le monde, cet aspect joue indéniablement en faveur d'utilisation thérapeutique du miel.

Il faut souligner la cherté des antibiotiques, sans oublier les pertes économiques en termes de délais d'attente en élevage bovin (viandes rouge et lait). Le miel semble être un alternatif moins coûteux et peu onéreux.

IV.6.7.3. Innocuité

Le miel présente très peu d'effets indésirables. Il peut être administré chez tous les patients quel que soit leur âge sauf chez l'enfant moins d'un an (risque de botulisme). Chez les sujets diabétiques présentant une glycémie non contrôlée, la surveillance glycémique devra être renforcée. Il est important de mettre en évidence qu'il n'existe aucune interaction entre le miel et les médicaments

Chapitre V. Miel et bactéries lactiques

V.1. Microorganismes du miel

Le miel est utilisé depuis la plus haute antiquité comme produit thérapeutique dont la propriété la plus réputée est l'activité antibactérienne, cette dernière est due de sa composition chimique qui le rend efficace contre les microorganismes. A propos de sa composition détaillée dans chapitre III, peu de microorganismes ont la capacité de se développer ou de rester dans le miel. Ces microorganismes sont issus de sources primaires ou secondaires. Sources primaires : constituent les principales sources sont liées au tube digestif qui sont des microorganismes naturels et des sources de collecte tels que nectar, pollen, propolis, l'environnement naturel à l'intérieur de la ruche.

Sources secondaires : issues de l'incorporation des microorganismes après la récolte (Olaitan, 2007). Parmi les bactéries pathogènes qui résident dans le miel on peut citer *Bacillus sp* et *Clostridium Botulinum*. Cette dernière a été à peine détectée dans le miel ; cependant avec des techniques moléculaires comme la PCR, la détection était plus précise, elle pénètre dans la ruche par l'eau contaminée ou par même par contact direct du produit avec le sol. Elle est responsable du boutilisme chez l'homme, en particulier chez les enfants (Poormontaseri *et al.*, 2014).

Les agents pathogènes du genre *Bacillus* appartient au groupe *Bacillus cereus*. Cet microorganisme est un producteur d'entérotoxines à un pH de 6,0 à 8,0 et à une température allant de 10°C à 21°C mais il est nécessaire de consommer 10⁷ cellules/mL pour obtenir la toxicité (Jay *et al.*, 2005).

Durant la production de miel, les abeilles ingèrent du nectar et le transforment en miel à l'aide d'enzymes et ils incorporent lors de régurgitation certains microorganismes symbiotes associés au tractus gastro-intestinal qui peuvent être bénéfiques pour la santé humaine (Endo *et al.*, 2013).

La flore bactérienne associée à l'abeille domestique *A. mellifera* est complexe et elle a été décrite comme étant principalement composé de levures, de bactéries Gram-positives (tels que *Lactobacillus rigidus apis*, *S. constellatus*, *Bacillus spp*, *Streptococcus* et *Clostridium*), et Bactéries à Gram négatif (*Achromobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*

coli, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Pseudomonas*) (Rousseau *et al.*, 1969 ; Mohr *et al.*, 2006).

Gilliam (1997) a rapporté que ces bactéries pourraient être endémiques du tube digestif des abeilles adultes et indépendantes des saisons et des facteurs nutritionnels. Elles sont différentes en fonction des sources de nectar et la présence d'autres genres bactériens dans l'estomac de l'abeille. En plus du microbiote dans l'intestin, une nouvelle flore bactérienne lactique composée de 13 espèces de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* bien définies sur le plan taxonomique a été découverte dans la culture des abeilles. (Olofsson *et al.*, 2008 et 2014)

D'après Endo *et al.* (2013), les abeilles sont des sources riches en bactéries lactiques frutophiles, principalement *L.kunkeei* : cette espèce se trouve principalement dans les produits apicoles et en larves.

Des recherches effectuées avec des miels de différentes sources florales ont montré la présence des champignons de différentes espèces tels que : *Alternaria alternana*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus proliferans*, *Aspergillus spelunceus*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Daldinia concentrica*, *Emericella discophora*, *Emericella qinqixianii*, *Penicillium concentrica*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium polonicum* et *Penicillium echinulatum* dont *P. corylophilum* et *A. niger* les plus fréquents, mais en faible quantité, indiquant la capacité de la multiplication de ces champignons dans le miel (Sinacori *et al.*, 2014).

V.2. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale (Dortu *et al.*, 2009). Ce sont des bactéries à Gram positif et oxydase négative, utilisant les hydrates de carbone comme sources d'énergie, tolérant des pH acides, de niches écologiques anaérobies ou anaérobies facultatives et se montrant catalase négative. L'oxygène peut parfois leur être substrat, mais conduit au peroxyde d'hydrogène qui leur est toxique. Certaines souches possèdent un superoxyde dismutase à manganèse permettant l'élimination des radicaux libres oxygène.

Les bactéries lactiques exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple. La fraction azotée non protéique du lait est en fait une source importante d'azote pour les bactéries lactiques. Des phénomènes de transport de différents peptides ont aussi été mis en évidence, les protéines du lait sont utilisées grâce à des protéinases liées à la paroi sous l'influence des ions calcium. D'autre part, elles possèdent un riche équipement en aminopeptidases liées aux membranes et en protéinases et en diverses exopeptidases intracellulaires. Enfin, les bactéries lactiques exigent un certain nombre de vitamines, de bases azotées et de minéraux. Dans certains cas, le gaz carbonique serait essentiel pour leur croissance (Desmazeaud, 1983).

Les bactéries lactiques possèdent des propriétés intéressantes non seulement pour l'industrie alimentaire mais aussi pour leurs bénéfices sur la santé (Naido *et al.*, 1999). En effet, elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (Stiles *et al.*, 1997), ce qui a permis à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe) (Klaenhammer *et al.*, 2005). Actuellement, les bactéries lactiques se regroupent en treize genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (Dortu *et al.*, 2009).

V.3. Intérêts des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques provenant de différentes sources sont connues pour produire différents composés, qui ont la capacité d'inhiber la croissance des bactéries de champignons (Muhialdin *et al.*, 2011). En effet, elles produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens inhibant la croissance de bactéries altérantes ou pathogènes. Les souches productrices peuvent donc également être utilisées dans des produits non fermentés en tant que culture protectrice. Une culture protectrice est une culture antagoniste ajoutée à un produit alimentaire pour inhiber les bactéries pathogènes et/ou altérantes et ainsi prolonger sa durée de vie en changeant ses propriétés organoleptiques le moins possible (Rodgers, 2001 ; 2003 ; Vermeiren *et al.*, 2004). Ce qui a conduit à utiliser les bactéries lactiques en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où elles permettent de développer certaines

caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation (Abee, 1995 ; Hugenholtz *et al.*, 1999).

L'utilisation abusive d'antibiotiques comme chimiothérapie antimicrobienne a été l'une des principales raisons de diminution de l'espérance de vie moyenne. Cependant, les microbes qui sont devenus résistants à l'antibiothérapie causent un problème de santé publique dans le monde (Hsueh *et al.*, 2005). Pour lutter contre la résistance bactérienne, des suppléments et remèdes naturels ont été étudiés largement en termes de propriétés antimicrobiennes potentielles afin des les utilisés comme thérapeutiques alternatifs (Mandal *et al.*, 2010). Parmi ces thérapeutiques alternatifs utilisés récemment les probiotiques. Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, ils confèrent un effet bénéfique sur l'hôte (FAO et OMS, 2008). Ils ont été largement étudiés comme une nouvelle approche pour prévenir les infections chez les animaux, surtout dans le tractus gastro-intestinal et vaginal (Otero et Nader-Mcias., 2007 ; Walsh *et al.*, 2008). L'effet bénéfique des probiotiques sur la santé de l'hôte se consacre sur différents mécanismes tels que : adhésion à l'épithélium cellulaire, formation de biofilm, colonisation, production de biotensioactifs, agrégation et co-agrégation, compétition pour les nutriments, modulation des enzymes et/ ou du système immunitaire et production de métabolites antagonistes comme les bactériocines, peroxydes d'hydrogènes, acides organiques (voir figure 20)

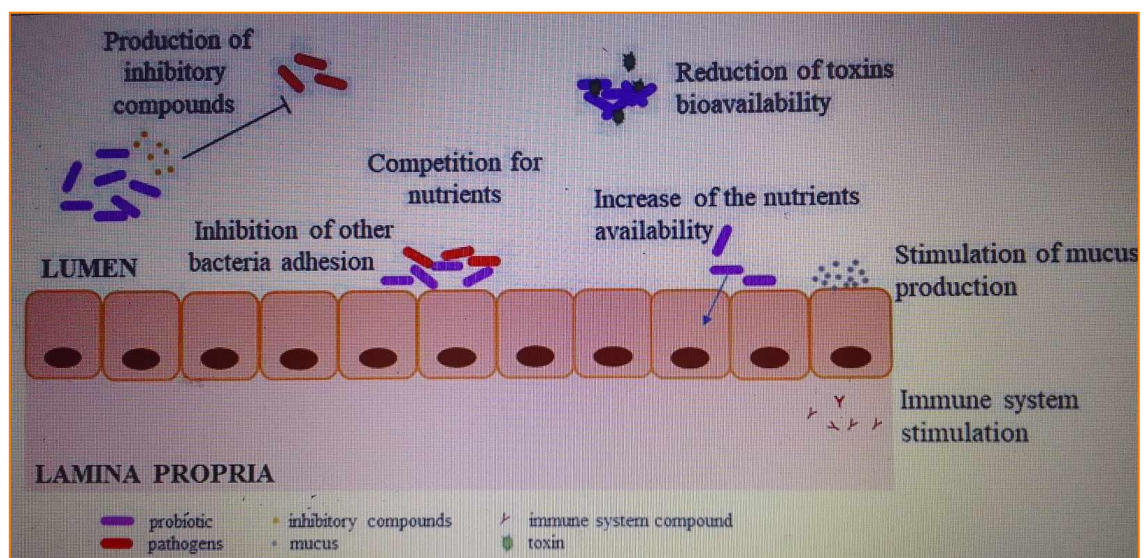


Figure 20 : mécanisme d'inhibition des pathogènes par les bactéries lactiques

Des études précédentes ont étudiés les propriétés probiotiques des bactéries lactiques en particulier les espèces de *Lactobacillus* en vue d'évaluer leurs effets bénéfiques sur la santé animale, [Frola et al. \(2012\)](#) ont montré la capacité d'adhésion de deux souches de *Lactobacillus* (*Lactobacillus prozens* CRL 1724 et *Lactobacillus plantarum* CRL 1716) à l'épithélium du canal mammaire et ses actions préventives contre la mammite bovine.

V.4. Rôle des bactéries lactique dans le miel

Les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* se trouvent dans les colonies d'abeilles ([Ngalimat et al., 2020](#)). Au moins 45 espèces de bactéries lactiques ont été isolées et identifiées à partir des abeilles et des produits apicoles et même des sources florales tels que pollen et nectar. *Lactobacillus* était le genre le plus fréquent dans la ruche, et constitue 90% de la totalité des bactéries lactiques dans le miel, 74% dans le pollen, 83.9% dans le pain d'abeille et 93% dans la gelée royale ([Asama et al., 2015](#)).

Certaines bactéries lactiques comme *Lactobacillus kunkeei* et *fructobacillus fructosus* sont des composants microbiens du tractus intestinal de l'abeille et se trouvent également dans les fleurs ([Endo et Salminen, 2013](#)). Le nectar stocké dans l'estomac de l'abeille est régurgité dans les rayons de la ruche dont la température de 35°C, qui correspond à la température optimale pour le développement des bactéries lactiques ([Jones, 2004](#)). Des études ont confirmés la présence de *Gluconobacter* et *Lactobacillus* dans les miels en cours de maturation ([Ruiz et Rodriguez, 1975](#)). Il a été suggéré qu'il ya une transmission verticale des LAB ([Mc Frederick et al ., 2012](#)).

Des études ont montré que les bactéries lactiques jouent un rôle clé dans la conversion du nectar en miel et du pollen en pain d'abeille en raison de leurs propriétés de fermentation. ([Olofsson et al., 2008](#) ; [Vasquez et al., 2009](#)). La présence de *Lactobacillus acidophilus* dans le miel a émis l'hypothèse que certains propriétés bénéfiques du miel sont dues à ces bactéries lactiques ([Aween et al., 2012](#)). Elles ont des rôles majeurs dans la protection contre les agents pathogènes ([Forsgren et al., 2010](#) ; [Vasquez et al., 2012](#)) et contribuent aux propriétés antibactériens du miel ([Olofsson et al., 2014](#)).

Partie II :
Etude expérimentale

Chapitre I : Objectifs

I. Objectifs

Cette étude fait partie des travaux de recherche du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, de l'Université de Mostaganem.

L'objectif principal de cette recherche est la caractérisation et valorisation des miels de la région de Mostaganem.

Un aperçu sur la situation de la filière apicole dans la wilaya de Mostaganem est nécessaire pour fournir des données précieuses de l'apiculture et un diagnostic de son état actuel par une enquête de terrain.

Les miels algériens portent des noms attribués par les apiculteurs mais ce nom doit être authentique, donc une analyse palynologique est nécessaire pour déterminer les spectres polliniques des miels et l'évaluation de la diversité mellifère qui se trouve dans différentes régions dans la wilaya de Mostaganem.

Dans le but d'évaluer la qualité et d'éviter la falsification des miels une caractérisation physicochimique a été également étudiée (teneur en eau, pH, conductivité électrique, teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF), taux et composition en sucres et couleur).

En vue de déterminer la qualité biologique une partie de notre recherche vise à évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des miels contre des souches bactériennes pathogènes.

Le quatrième volet est une contribution à l'étude microbiologique des miels frais dont l'objectif principal est l'isolement des bactéries lactiques et l'évaluation de leur activité antibactérienne contre des souches bactériennes pathogènes responsables de mammite subclinique bovine.

Chapitre II. Présentation de la zone d'étude

II.Présentation de la zone d'étude

Notre étude a été menée au niveau de la wilaya de Mostaganem située au Nord-Ouest de l'Algérie ($35^{\circ} 55'59.999''$ N $0^{\circ} 4' 59.999''$ E). Elle dispose d'un littoral maritime de 124km délimitée au nord par la Méditerranée, à l'Ouest par la wilaya d'Oran, à l'est par la wilaya de Chlef et au sud par les wilayas de Mascara et Relizane. (voir [figure 21](#)).



Figure 21 : représentation géographique de la wilaya de Mostaganem

Mostaganem se divise en quatre unités morphologiques appartenant à deux régions distinctes, le Plateau de Mostaganem et le Dahra.

Les vallées basses de l'Ouest englobent les communes : Hassi Mameche, Mazagran, Stidia, Ain Nouissy, El Hassiane et Fornaka.

Les monts du Dahra englobent les communes : Sidi Belattar, Oued El Kheir, Sidi Ali, Ouled Maallah, Tazgait, Nekmaria, Kheireddine, Ain Boudinar et Safsaf.

Le centre de la wilaya de Mostaganem englobe les communes suivantes : Mostaganem, Ain Tedles, Sour, Bouguirat, Sirat, Souafia, Mesra, Ain Sidi Cherif, Mansoura, Touahria et Sayada.

Les vallées de l'Est englobent les communes : Achaacha, Khadra, Ouled Boughalem, Sidi Lakhdar, Hadjadj, Abdelmaalek Ramdane. (voir [figure 22](#)).

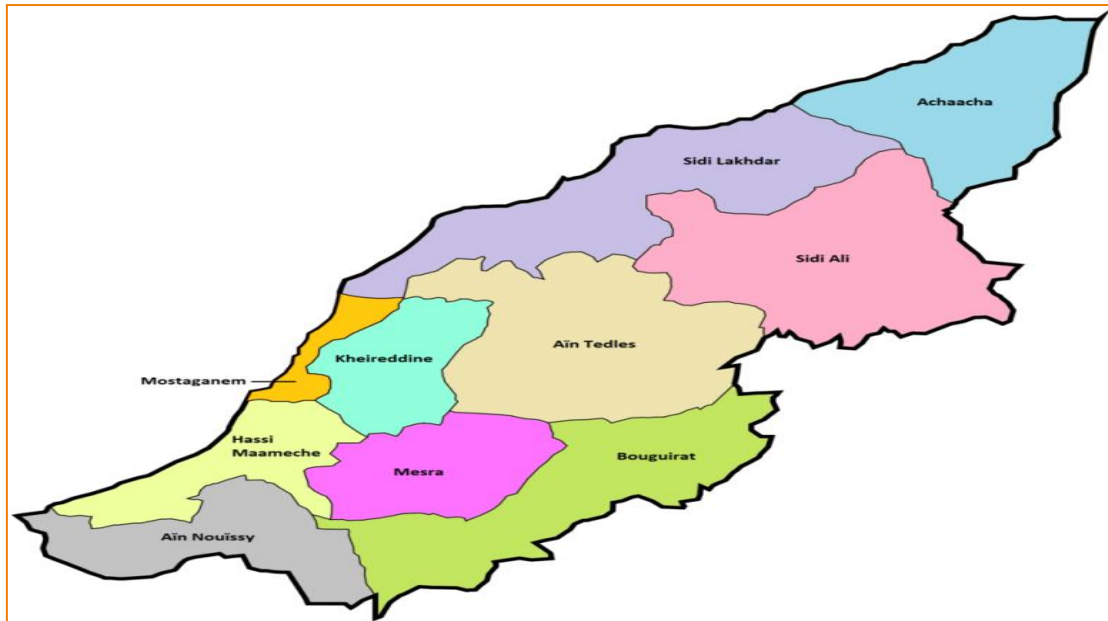


Figure 22 : communes de la wilaya de Mostaganem

Le climat de la wilaya est dominé par un climat méditerranéen chaud en été et pluvieux et froid en hiver. La région de Mostaganem s'intègre dans l'étage bioclimatique semi aride à variante fraîche ;

La surface agricole totale de la wilaya est de 177,310 ha dont 132,268 ha est représenté par la surface agricole utile. Les fourrages, le maraichage, les légumes secs, les agrumes représentent les principales activités de la région. Les agrumes sont très appréciés par les abeilles ; la figure 23 montre la production de cette dernière dans les différentes régions de la wilaya de Mostaganem.

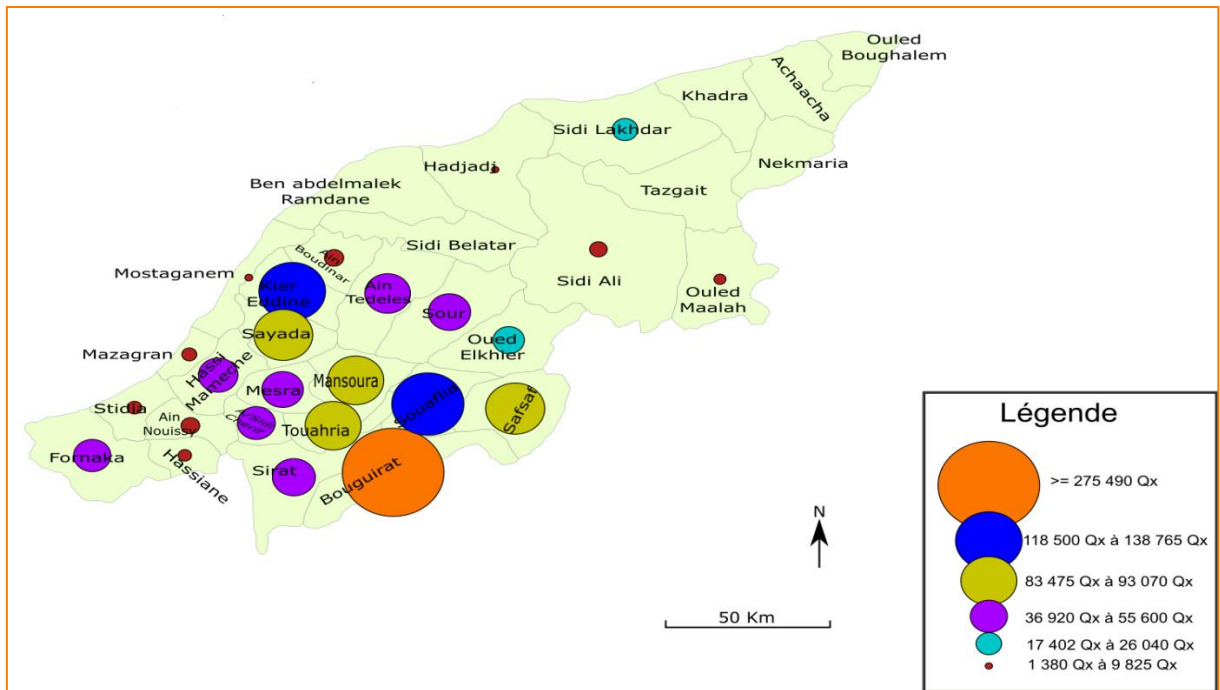


Figure 23 : production des agrumes dans la wilaya de Mostaganem (DSA, 2019).

Les terres forestières (forêts, maquis et reboisement) occupent une superficie de 27 451Ha (DGF, 2022). Les espèces forestières qui se trouvent : l'*Eucalyptus*, les genévriers, les pins et le *Casuarina*. (voir figure 24).

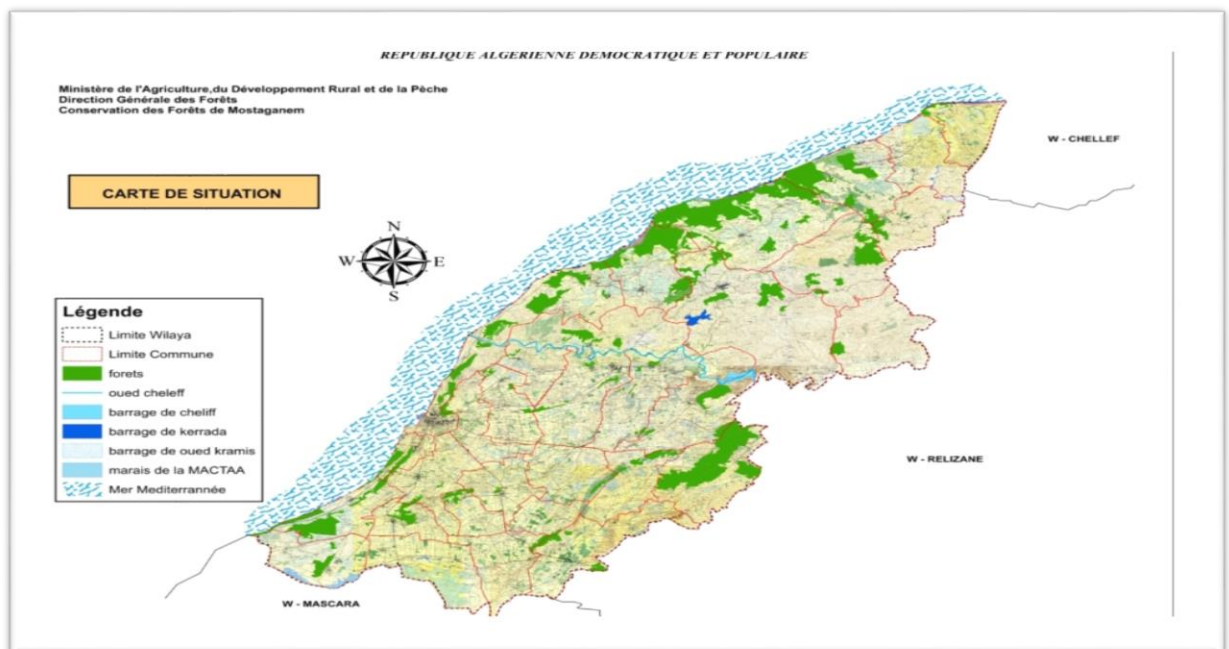


Figure 24 : répartition des forêts dans la wilaya de Mostaganem, photo délivré par (DGF)

Chapitre III : Matériel et méthodes

III. Matériels et méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Echantillonnage

Soixante quinze (75) échantillons de miels ont été récoltés auprès des apiculteurs selon la disponibilité, dans les heures qui suivent la récolte durant la période qui s'étend du mois de Mai à Octobre 2019. (voir [tableau 04](#)). Les échantillons des miels ont été stockés dans des pots stériles et conservés au frigo.

Tableau 04 : identification des échantillons des miels.

Région	localité	Miel code	Saison et année de récolte	Mode d'extraction
Mostaganem (n=24)	Mesra	E1	Printemps/2019	Centrifugé
	Sidi Flellag	E2	Printemps/2019	Centrifugé
	Mesra	E3	Printemps/2019	Centrifugé
	Souaflia	E4	Printemps/2019	Centrifugé
	Ain tedles	E5	Printemps/2019	Centrifugé
	Mansoura	E6	Printemps/2019	Centrifugé
	Mesra	E7	Printemps/2019	Centrifugé
	Bouguirat	E9	Printemps/2019	Centrifugé
	Sirat	E10	Printemps/2019	Centrifugé
	Touahria	E11	Printemps/2019	Centrifugé
	Sidi Fellagu	E12	Printemps/2019	Centrifugé
	Ain Tedles	E13	Printemps/2019	Centrifugé
	Mansoura	E16	Printemps/2019	Centrifugé
	Sirat	E31	Eté/2019	Centrifugé
	Sirat	E32	Eté/2019	Centrifugé
Bouguirat	E37	Printemps/2019	Centrifugé	

Est (n= 23)	Bougirat	E38	Printemps/2 019	Centrifugé
	Mozaya	E46	Eté/2019	Centrifugé
	Mozaya	E47	Eté/2019	Centrifugé
	Mozaya	E48	Eté/2019	Centrifugé
	Mozaya	E49	Eté/2019	Centrifugé
	Souafli	E51	Eté/2019	Centrifugé
	Souafli	E69	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E20	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E21	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E33	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E34	Eté/2019	Centrifugé
	Khadra	E39	Eté/2019	Centrifugé
	Khadra	E40	Eté/2019	Centrifugé
	Ben Abd Malek Ramdane	E41	Eté/2019	Centrifugé
	Khadra	E42	Eté/2019	Centrifugé
	Khadra	E43	Eté/2019	Centrifugé
	Khadra	E44	Eté/2019	Centrifugé
	Ouled Boughalem	E45	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Lakhdar	E57	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E58	Eté/2019	Centrifugé
	Ben Agd Malek Ramdane	E59	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E62	Eté/2019	Centrifugé
	Hadjadj	E63	Eté/2019	Centrifugé
Hadjadj	E64	Eté/2019	Centrifugé	
Hadjadj	E66	Eté/2019	Centrifugé	
Sidi Lakhdar	E67	Eté/2019	Centrifugé	
Hadjadj	E25	Eté/2019	Centrifugé	
Khadra	E70	Eté/2019	Centrifugé	
Khadra	E72	Eté/2019	Centrifugé	
Achaacha	E75	Eté/2019	Centrifugé	
Ouest (n = 2)	Mazagran	E28	Eté/2019	Centrifugé
	Mazagran	E29	Eté/2019	Pressé
Dahra (n= 26)	Sidi Ali	E73	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E74	Eté/2019	Centrifugé
	Ouled maallah	E8	Printemps/2 019	Centrifugé
	Hchachta	E14	Printemps/2 019	Centrifugé
	Sidi Ali	E15	Printemps/2 019	Centrifugé
	Hchachta	E17	Printemps/2 019	Centrifugé
	Ouled Maallah	E18	Printemps/2 019	Centrifugé
	Tazgait	E19	Printemps/2	Centrifugé

			019	
	Tazgait	E22	Eté/2019	Centrifugé
	Hchachta	E23	Eté/2019	Centrifugé
	Touahria	E24	Printemps/2019	Centrifugé
	Ouled Maallah	E26	Printemps/2019	Centrifugé
	Hchachta	E27	Printemps/2019	Centrifugé
	Tazgait	E30	Printemps/2019	Centrifugé
	Negumaria	E35	Eté/2019	Centrifugé
	Hchachta	E36	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E50	Eté/2019	Centrifugé
	Hchachta	E52	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E53	Eté/2019	Préssé
	Safsaf	E54	Eté/2019	Préssé
	Hchachata	E55	Eté/2019	Centrifugé
	Nekmaria	E56	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E60	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E61	Eté/2019	Centrifugé
	Hchachta	E68	Eté/2019	Centrifugé
	Sidi Ali	E71	Eté/2019	Préssé

III.1.2. Souches bactériennes pathogènes

L'évaluation du pouvoir antibactérien a été réalisée contre quatre souches bactériennes responsables de mammites subcliniques chez la vache laitière (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Staphylococcus Xylosus* et *Staphylococcus Simulans*). Ces bactéries ont été isolées et identifiées par galerie *API20* et galerie *Staph* au niveau de laboratoire des sciences et technologies de production animale, de l'université de Mostaganem.

III.1.3. Milieux de cultures utilisées

Les milieux utilisés en bactériologies étaient, MRS (Man Rogosa and sharp), MRS supplémenté de bicarbonate de sodium (CaCO_3), MRS supplémenté de 0,1% de Cystéine et 2% fructose et le milieu Rogosa pour l'isolement des bactéries lactiques à partir des miels, la gélose nutritive pour revivication et purification des souches bactériennes pathogènes et l'évaluation de l'activité antibactérienne des miels et la gélose Muller Hinton (MH) pour la mise en évidence de l'antibiogramme de quatre souches bactériennes responsable de mammite bovine.

III.2. Méthodes

III.2.1. Situation de la filière apicole dans la région de Mostaganem

Une enquête a été menée auprès des apiculteurs de la wilaya de Mostaganem (80 apiculteurs) par un questionnaire durant les mois de Mai à Octobre 2019. L'enquête a été conçue en particulier pour collecter des données sur les pratiques apicoles Algériennes et les productions. Un entretien a été fait avec l'apiculteur lui-même, seulement 03 apiculteurs ont accepté de visiter leurs ruchers.

Le questionnaire de notre enquête aborde quatre volets :

- Le premier volet : vise à identifier l'apiculteur (l'âge, sexe, l'ancienneté dans la filière, la formation, l'intégration aux structures, participation aux séminaires).

- Le deuxième volet : il s'intéresse à la conduite de rucher et à déterminer les pratiques apicoles.

- Le troisième volet : se consacre sur les différentes productions et leurs commercialisations.

- Le quatrième volet : concerne les contraintes de la filière.

III.2.2. Analyses polliniques des miels (mélissopalynologie)

La mélissopalynologie consiste à observer sous microscope d'un sédiment obtenu après centrifugation d'une solution de miel à fin de séparer les grains de pollen de la matière qui les entoure (Louveaux *et al.*, 1978).

Deux types d'analyses polliniques ont été réalisés au niveau de laboratoire :

- L'analyse pollinique quantitative consiste à quantifier les grains de pollen présents dans chaque échantillon de miel.

- L'analyse pollinique qualitative consiste à l'identification des pollens présents dans l'échantillon au niveau de l'espèce, de genre ou du type à fin de déterminer l'origine botanique ou géographique des miels.

III.2.2.1. Analyse quantitative

Dix 10g de miel prélevé d'un échantillon bien homogénéisé a été dissout dans 30 ml de l'eau distillé puis centrifugé à 3500tr/min pendant dix minutes après le surnageant est éliminé et le culot est conservé. Ensuite ce culot est mis en suspension dans 30 ml de l'eau distillée

puis centrifugé encore une fois à 3500tr/min pendant dix minutes. Le surnageant est jeté, à l'aide de micropipette 10µl de culot homogénéisé est transféré et déposé en double sur une lame étiquetée, le frotti a été séché sur une plaque chauffante.

Après séchage les frottis ont été recouverts par une lamelle sur la quelle une goutte de glycérine-gélatinée colorée avec de la fuchsine a été préalablement déposée. Le comptage de grain de pollen a été effectué à l'aide d'un microscope optique (*OPTIKA*) au grossissement 100×, dès que le comptage a été réalisé dans tous les champs d'observation, le nombre de grains de pollen dans 1g de miel (B) a été calculé comme suit :

$$B = A \times 5\text{ml}/0,01\text{ml} \times X$$

B : Nombre de grains de pollens présent dans 1g de miel ;

A : Nombre de grains de pollens dénombré dans 10 µl de solution de miel ;

X : Quantité de miel en gramme (g) utilisé pour préparer la solution de miel

Les résultats du comptage ont été ensuite présentés sous forme de classe, selon la méthode de [Maurizio \(1975\)](#). (voir [tableau 05](#)).

Tableau 05 : classification de [Maurizio \(1975\)](#)

Classes	Nombre de grain de pollen pour 1 g de miel
I	<2000
II	2000-10000
III	10000-50000
IV	50000-100000
V	>100000

III.2.2.2. Analyse qualitative

Les lames utilisées dans l'analyse qualitative ont préparées selon le même protocole de celles ayant servies à l'analyse quantitative, seulement on prélève à l'aide de micropipette un volume de 100µl de culot homogénéisé et on le dépose en double sur une lame étiquetée.

L'identification des espèces a été réalisé à l'aide de microscope optique (*OPTIKA*) 100× des champs différents ont été observés et la détermination de l'espèce, le genre ou le type a été réalisée par la comparaison avec les grains de pollens des espèces mellifères des

collections de références tels que l'Atlas photographique ainsi que certains ouvrages (Walter *et al.*, 1983 ; Valdés *et al.*, 1987 ; Punt *et al.*, 1988 ; Punt et Blackmore, 1991).

Le type correspond à tous les genres et espèces qui représentent le même type morphologique, les pollens nommés par le genre et l'espèce sont des pollens des espèces végétales connues. Les résultats de comptage de chaque espèce dans un échantillon ont été exprimés sous forme de pourcentage. Zander (1935) regroupe les pollens en classes de fréquence afin de nommer les miels.

-D : Pollens dominant et principaux : représente plus de 45% du total

-A : Pollens d'accompagnement représente 15 à 45% du total

-I : Pollens isolés importants représente de 3% à 15% du total

-R : Pollens isolés rares : représente moins de 3%.

III.2.3. Caractérisation physicochimique

III.2.3.1. Teneur en eau

L'indice de réfraction a été utilisé pour la détermination de la teneur en eau, selon la méthode harmonisée par la commission internationale du miel (Bogdanov, 2002). L'étalonnage a été effectué par une goutte d'eau distillée à 20°C, après une goutte de miel liquifié et bien homogénéisé a été prélevée et étalée sur la platine du prisme du réfractomètre type (KRUSS) et la valeur de réfraction a été notée à 20°C. Les résultats obtenus ont été traduits en se référant à la table de Chataway *et al.* (1932).

III.2.3.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique a été mesurée selon la méthode harmonisée par la commission internationale du miel. Une solution de 20g de matière sèche de miel a été dissoute dans 100ml d'eau distillée puis la cellule de conductimètre a été introduite dans cette solution, la lecture de la conductivité électrique a été effectuée à 20°C. Les résultats ont été exprimés en milli Siemens par centimètre (mS/cm). (Bogdanov, 2002).

III.2.3.2. pH

La détermination du pH a été effectuée en utilisant un pH-mètre type *Inolab pH 7110* avec la même solution préalablement préparée après un calibrage par des solutions tampon de pH 7 et 4.

III.2.3.3. Détermination de la teneur en Hydroxyméthyl-fulfural (HMF)

Le taux d'HMF des échantillons des miels a été mesuré par méthode de spectrophotométrie [AOAC \(2005\)](#). Le principe de cette méthode est basé sur la détermination de l'absorbance UV de l'HMF à deux longueurs d'onde 284 nm et 336 nm. Un aliquote de 5 g de miel bien homogénéisé a été dissoute dans 25 ml d'eau distillée, puis 0.5 ml de carrez I et 0.5ml de carrez II ont été ajoutés, le mélange a été ajusté au trait de jauge avec de l'eau distillée à 50 ml. Une filtration sur papier filtre a été effectuée,

Un volume de 5 ml du filtrat a été transféré aux deux tubes, dans l'un des tubes 5 ml d'eau distillée ont été ajoutés et dans l'autre 5 ml de bisulfite de sodium à 0,2% es ajoutée (solution de référence). La lecture des absorbances par spectrophotomètre type (*JENWAY 7305*) a été faite à 284 et 336 nm par rapport à la solution de référence. La teneur en HMF a été mesurée en mg pour 100 g par le calcul suivant :

$$\text{HMF mg/100g} = (A1-A2) \times f \times 5/P$$

A1 : Absorbance mesurée à 284nm.

A2 : Absorbance mesurée à 336nm.

P : poids de l'échantillon en g.

f: 14.97 à exprimer e mg/100g.

III.2.3.4. Intensité de la couleur ABS450

Les échantillons de miel ont été dilués à 50% (p/v) avec de l'eau distillée tiède (45-50°C), ensuite la solution résultante a été filtrée pour éliminer les grosses particules. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 450 et 720 nm à l'aide d'un spectrophotomètre type (*JENWAY 7305*) et la différence de l'absorbance a été exprimée en absorbance unit AU. ([Beretta et al., 2005](#)).

III.2.3.5. Dosage des sucres

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (^1H) a été utilisée pour déterminer la quantité des sucres dans le miel (fructose, glucose, saccharose, maltose, turanose et melezitose). Huit échantillons de miel ont été envoyés au laboratoire AB LABO en France.

Cette méthode d'analyse, récemment appliquée aux miels, permet de détecter les sucres et de déceler presque tous les types de fraudes d'adultération du miel. Elle est plus précise que les méthodes traditionnelles, il peut s'agir de fraudes liées à des dilutions et par l'ajout des sucres exogènes dans le miel. Cette technique permet notamment de détecter les additions de sucres issus de plantes non mellifères comme la canne et le maïs (mais pas encore ceux issus du blé, du riz ou de la betterave) et permet également de détecter un miel en cours de fermentation.

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une propriété de certains noyaux atomiques possédant un spin nucléaire (par exemple ^1H , ^{13}C , ^{17}O , ^{19}F , ^{31}P , ^{129}Xe ...), placés dans un champ magnétique. Lorsqu'ils sont soumis à un rayonnement électromagnétique (radiofréquence), le plus souvent appliqué sous forme d'impulsions, les noyaux atomiques peuvent absorber l'énergie du rayonnement puis la relâcher lors de la relaxation. L'énergie mise en jeu lors de ce phénomène de résonance correspond à une fréquence très précise, dépendant du champ magnétique et d'autres facteurs moléculaires.

Ce phénomène permet donc l'observation des propriétés quantiques magnétiques des noyaux dans les phases gaz, liquide ou solide. Seuls les atomes dont les noyaux possèdent un moment magnétique donnent lieu au phénomène de résonance. Le noyau ^1H est utilisé dans notre application. D'un côté plus pratique, les échantillons de miel sont dissous dans de l'eau et ajustés à un pH défini par notre méthode. Puis analysés par RMN.

Les résultats sous forme de spectre sont comparés automatiquement à une base donnée, pour émettre un rapport d'analyse avec les différents paramètres analysés. L'analyse des sucres renseigne sur l'origine florale et sa teneur doit être supérieure à 60% (glucose + fructose). La composition en fructose varie peu selon les types de miel, la composition en glucose est en revanche plus variable (de 27,8% pour le châtaignier à 37,3% pour le printemps).

En revanche, il n'existe pas de normes légales sur les sucres mineurs. Le turanose par exemple, est un sucre qu'on ne trouve pratiquement que dans les miels, il y est présent en

faible quantité (de 0,5 à 3 % suivant l'origine du miel). La quantification du turanose dans le miel permet de définir si un miel a été additionné de sirop de sucre.

III.2.3.6. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux contenants dans les miels a été effectué en utilisant le folin-ciocalteu selon la méthode colorimétrique de [Singleton *et al.* \(1999\)](#). Le folin-ciocalteu est un composé constitué par un mélange d'acide hosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des polyphénols par le folin-ciocalteu de couleur à la base jaune résultant l'oxyde métallique de tungstène W₈ O₂₃ et le molybdène Mo₈O₂₃ de couleur bleu ayant une absorption maximale à 750nm dont l'intensité en fonction de la concentration de polyphénols présents dans l'échantillon de miel. Le dosage des polyphénols a été mesuré par la comparaison de l'absorbance observée de l'échantillon à celle trouvée par un étalon d'acide gallique de concentration connue et préparée dans les mêmes conditions.

Cinq grammes (5g) de chaque échantillon de miel est traité avec 50 ml d'eau distillée, filtré et mélangé en utilisant un filtre qualitatif. 500µl de cette solution a été mélangé avec 2,5ml de réactif de Folin (0,2N) après 2 minutes on ajoute 2ml de bicarbonate de sodium (7,5%). Tous les échantillons ont été incubés à température ambiante dans l'obscurité pendant 2 heures et leur absorbance a été lue à 760 nm. La teneur totale en composés phénoliques a été mesurée en se référant à la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g).

III.2.3.7. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été mesuré selon la méthode de [Arvouet-Grand *et al.* \(1994\)](#). Le principe cette méthode se traduit par l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) ce qui conduit à la formation d'un complexe flavonoïdes-métaux.

Un volume de 1ml de solution de miel (1mg/ml) a été mélangé avec 0,3ml NaNO₂ (5%), après 5 minutes 0.3 ml de AlCl₃ (10%) ont été ajoutés puis on a ajouté 2 ml NaOH (1M), les lectures ont été faites à 510 nm. La teneur en flavonoïdes a été mesurée en se référant à la courbe d'étalonnage effectué par la quercétine dans les mêmes conditions et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par 100 g de miel (mg EQ/100 g) ([Al *et al.*, 2009](#)).

III.2.4. Caractérisation biologiques des miels

III.2.4.1. Activité antioxydante

L'estimation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazil). La molécule de DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette, il réagit avec des groupements amines, les phénols et les acides et présente une absorption à 517nm. Lorsque la solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, cette dernière provoque la forme réduite (DPPH2) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle.

L'IC50 est défini comme la concentration de miel en mg/ml nécessaire pour réduire 50% du DPPH ou la concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50% du DPPH à l'équilibre, il est mesuré à l'aide d'une courbe linéaire de différentes concentrations de l'échantillon.

L'évaluation de l'IC50 des miels est réalisée comme suit : 2,7 ml de la solution de DPPH (6×10^{-5} M) a été mélangé avec 300 μ l de solution de miel (0,1 mg/ml) dilué dans le Méthanol, après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé d'une solution de miel avec de l'eau distillée, le blanc est constitué d'un mélange de 0,3 ml d'eau distillée et 7 ml de solution de DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

L'activité anti-radicalaire des miels est exprimée en pourcentage de Radical Scavenger Activity (%RSA) et est calculée par la formule suivante :

$$\text{RSA (\%)} = [(\text{Ab}-\text{At})/\text{Ab}]/100$$

Ab = Absorbance du radical vierge (DPPH sans miel)

At = Absorbance de l'échantillon de test (DPPH avec miel)

L'acide ascorbique est souvent porté comme une référence d'antioxydant.

III.2.4.2. Activité antibactérienne

III.2.4.2.1. Revivification des souches pathogènes

Une colonie bien isolée de chaque souche pathogène a été prélevée de gélose nutritive à l'aide d'une anse à platine et ensemencée sur gélose nutritive puis incubée à 37°C en aérobiose pendant 24 h.

III.2.4.2.2. Antibiogramme des souches indicatrices

Deux à trois colonies bien isolés, obtenues par la méthode précédemment citée ont été trompés à l'aide d'une anse à platine dans un tube contenant de l'eau physiologique. Le mélange a été bien homogénéisé à l'aide d'un vortex, ensuite la densité de la suspension bactérienne a été standardisée à 0.5 Mc Farland avec un densitomètre.

L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton (MH) et adapté par les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010). Un écouvillon stérile a été trompé dans chaque tube de suspension bactérienne en suite des boîtes de pétri contenant la gélose MH ont été ensemencés en réalisant des stries de haut en bas.

Ensuite, des disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface des boîtes ensemencés : Amoxicillin + Acid clavulanic 20+10µg, Penicillin 6µg, Oxacillin 1µg, Bacitracine 130µg, Ampicillin 10µg, Streptomycin 300µg, Trimetoprim+ Sulfametoxazol 1.25+23.75 µg. les boîtes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures en aérobiose et les zones d'inhibitions produites ont été mesurées en mm à l'aide d'un pied à coulisse.

III.2.4.2.3. Estimation de l'activité antibactérienne des miels

Des boîtes de pétri de gélose nutritive ensemencés avec des suspensions bactériennes de 0.5 Mc Farland par écouvillonnage, des puits de 5mm de diamètre et de 24 mm d'espaces entre eux ont été creusés à l'aide des cloches du Durham stériles, ensuite les puits sont remplis de 100µl de miel brut et miel dilué par l'eau distillé de différentes concentrations (25%, 50%, et 75%)(V/V), les boîtes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures et en aérobiose. L'effet inhibiteur se traduit par un halo clair autour des puits et sa lecture a été effectuée par la mesure de son diamètre en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse.

III.2.5. Isolement, identification et effet inhibiteur des lactobacilles

III.2.5.1. Isolement des lactobacilles à partir des miels

III.2.5.1.1. Préparation de la solution mère

Dix grammes (10g) de miel frais, (c'est-à-dire dans les jours qui suivent la récolte, maximum 15 jours), pesés dans un sac stomacher stérile et additionnés avec 90 ml d'eau peptonée (0,1% p/v), ensuite le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un stomacher pendant 3 minutes.

III.2.5.1.2. Pré-enrichissement et isolement de bactéries lactiques

Dans deux tubes contenant chacun 9 ml de bouillon MRS, 1 ml de la solution mère a été ajouté et dans l'un des tubes trois gouttes de huile de paraffine ont été ajoutées pour obtenir un milieu anaérobie puis les tubes ont été transférés dans une étuve à 30°C pendant 24 heures.

La croissance bactérienne se manifeste par un trouble et chaque suspension bactérienne subie des dilutions. Un volume de 0,1ml de chaque suspension bactérienne diluée a été ensemencés par étalement à l'aide d'un râteau sur les boîtes de pétri contenant les géloses solidifiées suivantes : MRS Agar (De Man Roggosa et Sharpe), MRS Agar supplémenté de CaCO₃ 0,8%, MRS Agar supplémenté de L-cystéine 0,1% et Fructose 2% et le milieu Rogosa après 10 minutes les boîtes de Pétri ont été transférés dans une étuve à 37°C, en anaérobiose pendant 72 heures.

III.2.5.2. Identification phénotypique

Après 72 heures d'incubation plusieurs colonies ont été obtenues. Selon le manuel de Bergey de Bactériologie systématique (Hensyl, 1994) des colonies ont été pré-sélectionnées par rapport aux critères phénotypiques des bactéries lactiques.

Seules les colonies qui possèdent un aspect macroscopique de bactéries lactiques (forme, couleur, taille), catalase négative, coloration de Gram positive et forme de bâtonnet ont été conservés.

III.2.5.2.1. Test de catalase

Une colonie a été prélevée dans les conditions stériles à partir de la surface de gélose des milieux précédemment cités et mise en suspension avec une goutte de solution de peroxyde

d'hydrogène (3%) sur une lame, la réaction positive se manifeste par un dégagement immédiat de bulles d'air (Marchal *et al.*, 1991).

III.2.5.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été utilisée pour non seulement la détermination de Gram (positif ou négatif) mais aussi pour distinguer la forme (cocci, bacille) et l'aptitude de regroupement (amas, chaînette, diplocoque). Les mêmes lames qu'on a déjà utilisées pour le test de catalase ou les souches sont fixés, quelques gouttes de violet de gentiane ont été versées et laissées agir pendant 1 minute, puis rinçage avec l'eau.

Après les lames ont été recouvertes avec le lugol pendant 1 minute pour le mordantage suivi d'une décoloration par l'alcool 95°C pendant 30 secondes ; durant cette étape les lames ont été inclinées puis rinçage par l'eau distillée. Ensuite une recoloration, quelques gouttes de fushine de Ziehl ont été déposées pendant 30 secondes. Après lavage et séchage des lames, quelques gouttes d'huile d'immersion ont été déposées et l'observation sous microscope optique ($\times 100$) type (*OPTIKA*) a été effectuée

III.2.5.2.3. Purification et conservation

Des repiquages successifs ont été réalisés sur les mêmes milieux d'isolement et dans les mêmes conditions pour l'obtention des souches pures, ensuite la conservation aura lieu dans le bouillon MRS avec 15% de glycérol à -20°C.

III.2.5.3. Identification moléculaire par REP-PCR (séquençage d'ADNr 16S)

Cette opération a été déroulée au niveau de l'institut de nutrition et technologie alimentaire « Canstantine ». Le principe de La PCR consiste à amplifier un gène entier ou non, avec des amorces spécifiques, qui peut être ultérieurement révélé par électrophorèse sur gel d'agarose ou capillaire, par hybridation, ou encore séquencé et comparé avec des séquences déposées dans des banques de données (par exemple, EMBL, NCBI, BiBi, Genebank).

Le choix de l'ARN 16S plutôt que 23S ou 5S est d'ordre technique (taille du gène, nombre d'informations) et surtout les banques de données de séquences du gène 16S sont aujourd'hui très développées.

Les étapes de cette identification génotypique ont été réalisées comme suit :

- Extraction de l'ADN génomique à partir des isolats bactériens.

- Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par spectrophotométrie.
- Amplification d'ADN par PCR.
- Électrophorèse sur gel d'agarose.
- Comparaison des séquences d'ADN obtenues.

III.2.5.3.1. Extraction de l'ADN

L'ADN total bactérien de nos isolats sélectionnés et des souches de références utilisées a été contrôlée et extraite selon la méthode d'extraction élaborée par les laboratoires *BIO-RAD* et adoptée par [Cholet \(2006\)](#) ; [Gevers *et al.* \(2001\)](#) et [Koenraad *et al.* \(2008\)](#).

Une colonie bien individualisée a été prélevée et mis dans une suspension de 1ml d'eau distillée stérile après une centrifugation a été menée à 3000 tours pendant 10 minutes. Le culot obtenu de la centrifugation a été stocké à -20°C pendant 1 heure, après un lavage du culot obtenu a été assuré avec 1ml de tampon TES ensuite a été mis en suspension dans 300 µl de tampon STET (sucrose+triton+EDTA+tris). Un volume de 75µl de tampon de lyse a été ajouté à la suspension obtenue avec une incubation à 37°C pendant 1 heure puis un volume de 40µl d'une solution SDS (solution de dodécylsulfate de sodium) à 20% d'un tampon TE composé de 10mM Tris-HCL et de 1mM EDTA, de pH= 8.0 a été ajouté.

Une homogénéisation au vortex pendant 60 secondes avec une incubation à 37°C pendant 10 minutes, après une autre incubation de 10 minutes à 65°C avec l'ajout de 100 µl du tampon TE. L'extraction du lysat a été réalisée avec un volume égal de phénol de chloroforme et de l'alcool iso amylique.

Pour la séparation des phases une centrifugation à 3000 tours pendant 20 minutes a été menée puis un mixage de la phase aqueuse avec 70 µl de NaCl 5M et 1 ml d'isopropanol. Le précipité de l'ADN a été récolté par une centrifugation à 3000 tours pendant 15 à 20 minutes. Le culot obtenu est lavé dans de l'éthanol à 70% refroidi à 8 ±2°C. Enfin le culot d'ADN pure est dissout dans l'eau distillée stérile et préparé ainsi pour la REP-PCR ou conservé à -20°C pour des prochaines analyse

III.2.5.3.2. Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par spectrophotométrie

La concentration et de la pureté de l'ADN ont été contrôlées par spectrophotomètre type Thermo Scientific™ 840-210600. L'ADN pure doit exprimer un pic d'absorption spécifique aux procaryotes à 260 nm.

III.2.5.3.3. Amplification d'ADN par PCR

Les fragments d'ADN obtenus de l'extraction ont été amplifiés par l'utilisation des amorces spécifiques qui permettront d'amplifier le fragment d'ADN codant la région 16S avec un cyclor de Biorad (Biorad, USA).

Les séquences spécifiques des amorces utilisées ont été obtenues du laboratoire Qbiogène Research Service Germany. Cette étape se consacre sur le mettre dans le thermocycleur un aliquote contenant un mélange de 4µl de l'ADN extraite et 20µl d'une solution mixte réactionnelles. (voir [tableau 06](#)).

Tableau 06 : tableau réactionnel de la PCR

Réactifs de la solution mixte	Volume utilisé pour un microtube de 20µl
Solution Tampon	2,5µ
DNTP	2µ
Amorce Fwd (50µM)	0,5µ
DNTP	0,5µ
Amorce Fwd (50µM)	0,25µ
DNTP	14,25µ

Après le placement des microtubes à eppendorf qui contiennent l'ADN bactérien dans le thermocycleur, une pré-dénaturation a été effectuée à 94°C pendant 15 minutes, ce dernier a été suivi par amplification spécifique de quatre étapes d'hybridation répétées en 35 cycles.

Après une étape de dénaturation de 94°C pendant 3 minutes, une hybridation des amorces à une température de 53°C pendant 1 minute suivie par une élongation par polymérisation à une température de 72°C pendant 5 minutes, enfin l'obtention des produits de la REP-PCR

III.2.5.3.4. Électrophorèse sur gel d'agarose

Un aliquote de 1.2 g d'agarose déshydraté a été mis dans une solution de tampon TBE, 10 µl de Bromure d'Ethidium (BET) a été ajouté au mélange Agarose-TBE avec une agitation douce.

Ensuite le moule de l'électrophorèse a été préparé et le coulage a été également effectué et un peigne spécifique a été utilisé pour la formation des espaces destinés au puits. L'enlèvement de peigne a été réalisé après un temps de refroidissement de 30 minutes. Les puits sont remplis par un mélange de 7µl d'ADN amplifié avec 5µl de la solution de la solution de charge composée de bleu bromophénol à l'aide de la micropipette.

La migration des fragments d'ADN a été lancée en branchant les fils à un voltage de 90v à 100 v pendant 40 minutes, le courant électrique est éteint quand le témoin de migration atteint l'extrémité du gel. La visualisation de l'ADN sur le gel d'agarose est réalisée par un colorant fluorescent le bromure d'Ethidium (BET) dans l'obscurité à l'aide d'un système d'imagerie pour gel d'électrophorèse avec un appareil photo numérique incorporé CSL15 et un traitement à l'aide du logiciel d'analyse des gels CSL 030.

III.2.5.3.5. Comparaison des séquences d'ADN obtenues

Les séquences obtenues par la REP-PCR sont comparées d'une part avec ceux obtenues des souches de référence et d'autre part avec celles de la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) de NCBI.

III.2.6. Etude de l'activité antibactérienne des lactobacilles isolés à partir des miels :

III.2.6.1 Méthode des spots (Flemeing et al 1975)

Un ensemencement en touche de 5µl de culture de 18 heures de chaque bactérie lactique sur gélose MRS préalablement coulé sur les boites de pétri. Ensuite les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures, dans l'autre coté un ensemencement de la souche indicatrice en bouillon nutritif et incubation à 37°C pendant 18 heures. Un aliquot de 0,5ml de la culture de souche indicatrice est ensemencé dans 9 ml de gélose nutritive en surfusion, le mélange est coulé sur les boites déjà incubées. Pour une deuxième fois les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures, l'activité antibactérienne se manifeste par halo clair autour des spots, et les zones d'inhibition sont mesurées par millimètre à l'aide d'un pied à coulisse.

III.2.6.2. Méthode des puits (Barfoot *et* Klaenhammer, 1983)

Des boîtes de pétri contenant de gélose MRS sont ensemencées en masse par culture fraîche de 18 heures en bouillon nutritif de souches indicatrices. Des puits sont creusés à l'aide d'un emporte pièce et sellés par 10 μ l de gélose MRS. 100 μ l de surnageant des cultures des bactéries lactiques déjà centrifugés à (6000 rpm/20 mn). Après une incubation à 37°C dans le bouillon MRS est coulé sur les puits, puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Si le surnageant contient des substances antibactériennes une zone claire se forme autour des puits, le diamètre de la zone d'inhibition est mesurée en millimètre.

III.2.7. Traitement statistique des résultats

Des analyses de la variance (ANOVA) à un seul facteur sont effectuées pour différents paramètres. Le test de corrélation a été aussi réalisé entre les différents paramètres. Des analyses descriptives (moyenne, écart-type, quartiles et l'étendue, ...), sous forme de box plot selon l'origine florale et la région de production

Résultats et discussion

IV.1. Situation de l'apiculture dans la région de Mostaganem

IV.1.1. Apiculteur

L'âge des apiculteurs varie de 25 et 71 ans avec une moyenne de 45,35 ans. La totalité des apiculteurs sont de sexe masculin, et leur ancienneté dans le domaine apicole allant de 5 à 31 ans avec une moyenne de 14,70 ans dont 64% sont des professionnels. Il a été constaté que 58,82% des apiculteurs sont issus des familles qui exercent déjà l'apiculture et 72,5% des apiculteurs possèdent un agrément sanitaire d'élevage apicole fourni par l'inspection vétérinaire de la wilaya de Mostaganem. Pour ce qu'est la participation aux regroupements apicoles, seulement 32% des apiculteurs participent aux séminaires et 52% aux salons d'expositions. (voir [tableau 07](#) et [tableau 08](#)).

Tableau 07 : age et ancienneté des apiculteurs

Critère		Pourcentage (%)
Age des éleveurs (an)		
25 à 35		22,5
35 à 50		41,25
50 à 71		36,25
Acienneté des apiculteurs (an)		
5 à 15		68,75
15 à 25		18,75
25 à 31		12,5

Tableau 08: formation, l'entourage, agrément sanitaire et participation aux séminaires

Critère	Pourcentage (%)	
	Professionnel	Amateur
Niveau de l'apiculteur	64%	36%
Issu d'une famille du domaine	Oui 58,82%	Non 41,18
Possédant un agrément sanitaire	Oui 72,5%	Non 27,5
Participation aux regroupements apicoles	Oui 32%	Non 68%
Participation aux salons d'expositions	Oui 52%	Non 48%

IV.1.2. Conduite de rucher

La majorité des apiculteurs enquêtés utilisent les ruches de langstroth. L'alimentation des abeilles dépend de la disponibilité de la flore mellifère mais lorsqu'il s'agit un manque essentiellement la période d'hiver les apiculteurs appliquent le nourrissage 82% des apiculteurs appliquent le nourrissage par le sirop préparé à base sucre, 13% utilisent le sirop commercialisé et 5% utilisent le miel. En ce qui concerne l'essaimage 95% des apiculteurs font l'essaimage artificiel, 81% des apiculteurs renouvellent la reine selon leur performance. La transhumance est exercée par 49,01% des apiculteurs interrogés vers les wilyas des hauts plateaux (Tiaret, Djellfa) et de sud Algérien (Béchar, Ain safra, Byedh). Sur le plan épidémiologique, chez la totalité des apiculteurs la varroase est le principal ennemi, elle cause des dégâts considérables. (voir [tableau 09](#)).

Tableau 09 : pratiques utilisées dans la conduite du rucher.

Critère	Pourcentage %		
Type de ruche	Langstroth 100%		
Nourrissage	Sirop 82%	Sirop commercialisé 13%	Miel 5%
Essaimage artificiel	Oui 95%	Non 5%	
Renouvellement de la reine	Oui 81%	Non 19%	
Transhumance	Oui 49,01%	Non 50,99%	
Existence de la varroase	Oui 100%	Non 0	

IV.1.3. Production

La totalité des apiculteurs produisent essentiellement le miel, tandis que 46,84 % des apiculteurs produisent le pollen ; en ce qui concerne la propolis, la gelée royale sont respectivement 27,96 %, 21,6% des apiculteurs qui les produisent et enfin 3,6%21,6% des apiculteurs font le produit de la cire (voir [tableau 10](#)).

Tableau 10 : différentes productions de la ruche.

Produit	Pourcentage des apiculteurs
Miel	100%
Pollen	46,84%
Propolis	27,96%
Gelée royale	3,6%
Cire	21,6%

IV.1.4. Contraintes de la filière

La cherté des outils et des produits apicoles constitue un problème majeur dans la filière avec un pourcentage de 38,7%, 20% des apiculteurs ont comme contrainte le manque de marché d'exportation. Il faut noter que 26% des apiculteurs enquêtés ont déclaré que les pathologies sont à l'origine des pertes économiques non négligeables, d'autres apiculteurs avec une proportion de 12,08% ont signalé que la sécheresse a influencé sur le couvert végétal les ressources d'eau, et le manque de subventionect, et seulement 3,22% des apiculteurs ont ajouté qu'il y a un manque de formation (voir [figure 25](#)).

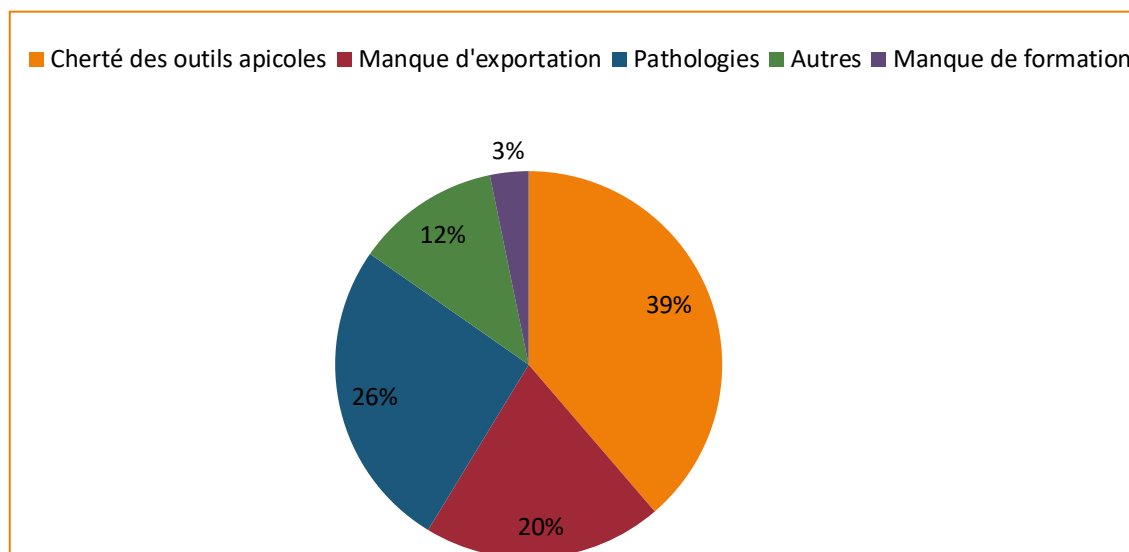


Figure 25 : principales contraintes de l'apiculture dans la wilaya de Mostaganem

Les données caractéristiques de la filière apicole dans la wilaya de Mostaganem tels que la conduite du rucher, les productions apicoles, l'âge et le niveau de l'apiculteur peuvent fournir des informations précieuses sur l'état actuel de l'apiculture et une prévision de son développement futur.

Nos résultats sont en accord à ceux trouvés par [Bedad et Rafed \(2021\)](#) dans la wilaya de Tissemsilt concernant l'âge moyen et le niveau des apiculteurs. Il faut noter que la transhumance est moins pratiquée par les apiculteurs interrogés par rapport aux autres wilayas comme Bouira et M'sila où le taux de transhumance est beaucoup plus élevé ([Sebti et Dahmani, 2019](#) ; [Ziane et Brikat, 2020](#)). Il faut signaler aussi que la varroase constitue une maladie dominante dans l'élevage apicole dans tout le territoire national. En ce qui concerne les productions on a constaté que l'apiculteur ne s'intéresse que par le miel et ne profite pas de tous les produits de la ruche ; cependant la richesse de la biodiversité ne reflète pas le schéma de production dont la technicité pourrait être améliorée. En outre, l'existence des contraintes climatiques et la forte sécheresse a influencé sur le couvert végétal ces dernières années, il serait intéressant de faire des plantations et l'irrigation des surfaces agricoles. La mise en place d'une stratégie opérationnelle de subvention par le secteur agricole en matériels apicoles peut développer la filière en matière de production.

V.2. Analyse palynologique

IV.2.1. Analyse pollinique quantitative

La richesse pollinique et sa classification ont été déterminées grâce à l'analyse pollinique quantitative. Selon [Maurizio \(1975\)](#) on peut classer les miels en cinq classes par rapport au nombre de grain :

Classe I : <2000 grains pour 1g de miel pauvre -----> en pollen

Classe II : 2000<grain de pollen <10000 pour 1g de miel moyen

Classe III : 10000< grain de pollen<50000 pour 1g de miel riche

Classe IV : 50000< grain de pollen<100000 pour 1g de miel très riche

Classe V :> 100000 grain de pollen pour 1g extrêmement riche.

Les résultats ont montré la variation de la richesse en pollen et les cinq classes ont été retrouvées avec une moyenne de 25000 GP/g. La valeur minimale a été observée dans le miel E69 (700 GP/g) de la région de Souafia alors que la valeur maximale a été observée dans le miel E71 (118350 GP/g) de la région de Sidi Ali (voir [tableau 11](#)).

Tableau 11 : classes de richesse en pollen des miels étudiés

Miel	GP/g	Classe	miel	GP/g	Classe
E1	1050	I	E36	45350	III
E2	1450	I	E37	46400	III
E3	1550	I	E38	40700	III
E4	1350	I	E39	3750	II
E5	1250	I	E40	8900	II
E6	1100	I	E41	48850	III
E7	1850	I	E42	40700	III
E8	1700	I	E43	34900	III
E9	1800	I	E44	37700	III
E10	2050	II	E45	12350	III
E11	2100	II	E46	15400	III
E12	2150	II	E47	7450	II
E13	4150	II	E48	8350	II
E14	4550	II	E49	5250	II
E15	6250	II	E50	11350	III
E16	5700	II	E51	42550	III
E17	6600	II	E52	27050	III
E18	6450	II	E53	100850	V
E19	7100	II	E54	102850	V
E20	3050	II	E55	10700	III
E21	3450	II	E56	37850	III
E22	2550	II	E57	8750	II
E23	4250	II	E58	32700	III
E24	7550	II	E59	44050	III
E25	6300	II	E60	6150	II
E26	1900	II	E61	78500	IV
E27	2250	II	E62	10550	III
E28	50350	IV	E63	9900	II
E29	100250	V	E64	4900	II
E30	40350	III	E65	10850	III
E31	7250	II	E66	27400	III
E32	4750	II	E67	37800	III
E33	6450	II	E68	49350	III
E34	6700	II	E69	700	I
E35	9350	III	E70	101350	IV
E71	118350	V	E73	71250	IV
E72	99600	IV	E74	73950	IV
E75	73750	IV			

Parmi les miels étudiés 42% sont considérés comment moyennement riches en pollen. Ils sont ensuite suivis par les miels riches en pollen (31%), les miels pauvres en pollen (15%), les miels très riches en pollen (7%) et enfin les miels extrêmement riches en pollen (5%).

On a constaté qu'une grande partie des miels de la région de Mostaganem appartiennent à la classe II, moyennement riches en pollen. Ces résultats sont similaires à ceux de [Homrani et al. \(2020\)](#) ayant travaillé sur les miels algériens. [Makhloufi \(2015\)](#) a également constaté que la plus part des miels algériens étudiés sont moyennement riches en pollen. Il a été rapporté que les miels espagnols sont également moyennement riches en pollen ([Ortiz-Valbueana, 1991](#)). Par contre [Zerrouk \(2014\)](#) et [Laallam \(2018\)](#) ont signalé que les miels du Nord, des hauts plateaux et du sud de l'Algérie appartiennent majoritairement à la classe III « riches en pollen ». Une étude menée par [Mehdi \(2016\)](#) sur les miels de l'Ouest algérien indique que les miels analysés appartiennent aux classes III, IV, V.

Les échantillons E29, E 53, E54, E71 appartiennent à la classe V. L'extrême richesse de ces miels en pollen peut être expliquée par le fait qu'ils ont été extraits par pressage. En effet, selon [Escuredo \(2012\)](#) la variation de la richesse en pollen est influencée par le mode d'extraction, par exemple les miels extraits par pressage « miels artisanaux » sont beaucoup plus riches en pollen que ceux extraits par centrifugation, parce que ces derniers dits « miels industriels » obtenus après plusieurs opérations de filtrations et donc une grande partie des grains de pollen sera par la suite éliminée. Cependant, d'autres facteurs tels que la nature du sol et sa composition en matière organique et en éléments minéraux, la colonie d'abeilles (type de ruche, force de la colonie) peuvent influencer la variation de la quantité du pollen dans le miel ([Amri, 2015](#)). De plus, la quantité de pollen produite par la fleur butinée est différente d'une espèce à l'autre, ce qui peut avoir un impact sur la richesse du miel en pollens ([Rabiet. 1984](#)). D'après [Louveaux \(1985\)](#) Une forte humidité au moment de la floraison favorise la production de grain de pollen. Les études menées par [Bruneau \(1998\)](#) ont révélées que la déhiscence des anthères et l'ouverture des fleurs sont influencées par la température.

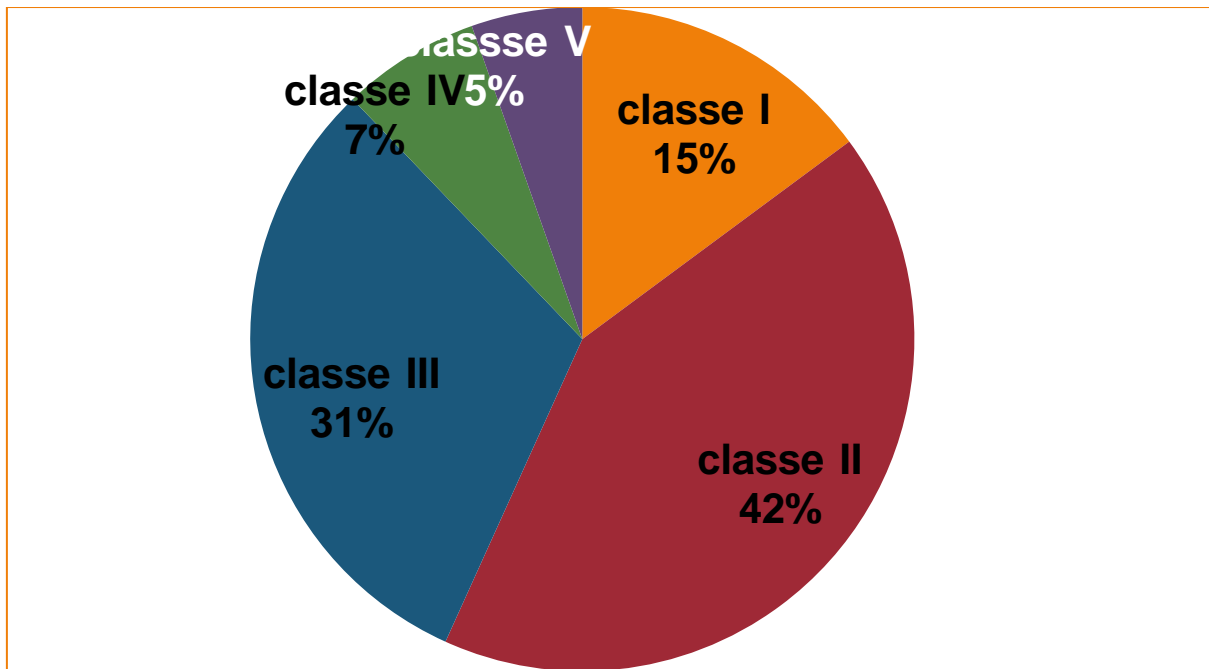


Figure 26 : classe de richesse en pollen des miels.

V.2.2. Analyse qualitative

V.2.2.1. Nombre des formes polliniques et leurs densités relatives

Les résultats montrés dans la [figure \(27\)](#) indiquent que 39 formes polliniques ont été inventoriées dans la région de Mostaganem dont 36 distingués comme espèces nectarifères et trois espèces non nectarifères (*Olea europea*, *Buxux sempervirens*, *Quercus ilex*)

Les formes de pollen présentes dans les miels étudiés peuvent être subdivisées en quatre groupes d'après la densité relative, un pollen dominant ($\geq 45\%$) dans un échantillon peut être un pollen d'accompagnement (16-45%), un pollen isolé important (3 -15%) ou un pollen isolé rare (<3). L'analyse qualitative à mis en évidence 5 taxons appartenant au groupe de pollen dominant dans les échantillons de miel (*Eucalyptus globulus*, *Genista t*, *Daucus carota*, *Punica granatum*, *Citrus*) soit 10% de l'ensemble des taxons recensés et 25 taxons appartiennent au groupe de pollen d'accompagnement (*Melilotus t*, *Quersus*, *Ceratonia siliqua*, *Silybium marianum*, *Olea europea*, *Centaurea t*, *Coriodrium sativum t*, *Punica garantum*, *Papaver rhoeas t*, *Thapsia garganica*, *Daucus carota*, *Genista t*, *Eucalyptus*, *Hedysarum coronariu t*, *Sinapis alba t*, *Capparis*, *Vicia faba*, *Buxus*, *Brassica napus t*, *Dittrichia viscosa*, *Eriobotrya japonica*, *Foeniculum vulgare t*, *Scabiosa columbaria*) soit 64.1% de la totalité des taxons, 37 taxons sont représentés comme pollens isolés importants, le quatrième groupe de pollen est caractérisé par la présence de 27 taxons.

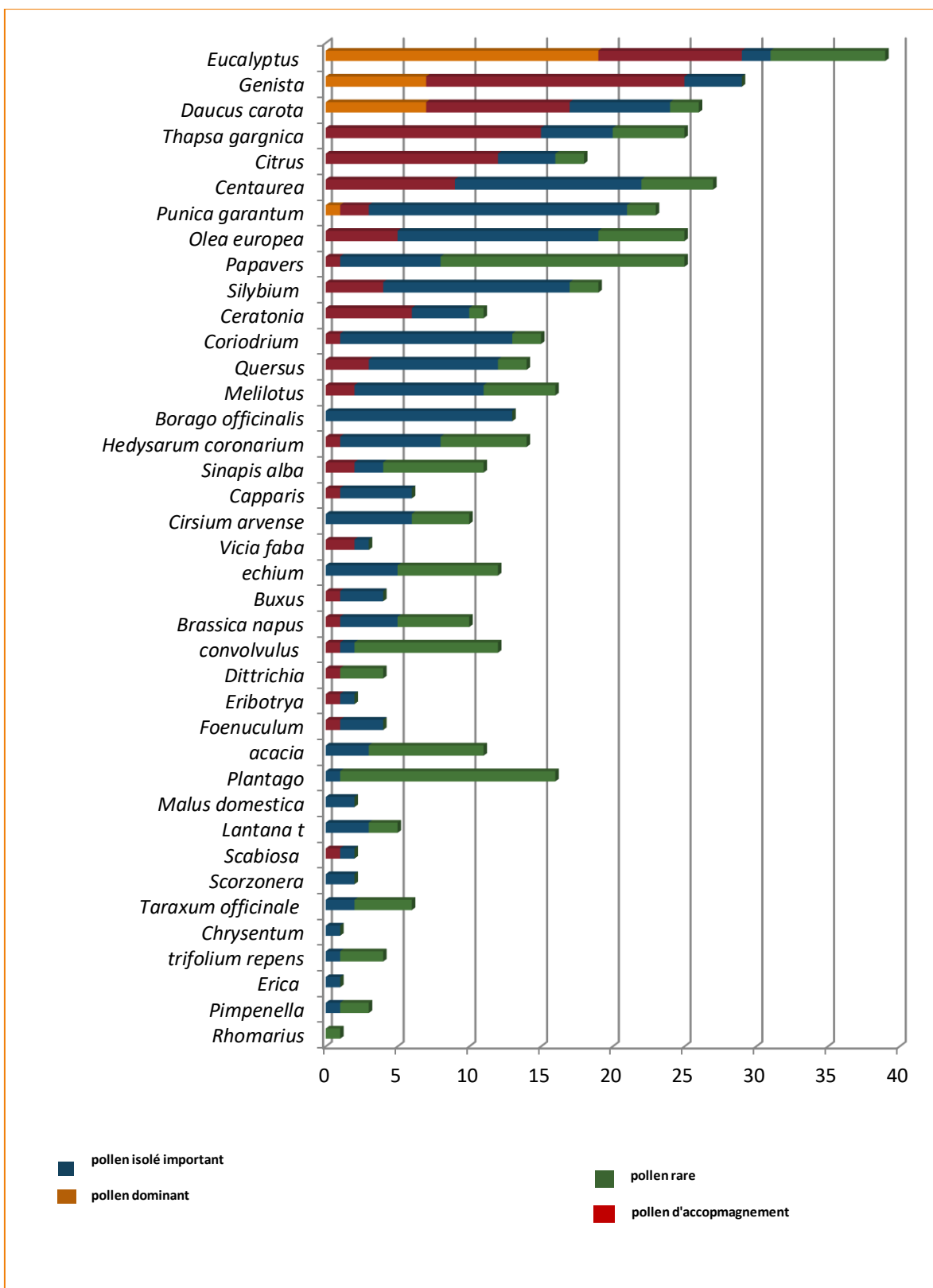


Figure 27 : fréquence de distribution des taxons.

V.2.2.2. Diversité taxonomique spécifique

La diversité taxonomique est le dénombrement de tous les types polliniques identifiés par échantillon de miel analysé. Le nombre de taxon pour chaque échantillon est de 3 à 11 taxons avec une moyenne de 07. La valeur la plus élevée a été enregistrée dans les échantillons (E14, E17) provenant de Hchachta tandis que la valeur la plus faible a été notée dans les échantillons de Mozaya (E48), de Khadra (E72) et celui de Sidi Ali (E73).

Il est possible de classer les miels selon la **diversité** taxonomique en se référant à la classification de [Maurizio \(1975\)](#), miels très pauvres en espèces botaniques (de 1 à 5 types polliniques), miels moyennement pauvres (6 à 10 types polliniques), miels riches (11 à 15 types polliniques), miels très riches (16 à 20 types polliniques).

Notre étude indique que 32% des miels sont très pauvres et 65,33% sont moyennement pauvres et seulement 2,6% sont riches ([voir figure 28](#)).

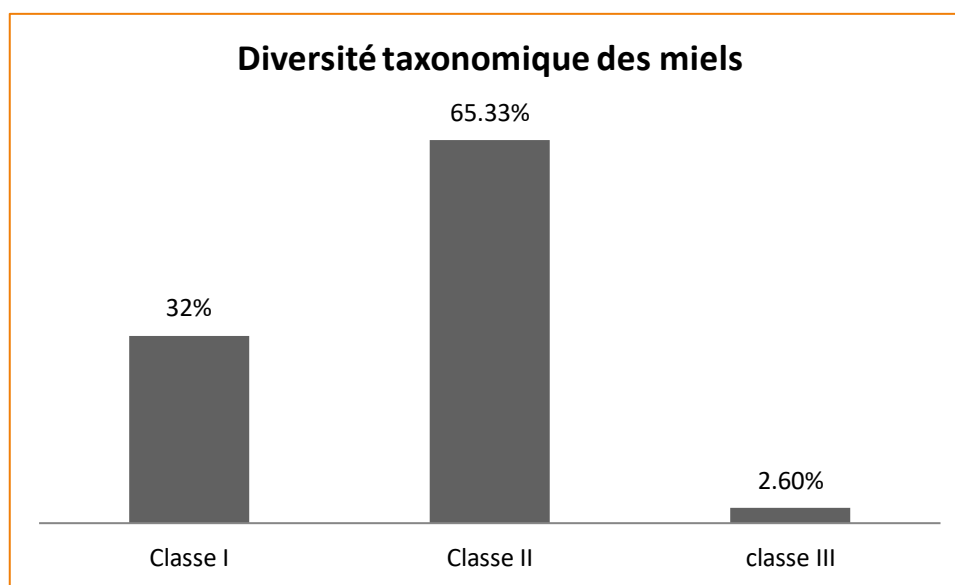


Figure 28 : classes de diversité taxonomique

Nos résultats sont largement inférieurs à ceux de [Makhloufi et al. \(2015\)](#) qui ont noté une moyenne du nombre de taxons 14,57%, dont la moitié renferme entre 14 et 18 formes polliniques. Une étude récente de [Homrani et al. \(2020\)](#) a montré que le nombre des taxons des miels algériens varie de 12 à 35 formes, avec une moyenne de 22,25. Cette diversité est expliquée par la diversité des étages climatiques, par contre notre étude a été menée dans une seule zone tellienne, d'autres facteurs influencent sur la diversité floristique tels que les conditions atmosphériques, la force de la colonie et la contribution de l'apiculteur.

V.2.2.3. Spectre de fréquence des types polliniques des miels analysés

Le **tableau (12)** indique que l'*Eucalyptus* est très fréquent (présent dans plus de 50% des échantillons), 12 taxons sont fréquents (présents dans 20 à 50% des échantillons) et 10 taxons sont peu fréquents (présents dans 10 à 20% des échantillons) tandis que 16 taxons sont considérés comme pollens rares (présents dans <10% des échantillons).

Tableau 12 : fréquence de répartition des taxons dans le miel.

Pollen Très fréquents (> 50%)	Pollen peu fréquent (20-10%)
<i>Eucalyptus</i>	<i>Cirsium arvense, Sinapis alba, Borago officinalis, Echium, Hedysarum coronarium, Brassica napus, Ceratonia, Quercus*</i> , <i>Convolvulus, Acacia,</i>
Pollen Fréquent (50%-20%)	Pollen Rare (<10%)
<i>Citrus, Thapsia garganica, Oléa europea*</i> , <i>Coriandrum sativum t, Centaurea, Melilotus t, Génista t, Punica granatum, Daucus carota. Silybum marianum, Papaver rohars t, Plantago</i>	<i>Rosmarinus officinalis , Pimpinella anisum t, Trifolium repens, Lantana t, Scorzonera, Dittrichia viscosa, Taraxacum officinale, Erica arborea, Scabiosa, Malus domestica, Foeniculum vulgare t, Buxus sempervirens*</i> , <i>Vicia faba, Capparis, Chrysanthemum t, Eriobotrya japonica.</i>

* : espèce non nectarifère.

D'après la classification des taxons selon la fréquence de distribution, il a été constaté que les miels étudiés contiennent à la fois des pollens de plantes cultivées et ceux des plantes spontanées.

Les principales plantes cultivée butinées par les abeilles sont les arbres forestiers tels que l'*Eucalyptus*, mais aussi des arbres fruitiers tels que *Olea europea, Punica granatum, Citrus* et également des herbacées comme *Coriandrum sativum*.

Les principales plantes spontanées butinées dans la région de Mostaganem sont les herbacées comme *Papaver rohars, Plantago, Daucus carota, Thapsia garganica, Melilotus, Centaurea* mais également les plantes arbustives tels que *Genista*.

IV.2.2.4. Spectre de fréquence des familles botaniques des miels analysés

Les familles répertoriés dans les échantillons sont réparties en 20 familles botaniques (voir [tableau 13](#)) : *Fabaceae* (7 taxons), *Astreaceae* (7 taxons), *Apiaceae* (5 taxons), *Myrtaceae* (1 taxon), *Oleaceae* (1 taxon), *Boraginaceae* (2 taxons), *Brassicaceae* (2 taxons), *Lamiaceae* (2 taxons), *Rosaceae* (2 taxons), *Fagaceae* (1 taxons), *Papaveraceae* (1 taxon), *Plantaginaceae* (1 taxons), *Lythraceae* (1 taxon), *Rutaceae* (1 taxon), *Convolvulaceae* (1 taxon), *Capparaceae* (1 taxon), *Caprifoliaceae* (1 taxon), *Ericaceae* (1 taxon), *Buxaceae* (1 taxon), *Verbenaceae* (1 taxon).

Il a été constaté aussi que les familles les plus fréquentes dans les miels de la région de Mostaganem sont : *Fabaceae* (72%), *Astreaceae* (69,66%), *Apiaceae* (62,85%), *Myrtaceae* (59,33%), *Oleaceae* (45,33%), *Lythraceae* (33,30%), *Boraginaceae* (32%), *Papaveraceae* (32%) comme l'indique la [figure 29](#). L'abondance de la famille de *Fabaceae*, *Astreacea*, *Apiaceae*, *Myrtaceae* dans nos miels est un indicateur de l'importance de ces familles dans l'apiculture mostaganémoise, [Makhloufi \(2015\)](#) et [Homrani \(2020\)](#) ont prouvé que ces familles semblent d'une importance majeure pour l'apiculture algérienne. Selon [Crane \(1991\)](#), les *Asteraceae* et les *Fabaceae* sont très nectarifères, de même [Melin \(2011\)](#) rapporte que la Famille des *Fabaceae* regroupe des plantes importantes pour l'apiculture, connues par une production abondante de nectar. D'après [Louveaux et Abed \(1984\)](#), les Apiacées jouent un rôle très important dans l'apiculture de l'Afrique du nord. [Philippe \(1994\)](#) rapporte que dans la flore mondiale quatre grandes familles sont particulièrement nectarifères : les fabacées, les lamiacées, les astéracées et les brassicacées dont la concentration du nectar en sucres est élevée.

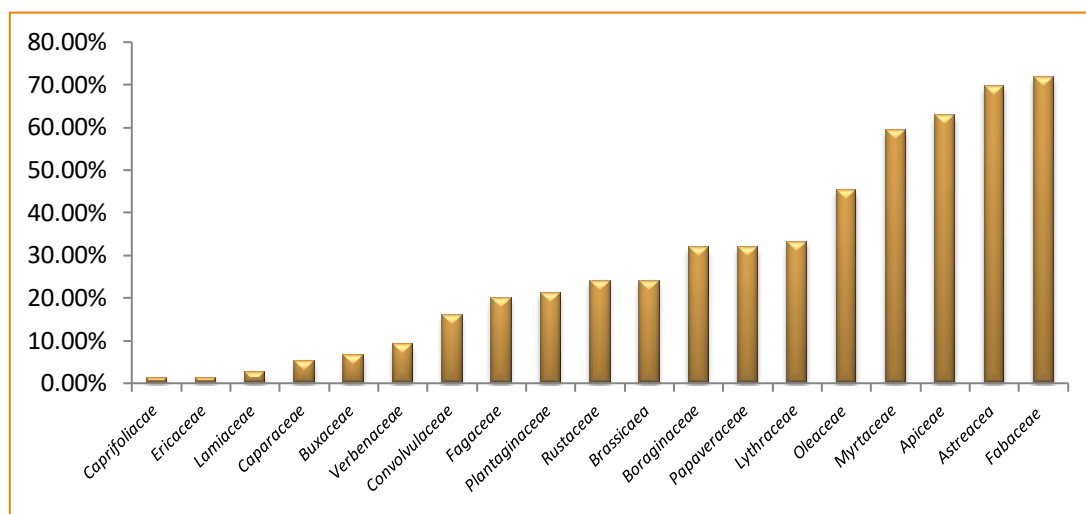


Figure 29 : spectre de fréquence des familles botaniques en % des miels

Tableau 13 : familles botaniques et les taxons correspondants

Famille	Type pollinique	Famille	Type pollinique
<i>Papaveraceae</i>	1(<i>Papaver rhoeas t</i>)	<i>Capparaceae</i>	1(<i>Capparis</i>)
<i>Apiaceae</i>	5(<i>Daucus carota</i> , <i>Coriandrum sativum t</i> , <i>Foeniculum vulgare t</i> <i>Pimpinella anisum t</i> , <i>Thapsia garganica</i>)	<i>Caprifoliaceae</i>	1(<i>Scabiosa</i>)
<i>Plantaginaceae</i>	1(<i>Plantago</i>)	<i>Ericaceae</i>	1(<i>Erica arborea</i>)
<i>Lythraceae</i>	1(<i>Punica granatum</i>)	<i>Myrtaceae</i>	1(<i>Eucalyptus</i>)
<i>Astreaceae</i>	7(<i>Centaurea t</i> <i>Chrysanthemum t</i> <i>Scorzonera t</i> , <i>Taraxacum officinale t</i> , <i>Silybum marianum</i> , <i>Cirsium arvense</i> , <i>Ditrichia viscosa</i>)	<i>Fabaceae</i>	7(<i>Acacia</i> , <i>Ceratonia</i> , <i>Genista t</i> , <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Melilotus t</i> , <i>Trifolium repens t</i> , <i>vicia faba</i>)
<i>Rosaceae</i>	2(<i>Eriobotrya japonica</i> , <i>Malus domestica</i>)	<i>Fagaceae</i>	1(<i>Quercus*</i>)
<i>Rutaceae</i>	1(<i>Citrus</i>)	<i>Lamiaceae</i>	2(<i>Lavandula t</i> , <i>Rosmarinus</i>)
<i>Boraginaceae</i>	2(<i>Borago officinalis</i> , <i>Echium</i>)	<i>Oleaceae</i>	1(<i>Olea europea*</i>)
<i>Brassicaceae</i>	2(<i>Brassica napus t</i> , <i>Sinapis alba t</i>)	<i>Buxaceae</i>	1(<i>Buxus sempervirens*</i>)
<i>Convolvulaceae</i>	1(<i>Convolvulus</i>)	<i>Verbenaceae</i>	1(<i>Lantana t</i>)

* : Espèce non nectarifère.

IV.2.2.5. Spectre pollinique des miels selon l'origine géographique

Il est bien connu que la présence de certain type pollinique, leur répartition et leur abondance different selon l'origine géographique. Il a été enregistré après une comparaison des spectres polliniques selon les localités de production que l'*Eucalyptus* est fréquent dans toutes les localités, cependant il est très fréquent et plus abondant dans les régions des vallées de l'Est. Les espèces de *Citrus* sont présents particulièrement dans la région de Mostaganem centre et les vallées de l'Ouest ce qui confirme son importance comme plante mellifère malgré que son pollen est sous-représenté ; également *Genista* est omniprésent dans la région

de Mostaganem centre et les monts du Dahra et vallées de l'Ouest. De même pour les formes polliniques de la famille des *Asteracea* notamment *Centaurea* et *Silybum marianum*.

Les formes polliniques de la famille des *Apiacea*, notamment *Daucus carota*, *Thapsia garganica*, *Coriandrum sativa*, sont plus abondantes dans les monts du Dahra. Le pollen de l'espèce *Daucus carota* est dominant dans Cinq échantillons (E26, E30, E36, E68, E27) collectés dans les monts du dahra et deux échantillons (E33, E34) collectés dans les vallées de l'Est. L'espèce *Olea europea* est présente dans 50% des miels provenant de chaque région de Mostaganem. Cette espèce est exclusivement pollinifère et très appréciée par les abeilles. *Punica garantaum* a été enregistré plus abondant dans la région de Mostaganem centre, avec particulièrement une dominance dans l'échantillon E31. *Papaver rohaeas* est omniprésent dans les monts du Dahra et la région de Mostaganem centre et les types polliniques de la famille de *Boraginaceae* sont plus abondants dans les vallées de l'Est et les monts du Dahra mais cette famille est sous représentée dans la région de Mostaganem centre.

Vu les résultats trouvés, il y a de noter qu'il s'agit donc d'une diversité des ressources mellifères représentées de nombreuses espèces végétales et qui utilisées par les abeilles dans les différentes régions de Mostaganem. Cette diversité est en fonction de la présence et l'abondance de l'espèce ainsi que de la biologie de la fleur. Selon Louveaux (1968) la qualité et la taille sont des facteurs de choix du pollen chez les abeilles, l'abondance de nectar et sa teneur en sucre, et aussi des conditions atmosphériques, le type du sol, la participation de l'apiculteur et la période de récolte.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par [Homrani \(2020\)](#) ayant travaillé sur les miels de la région de Mostaganem, a montré une prédominance des espèces : *Eucalyptus*, *Citrus*, *Punica garanatum*, *Genista*, *coriodrium sativum*. D'après [Mehdi \(2016\)](#) les miels de l'Ouest Algérien sont caractérisés par prédominance des types polliniques : *Eucalyptus sp*, *Foeniculum vulgare*, *Hedysarium coronarium*, *Olea europea*, *Ziziphus lotus*, *Daucus carota*, *Genista*, *Taraxacum officinale*, *Brassicinapus*, *Chenopodiacees*, *Papaverrhoeas*. Cependant. une étude menée par [Zarrouk \(2014\)](#) sur les miels produits dans le centre du pays a révélé la prédominance des espèces *Eucalyptus*, *Trifolium*, *Echium*, *Hedysarium corornarium* et dans une moindre mesure *Rubus* et *Citrus*. Les spectres polliniques des miels du Nord algérien sont caractérisés par la dominance des taxons: *Citrus*, *Eucalyptus*, *Hedysarum coronarium*, *Rubus* et *Rosmarinus*, *Thymus vulgaris*, et *Lavandula angustifolia*, *Lathyrus sp*. ([Louveaux et Abed ., 1984](#) ; [Ouchemoukh et al., 2007](#) ; [Nair et al., 2013](#)).

V.2.2.6. Origine botanique et typicité des miels dans la région de Mostaganem

La diversité de la flore mellifère dans les miels dans la région de Mostaganem est à l'origine d'une diversité des espèces botaniques. L'intensité de butinage des abeilles varie d'une espèce botanique à l'autre. Certaines plantes préférées par les abeilles à cause de leur abondance en nectar et d'autres plantes sont préférées à cause de leurs réserves protéiques représentées par le pollen. Certaines espèces sont très pollinifères, car leur pollen est très abondant (*Olea europea*) comparativement au nectar qui est secrété en quantité minime donc ces espèces sont sur-représentées dans le miel. D'autres espèces fournissent très peu de pollen mais sont très nectarifères donc peuvent être sous-représentés dans le miel (*Citrus*). Les types polliniques des plantes non nectarifères sont inclus dans les spectres polliniques des miels analysés, mais ne sont pas pris en considération pour la détermination de l'origine botanique, étant donné que le miel est produit à partir du nectar. Le miel ne peut pas prendre l'appellation d'une espèce non nectarifère (Louveaux *et al.*, 1978 ; Von Der Ohe *et al.*, 2004). Louveaux (1968) ; rapportant qu'il ya différents facteurs qui influencent le choix des butineuses. En effet, les plantes qui fournissent le pollen et le nectar à la fois sont préférées par rapport aux autres. Les plantes communes existant en peuplement denses sont également préférées. Les facteurs tels que la localisation et les conditions écologiques jouent également un rôle dans le choix des abeilles sur la plante à butiner. La dominance d'un pollen d'une plante, avec une fréquence relative égale ou supérieure à 45% dans le sédiment de miel permet d'affirmer que ce dernier provient principalement du nectar de la plante considérée, donc d'indiquer l'origine botanique du miel analysé (Louveaux *et al.*, 1978).

Notre étude indique que sur 75 miels analysés 46 miels ont été enregistrés comme miels monofloraux soit 61,33% et 29 miels sont enregistrés comme polyfloraux soit 38,66 %.

Les miels monofloraux sont répartis en 5 origines botaniques différentes : miels d'*Eucalyptus* (n=19) d'origine géographique essentiellement des vallées de l'Est (E39 E40, E41, E42, E43, E44, E45, E57, E59, E67, E70), la région de Mostaganem Centre (E37, E38, E46, E47, E48, E49) et les monts de Dahra (E71, E74). En suite les miels d'agrumes (*Citrus*, n=12) provenant principalement de la région de Mostaganem Centre (E1, E2 E3 E4 E6 E7 E10 E11 E12 E24) et deux échantillons provenant des vallées basses de l'Ouest E28 et E29. Les miels à dominance des *Fabaceae* (*Genista t*, n=7) proviennent des monts de Dahra et la région de mostaganem centre respectivement E5, E14, E15, E22, E23, E5, E13, E16. Les miels de carotte sauvage (*Daucus carota*, n= 7) sont originaires échantillons E26, E30, E36, E68, E27 et deux échantillons E33, E34 dans les les vallées de l'Est. Le miel de grenadier

(*Punica garantum*, n= 1) découle de la région de Mostaganem Centre bien que le pollen de *Punica garantum* a été aperçu dans les autres régions. Les miels monofloraux se caractérisent par la présence des pollens dominants et absence de pollens d'accompagnement et dans certains cas le pollen d'accompagnement se trouve avec 1 ou 2 taxons au maximum. Ces taxons se trouvent en pollen important ou pollen d'accompagnement : *Eucalyptus*, *Daucus carota*, *Thapsia garganica*, *Foeniculumvulgare t*, *Coriodrium sativum*, *Silybum marianum*, *Centaurea*, *Ceratonia*, *Olea europea*, *Hedysarum coronarium*, *Scabiosa*, *Erica arborea*, *Eriobotrya japonica*, *Malus domestica*. Les autres taxons sont répartis dans les deux classes de fréquences polliniques qui sont pollens isolés importants et pollens isolés rares.

Les miels polyfloraux sont répartis dans toutes les régions, sont le plus souvent collectés auprès des apiculteurs qui font la récolte une fois par année c'est-à-dire le rucher est placé dans une seule zone tout long de l'année ; ces mêmes apiculteurs ayant un niveau limité sur les techniques apicoles. L'existence d'un nombre pareil de miels polyfloraux est due aussi à l'absence des connaissances sur les localités riches en ressources mellifères d'une part et d'autre part la séchresse fréquente ces dernières années affecte l'abondance de nectar. D'après les résultats montrés dans le **Tableau (14)** et en comparant les origines botaniques après l'analyse des échantillons du miel et les origines botaniques données par les apiculteurs, il a été constaté que 58,66% des miels correspondent aux appellations présumés par les apiculteurs, alors que le reste des miels ne correspond pas aux appellations après analyse palynologique (voir **figure 30**). De ce fait, nous pouvons affirmer que les connaissances des apiculteurs sur les zones de butinage n'expriment pas l'origine principale du nectar. Donner un nom au miel est une forme de valorisation et ce nom doit être authentique. L'absence de loi régissant la commercialisation du miel en Algérie est à l'origine de falsification, alors qu'une analyse palynologique constitue une base essentielle de commercialisation rationnelle.

Tableau 14: authenticité des appellations des miels analysés

Miel	OB présumé	Nom scientifique	Miel	OB présumé	Nom scientifique
E1	Polyfloral	<i>Citrus</i> 15.6	E38	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 81.77
E2	Agrumes	<i>Citrus</i> 17	E39	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 67.63
E3	Agrumes	<i>Citrus</i> 20.57	E40	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 78.46
E4	Polyfloral	<i>Citrus</i> 11.34	E41	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 70.48
E5	Polyfloral	<i>Genista t</i> 46.66	E42	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 76.05
E6	Agrumes	<i>Citrus</i> 18.52	E43	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 78.24
E7	Agrumes	<i>Citrus</i> 16.52	E44	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 82.58
E8	Polyfloral	Polyfloral	E45	Polyfloral	Polyfloral
E9	Polyfloral	Polyfloral	E46	Polyfloral	Polyfloral
E10	Agrumes	<i>Citrus</i> 17.14	E47	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 80.25
E11	Agrumes	<i>Citrus</i> 11.7	E48	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 84.36
E12	Agrumes	<i>Citrus</i> 24.3	E49	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 84
E13	Agrumes	<i>Genista t</i> 47.83	E50	Polyfloral	Polyfloral
E14	Carotte sauvage	<i>Genista t</i> 48.85	E51	<i>Acacia</i>	Polyfloral
E15	Polyfloral	<i>Genista t</i> 46	E52	Carotte sauvage	Polyfloral
E16	Agrumes	<i>Genista t</i> 46.36	E53	polyfloral	Polyfloral
E17	Agrumes	Polyfloral	E54	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E18	Carotte sauvage	Polyfloral	E55	Carotte sauvage	Polyfloral
E19	Carotte sauvage	Polyfloral	E56	Carotte sauvage	Polyfloral
E20	Carotte sauvage	Polyfloral	E57	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 76.35
E21	Carotte sauvage	Polyfloral	E58	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E22	Carotte sauvage	<i>Genista t</i> 74.23	E59	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 61
E23	Carotte sauvage	<i>Genista t</i> 52.89	E60	Polyfloral	Polyfloral
E24	Agrumes	<i>Citrus</i> 10.08	E61	Polyfloral	Polyfloral
E25	Carotte sauvage	Polyfloral	E62	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E26	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 54.5	E63	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E27	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 62.6	E64	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E28	Polyfloral	<i>Citrus</i> 11.98	E65	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E29	Polyfloral	<i>Citrus</i> 14.16	E66	<i>Eucalyptus</i>	Polyfloral
E30	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 53.5	E67	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 72.9
E31	Polyfloral	<i>Punica garantum</i> 57	E68	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 56.2
E32	Polyfloral	Polyfloral	E69	<i>Acacia</i>	Polyfloral
E33	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 61.4	E70	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 85.28
E34	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 53.5	E71	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 76.09
E35	Carotte sauvage	Polyfloral	E72	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 78
E36	Carotte sauvage	<i>Daucus carota</i> 48.8	E73	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 81.51
E37	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 77.53	E74	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i> 75.31
E75	Polyfloral	Polyfloral			

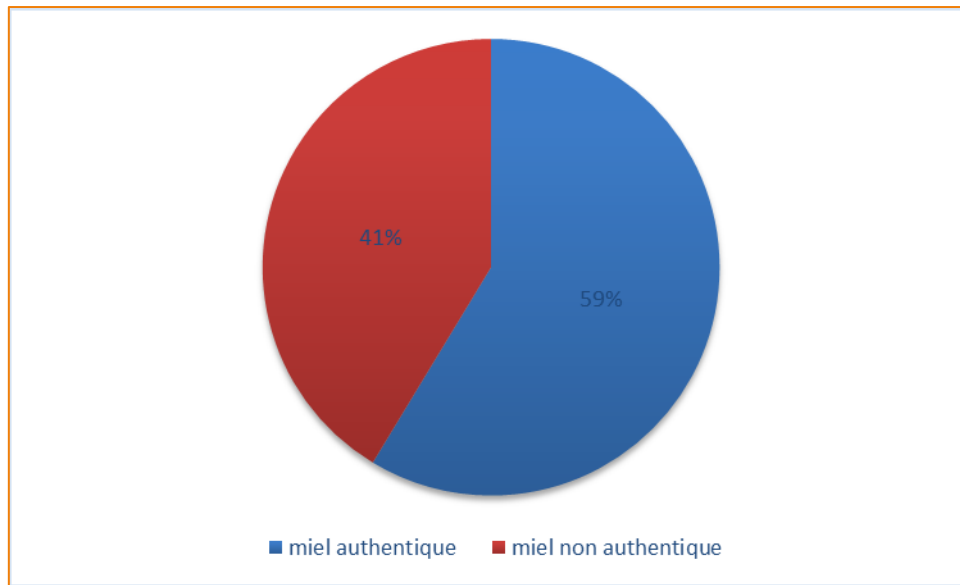


Figure 30 : pourcentage de l'authenticité des miels selon les apiculteurs

V.2.2.7. Typicité des miels monofloraux dans la région de Mostaganem

V.2.2.7.1. Miel d'*Eucalyptus*

Il a été remarqué que le miel d'*Eucalyptus* occupe une place importante dans la totalité des miels de la région de Mostaganem (25%). La dominance de pollen d'*Eucalyptus* confirme l'importance miellée de ce cette espèce dans l'apiculture de Mostagnem. Par ailleurs, il reflète également la richesse de la région en zones forestières telles que les forêts de Khadra, Sidi Ali et Mozaya (Bouguirat). D'après [Louveaux et al. \(1978\)](#), le pollen d'*Eucalyptus* et toutes les myrtacées sont fortement sur-représentées dans les miels, dont l'explication est attribuée à la petite taille de ce pollen et à son abondance dans les fleurs. [Mehdi \(2016\)](#) ajoute que l'*Eucalyptus* fournit un nectar très aromatique et apprécié par les abeilles. Cette ressource mellifère joue un rôle important comme plante mellifère d'été. Vue la sur-représentation de pollen d'*Eucalyptus*, un seuil minimal de 60% est accepté pour considérer les miels monofloraux d'*Eucalyptus* ([Louveaux et al., 1978](#)). Le pourcentage de pollen dans les miels monofloraux est souvent élevé, proche de 90%. En effet, les plus purs sont d'origine australienne dont spectre pollinique peut contenir 100% de grains de pollen ([Boquet, 1997](#)). Nos résultats révèlent que la fréquence relative du pollen d'*Eucalyptus* varie de 61 à 85% avec une moyenne de 77,26%. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par [Homrani \(2020\)](#) qui a noté que les miels d'*Eucalyptus* produits en Algérie ont une moyenne de fréquence relative de 70,66%. [Zerrouk et al. \(2014\)](#) ont constaté une moyenne de 82% de

pollen d'*Eucalyptus* dans les miels récolté en Algérie. Cependant nos résultats sont en désaccord avec ceux trouvés par Mehdi (2016) qui a signalé que le pollen d'*Eucalyptus* dans les miels de l'Ouest Algérien est classé sous forme de pollen d'accompagnement. Les miels d'*Eucalyptus* analysés ont été notés avec la présence de pollen isolé important *Olea eurpea*, *Daucus carota*, *Thapsia garganica* et d'autres espèces comme pollen rare *Punica garantum*, *Acacia*, *Papaver rohaes*, *Centaurea*, *Convolvulus*, *Hedysarum coronarium* (voir figure 31). Makhloufi (2015) a trouvé que la dominance d'*Eucalyptus* en Algérie se distingue des autres miels de la région méditerranéenne occidentale par la présence de *Papaver rhoeas* et *Centaurea*. Cependant Ricciardelli d'Albore et Vorwohl (1980) ont noté comme pollens d'accompagnement les espèces d'*Acacia*, *Gleditsia* et *Hedysarum coronarium* pour ceux collectés en Lybie. Les mêmes auteurs ont trouvés les miels d'*Eucalyptus* tunisiens sont caractérisés par les espèces de *Citrus*, d'*Acacia*, d'*Erica multiflora*, d'*Olea europaea* et d'*Hedysarum coronarium* en tant que pollens d'accompagnement.

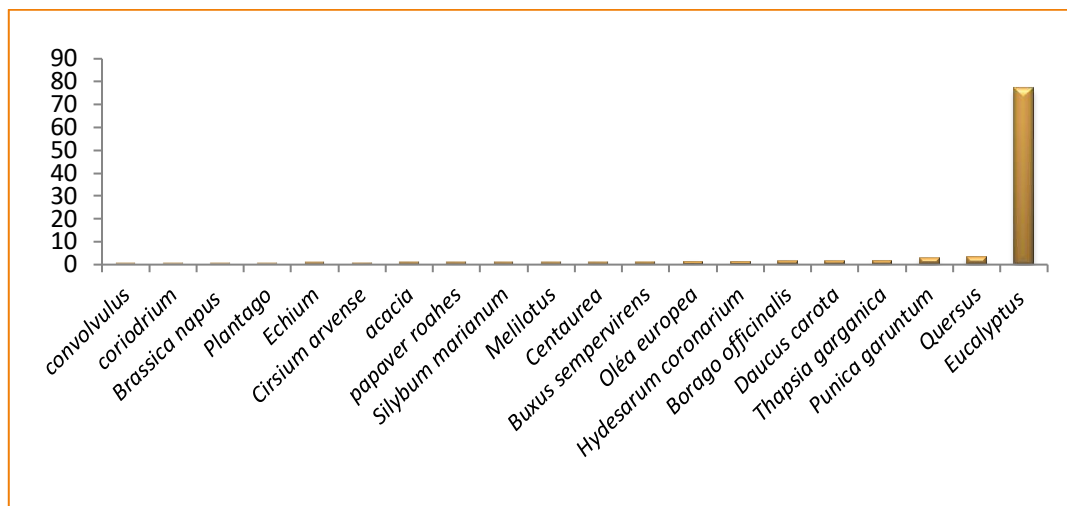


Figure 31: fréquence des spectres polliniques de miel d'*Eucalyptus*

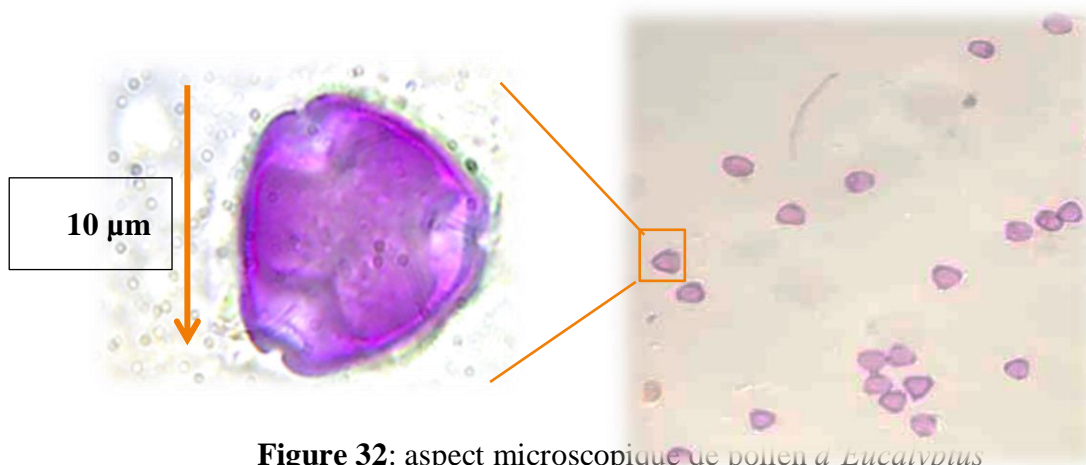


Figure 32: aspect microscopique de pollen d'*Eucalyptus*

V.2.2.7.2. Miel d'agrumes

Les miels d'agrumes représentent 16% du nombre total des miels étudiés, originaire de la région centre de Mostaganem notamment Sidi Fellagu, Sirat, Mansoura, Touahria, Masra et l'Ouset de Mostaganem (Mazagan). La plante de *Citrus* est beaucoup plus nectarifère que pollinifère donc son pollen est sous-représenté. Sa fréquence allant de 10,8 à 24,3% avec une moyenne de 15,80%. Le pollen de *Citrus* est légèrement sous-représenté ce qui confirme les observations de [Castro-Vazquez et al. \(2009\)](#). Cependant, nos résultats sont largement inférieurs à ceux trouvés dans la Mitidja (zone reconnue par l'abondance des espèces d'agrumes) par rapport à une étude menée par [Benaziza et Schweitzer \(2010\)](#) où les miels d'agrumes varient entre 50,59 et 69%. [Nair \(2014\)](#) a constaté que la fréquence relative variant entre 30% à 60% pour les échantillons de l'ouest et entre 18% à 46% pour les échantillons du centre Algérien. L'origine géographique de miels de *Citrus* montre bien le caractère régional de la production de ces miels. On les trouve essentiellement dans les zones de cultures d'agrumes à titre d'exemples, Blida (Boufarik), Mascara (Mohammadia, Hacine, El Guetna) et Mostaganem (Bougirat). Les miels d'agrumes de la région de Mostaganem sont caractérisés par la présence de pollen d'*Olea europea*, *Genista*, *Centaurea* comme pollen d'accompagnement et *Punica granatum*, *Capparis*, *Papaver rohaes*, *Sinapis alba*, *Hedysarum coronarium* comme pollen isolé important (voir figure 33). [Nair \(2014\)](#) a noté que parmi les pollens d'accompagnement des miels de *Citrus* le pollen d'olivier (*Olea*) avec une fréquence qui atteint 30,20 % dans un miel de l'Ouest Algérien.

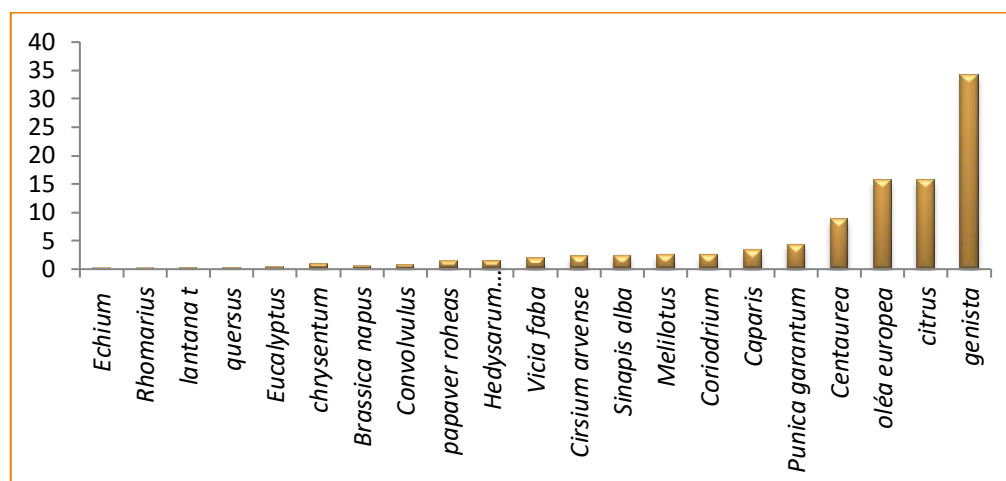


Figure 33: fréquence des spectres polliniques de miel d'agrumes

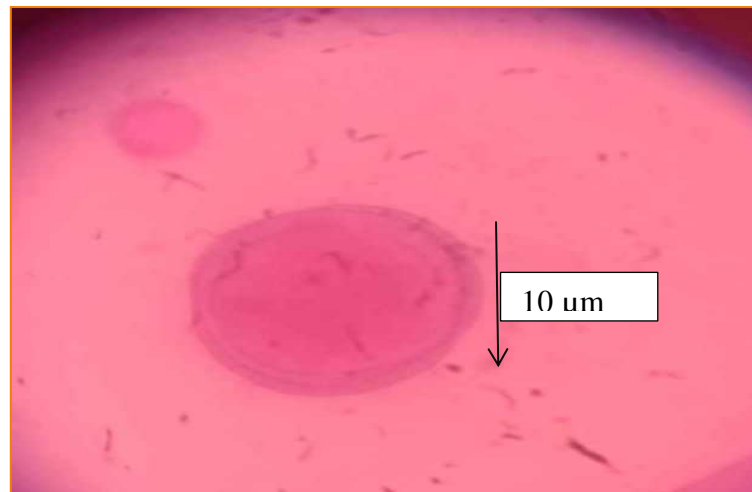


Figure 34 : aspect microscopique de pollen de *Citrus*

V.2.2.7.3. Miels de *Genista*

Neuf pour cent (9%) des échantillons ont été caractérisés comme miels de *Genista*. La famille des *Fabaceae* a été caractérisée par la dominance de *Genista*. Ces miels proviennent essentiellement de Sidi Ali et Ain Tadle, et qui confirme son importance comme ressources mellifères dans ces deux régions. Il a été constaté que les miels de *Genista* présentent une dominance de pollen de *Genista t* avec une fréquence relative qui varie de 46 à 74,03%. Les échantillons montrent également la présence des pollens, *Centaurea*, *Citrus*, *Daucus carota*, *Thapsia garganica*, *Hedysarum coronarium*, *Olea eurpea*. (voir figure 35). Homrani (2020) a également noté que les miels de *Genista* produits dans la région de Mostaganem sont caractérisés par la présence des espèces *Olea europea* et *Centaurea Eucalyptus* comme pollen d'accompagnement.

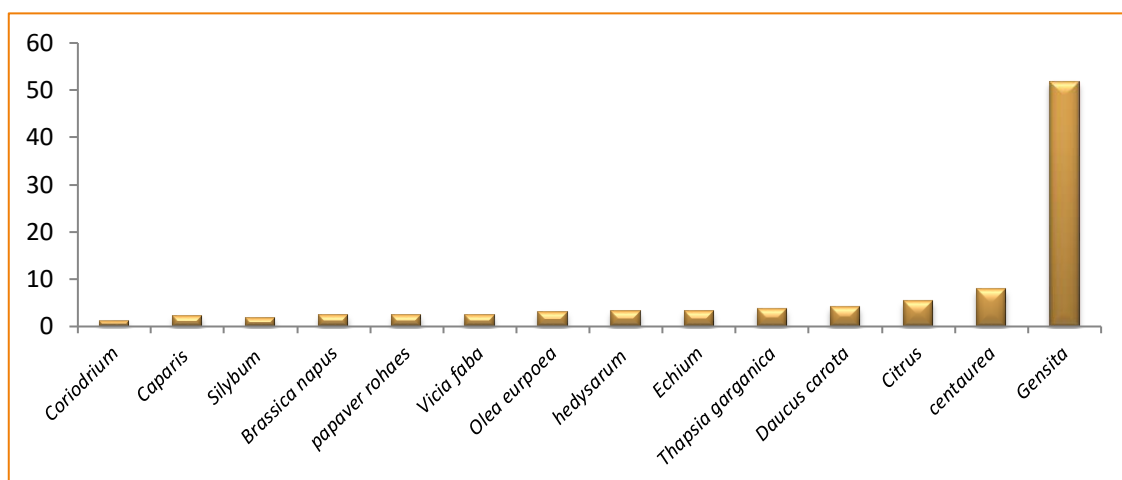


Figure 35 : fréquence des spectres polliniques de miel de *Genista*

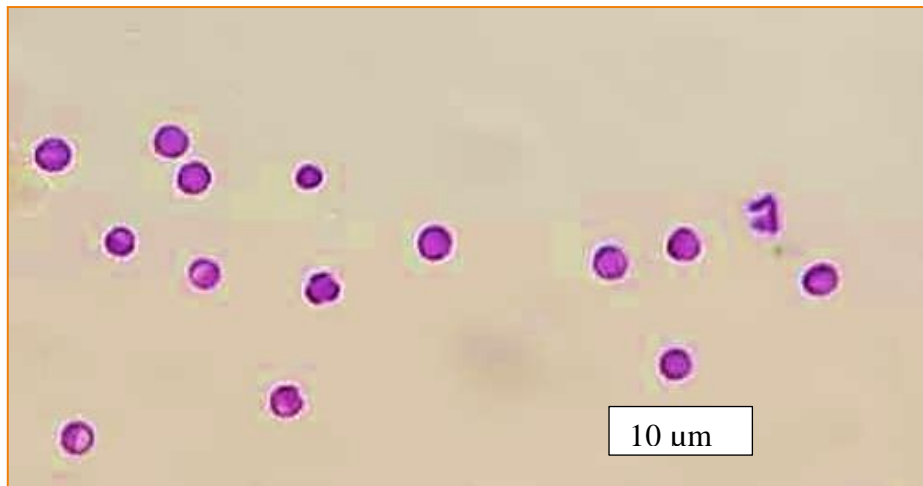


Figure 36 : aspect microscopique de pollen de *Genista*

V.2.2.7.4. Miel de carotte sauvage

Neuf pour cent (9%) des échantillons ont été représentés comme miels de carotte sauvage. Les miels ont été caractérisés par une dominance de *Daucus carota* avec une fréquence relative allant de 53,57 à 62,69%. Nos échantillons montrent également la présence de pollen de *Thapsia garganica* comme pollen d'accompagnement et les pollens suivants *Silybum marianum*, *Coriodrium sativum* comme pollen isolé important (voir figure 37). La dominance de *Daucus carota*, plante des terres humides a été signalé par Makhloufi (2015). Selon la même auteure, *Daucus* est considéré comme étant la deuxième source en nectar en Algérie. Nair (2014) et Mehdi (2016) ont constaté la présence de *Daucus carota* sous forme de pollen d'accompagnement dans les miels de l'Ouest algérien. Cependant, Ricciardelli d'Albore (1998), a ajouté que dans la région méditerranéenne, le miel de ce taxon est principalement produit en Italie.

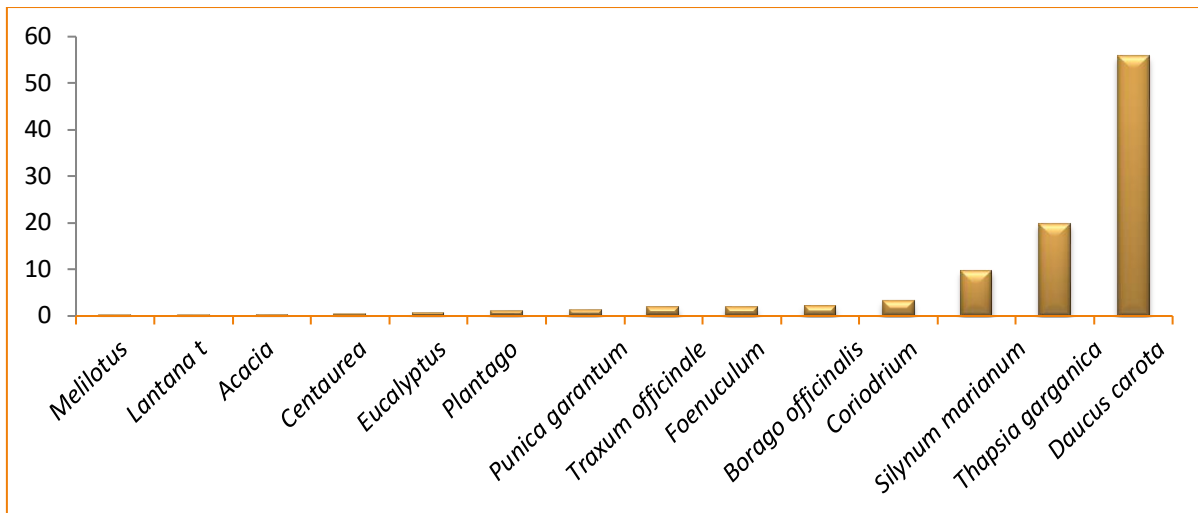


Figure 37 : fréquence des spectres polliniques de miel de carotte sauvage.



Figure 38 : aspect microscopique de pollen de *Daucus carotta*

V.2.2.7.5. Miel de grenadier

Un seul échantillon a été caractérisé comme miel de grenadier en raison de la dominance dans son spectre pollinique de l'espèce *Punica garantum*. Cette dernière est une plante fruitière, à plantation relativement facile, cultivée depuis la plus haute antiquité pour ses fruits comestibles et pour les qualités ornementales de ses grandes fleurs qui offrent une source de nectar. Le grenadier est très prisé dans tout le bassin méditerranéen. Le miel de grenadier a été caractérisé par la présence de *Eriobotya japonica*, *Malus domestica*, *Melilotus*, *Cirsium arvense*, *Papaver rohaeas* et *Convolvulus*. (voir figure 39). Dans une étude menée par [Homrani \(2020\)](#) sur 63 échantillons des miels produits en Algérie, la dominance de pollen de

Punica granatum est de 5% de la totalité des échantillons étudiés ; ces miels sont distingués par la présence des espèces *Ziziphus lotus*, *Eucalyptus*, *Tamarix*, *Genista*, *Echium*, *O. europea*, *Papaver rhoes t* et *Acacia* dans leurs spectres polliniques.

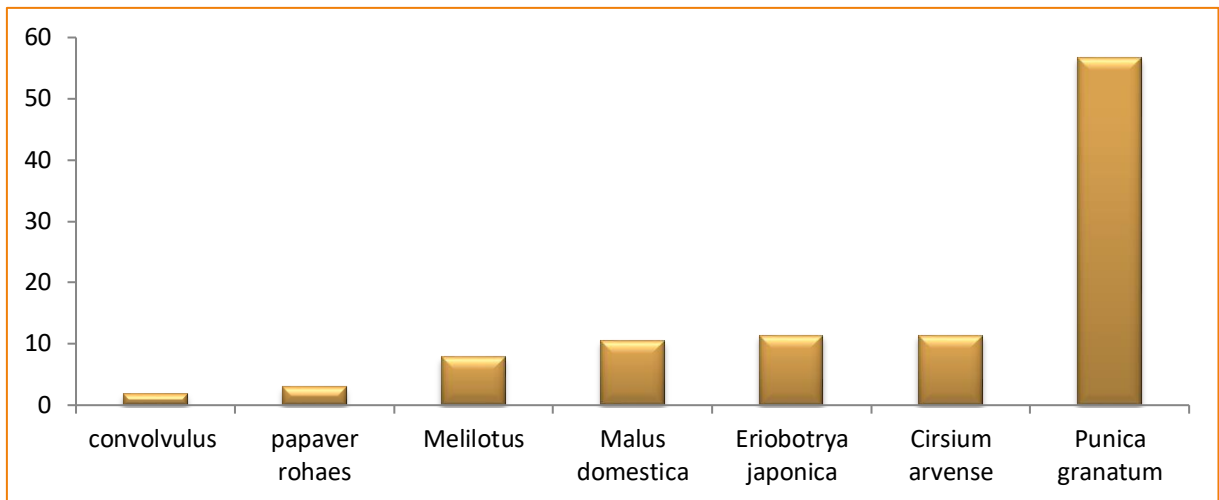


Figure 39 : fréquence des spectres polliniques de miel de grenadier.

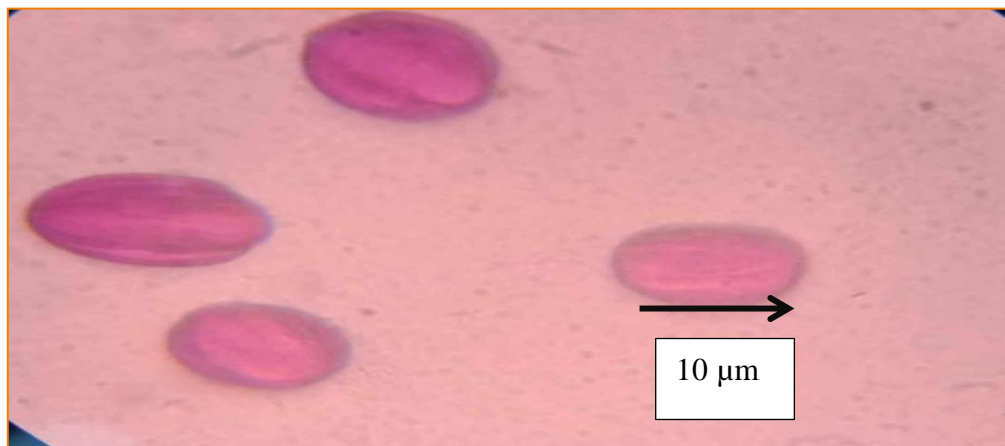


Figure 40 : aspect microscopique de pollen de *Punica granatum*

VI. Caractérisation physicochimique

VI. 1. Teneur en eau

L'humidité est un indicateur de qualité et de durée de conservation pendant le stockage (Prica *et al.*, 2014). Les valeurs du taux d'humidité obtenus pour tous les miels étudiés varient de 14,2% pour l'échantillon (E31) provenant de Sirat à $23,1 \pm 0,14\%$ pour l'échantillon (E66) provenant de Hadjadj avec une moyenne de $17,72 \pm 1,5\%$. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Homrani *et al.* (2020), soit une valeur moyenne de $17,14 \pm 1,87\%$ pour les miels algériens. Cependant, selon d'autres études menées par Boudiar *et al.*, (2022) et Selles *et al.*, (2018), les miels algériens contiennent un taux d'humidité de 16,2 %. Tandis que les miels palestiniens présentent un taux d'humidité de $18,46 \pm 1,18\%$, les miels marocains de 14,3 à 20,2%, et saoudiens de $14,9 \pm 0,2\%$ (Imtara *et al.*, 2018 ; Chakir *et al.*, 2016 ; Raweh *et al.*, 2023). Nos résultats sont plus au moins similaires à ceux trouvés dans la Malaisie où la teneur en eau est entre 14,16 et 17,53% (Moniruzzaman *et al.*, 2013), le Portugal entre 15,9 et 17,2% (Gomes *et al.*, 2010), l'Inde entre 17,2 et 21,6% (Saxena *et al.*, 2010). La variation de la teneur en eau de miel est en fonction de la variation de la saison de récolte, les conditions climatiques (air, température et humidité relative), le degré de la maturité de miel, l'origine géographique et même la teneur en humidité de l'origine botanique (Machado *et al.*, 2020).

Sur la totalité des miels étudiés, cinq échantillons (E7, E15, E20, E21, E66) provenant respectivement des localités Mesra, Sidi Ali et Hadjadj présentent des valeurs supérieures à la norme recommandée par le *codex alimentarius* qui est de 20%. Une teneur élevée en eau conduit à une fermentation du miel provoquée par des levures osmoseuses, produisant du dioxyde de carbone et de l'alcool éthylique (Khalil *et al.*, 2012). Un seul échantillon de miel sur les soixante quinze testés a une teneur en eau inférieure à 15%. Donc, le risque de fermentation est très faible dans cet échantillon, et ce miel peut être conservé sans risque d'altération de leurs propriétés physico-chimiques. Une faible teneur en eau serait un avantage pour un long stockage avec une durée de conservation prolongée de miel (El Sohaimy *et al.*, 2015). Pour diminuer le taux d'humidité des techniques sont utilisées comme la pasteurisation, qu'est une technique très critiquée à cause de ses effets néfastes sur la qualité nutritionnelle du miel (Laallam, 2018).

Au total 23 échantillons de miel présentent des teneurs supérieures à 18%, ce qui permet à une fermentation par des levures osmotolérantes et donc la formation d'alcool éthylique et de dioxyde de carbone. En plus l'alcool éthylique peut à son tour s'oxyder en acide acétique et en eau donnant un goût amer du miel (Chirife *et al.*, 2006).

Une variation significative de la teneur en eau a été constatée selon l'origine florale ($p=0,001$), les miels les plus humides sont de *Genista* avec une moyenne de $18,18\pm 1,28\%$, suivis respectivement par les miels de *Citrus* $18,01\pm 1,11\%$, les miels polyfloraux $17,82\pm 1,82\%$, les miels d'*Eucalyptus* $17,66\pm 1,18\%$, les miels de *Daucus carota* $16,64\pm 0,91\%$ et enfin le miel de *Punica granatum* $14,2\%$. Ces variations peuvent être dues à la saison de récolte. En effet, les miels de *Citrus* et *Genista* sont récoltés en printemps tandis que les fleurs de *Daucus carota*, d'*Eucalyptus* et de *Punica granatum* présentent une floraison estivale. En ce qui concerne le miel de *Punica granatum*, nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Homrani *et al.* (2020). D'après Boudiar *et al.* (2022) les miels d'*Eucalyptus* et polyfloraux proviennent du nord d'Algérie possèdent respectivement des teneurs en eau de $16,60\pm 0,05\%$ et $17,60\pm 0,17\%$. Imtara *et al.* (2018) ont enregistré une valeur de $16,20\pm 0,1\%$ pour le miel de *Citrus* provenant de Palestine, tandis que le miel de l'Égypte, la teneur en eau est de $14,9\pm 0,01\%$ (Raweh *et al.*, 2023).

Par ailleurs, nous avons également constaté une variation significative de la teneur en eau des miels selon les régions de production, les miels les plus humides sont les miels de l'Est avec une moyenne de $18,74\pm 1,42\%$ suivis par les miels de l'Ouest $17,8\pm 0,28\%$, ensuite les miels du centre par un pourcentage de $17,64\pm 1,2\%$. Les miels du Dahra sont les plus secs dans la région de Mostaganem avec un pourcentage de $17,12\pm 1,29\%$. (voir figure 41).

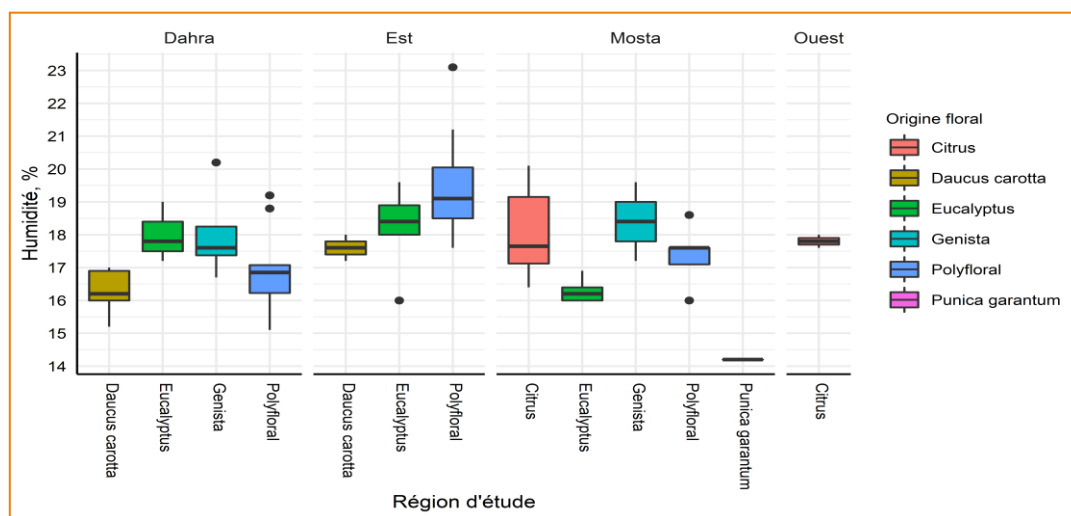


Figure 41 : teneurs en eau des miels selon l'origine florale et la région de production

VI. 2. pH

Le pH ou potentiel d'hydrogène est défini comme le cologarithme de la concentration en ions H dans une solution. L'acidité du miel provient d'un grand nombre d'acides organiques qu'il contient, dont le plus important est l'acide gluconique, provenant des sécrétions digestives des abeilles pendant l'élaboration du miel (Mbogning *et al.*, 2011).

Les valeurs moyennes des pH obtenus pour nos échantillons de miels oscillent entre 3,34 (E67) et 4,39 (E31) avec une moyenne de $3,65 \pm 0,19$. Plusieurs études ont mis en évidence le caractère acide des miels avec des valeurs pH allant de 3,70 à 4,05 et une moyenne de 3,9 pour les miels de l'Ouest algérien Douakani *et al.* (2014), de 3,32 à 3,68 pour les miels Moldova (Chirsanova *et al.*, 2021), de 3,38 à 4,19 pour les miels Serbes (Sakač *et al.*, 2018) et de 3,61 à 3,81 ceux produits au Brésil (Oliveira *et al.*, 2020). Cependant, d'autres auteurs ont constaté des valeurs de pH atteignant jusqu'à 7,51 pour les miels de Omani et (Al-Farsi *et al.*, 2018) à 6,1 pour les miels saoudiens (Aljohar *et al.*, 2018).

Le pH est un indicateur de l'origine florale du miel. En effet, selon les normes du *Codex Alimentarius* la valeur du pH est comprise entre 3,5 et 4,5 pour les miels issus de nectar et entre 5 et 5,5 pour ceux qui sont issus de miellat, ce qui confirme que notre miel est un miel de nectar. Cependant, on constate que 17 échantillons sur 75 présentent un pH légèrement inférieur à 3,5 avec une moyenne de 3,42. Un miel à pH bas est un miel fragile et présente un risque de fermentation, mais il inhibe la présence et la croissance des microorganismes (Gomes *et al.*, 2010). La détermination de la valeur du pH est importante lors de l'extraction et du stockage car il influence sur la texture, la stabilité et la durée de conservation du miel (Terrab *et al.*, 2004).

Il existe une variation significative entre les valeurs du pH et l'origine florale ($p=0$), les miels les plus acides sont les miels de *Citrus* $\text{pH} = 3,54 \pm 0,15$ suivis par les miels de *Genista* $3,57 \pm 0,18$, les miels polyfloraux $3,66 \pm 0,13$, les miels de *Daucus carota* $3,67 \pm 0,05$, les miels d'*Eucalyptus* $3,70 \pm 0,23$ et enfin le miel de *Punica granatum* $4,39 \pm 0,021$ (voir figure 42). Homrani *et al.* (2020) ont également montré que les miels de *Citrus* sont les plus acides avec un pH de $3,86 \pm 0,2$. Les miels d'*Eucalyptus* provenant d'Ecuador (Inde) présentent un pH de $4 \pm 0,16$. (Valdés-Silverio *et al.*, 2018). Abselami *et al.* (2018) ont confirmé que la valeur du pH est influée par l'origine florale, indiquant que les miels de *Citrus*, polyfloraux et d'*Eucalyptus* marocains présentent des pH respectivement $3,79 \pm 0,1$; $4,3 \pm 0,2$; $4,22 \pm 0,59$.

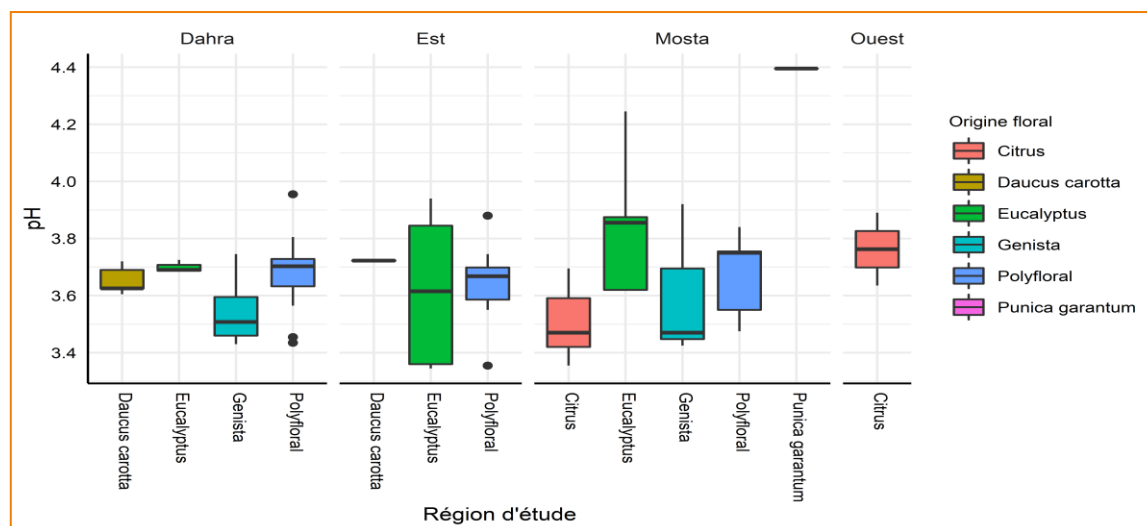


Figure 42 : valeurs du pH des miels selon l'origine florale et la région de production

VI.3. Conductivité électrique

Les valeurs de la conductivité électrique sont comprises entre $0,157 \pm 0,00$ (E61) et $1,22 \pm 0,00$ (E64) mS/cm avec une moyenne de $0,552 \pm 0,21$ mS/cm. Nos résultats sont semblables à ceux d'Oroian *et al.* (2019) pour les miels produits en Roumanie avec des valeurs allant de 0,157 à 1,007 mS/cm. Cenet *et al.* (2017) ont enregistré des valeurs allant de $0,24 \pm 0,21$ à $0,9 \pm 0,1$ mS/cm pour les miels produits en Turquie. Au Bengladesh Rabiul *et al.* (2017) signalent des valeurs moyennes de conductivité allant de $0,3 \pm 0,0$ à $0,5 \pm 0,1$ mS/cm).

La mesure de la conductivité est utilisée aujourd'hui comme contrôle de routine pour le miel. C'est un critère important pour la détermination de l'origine botanique du miel. En effet, ce paramètre permet de distinguer les miels floraux des miels de miellat (Bogdanov *et al.*, 2004). D'après les résultats obtenus, 64 échantillons de miel ont des valeurs inférieures à 0,8 mS/cm, correspondant à des miels de nectar selon le Codex Alimentarius (2001). En revanche, onze échantillons de miel (E17, E39, E40, E41, E50, E51, E58, E64, E66, E69, E70) sur 75 présentent des valeurs supérieures à 0,8 mS/cm. Selon Gonnet (1986), les miels de nectar ont une conductivité allant de 0,1 à 0,5 mS/cm, tandis que les miels de miellat sont entre 1 et 1,5 mS/cm. Les valeurs médianes observées pour ces onze (11) échantillons suggèrent qu'il s'agit de mélange de deux origines (nectar + miellat). Il existe un rapport linéaire entre la conductivité électrique et la teneur en matières minérales d'un miel (El Sohaimy *et al.*, 2015). Un excès en matières minérales dans le miel peut être apporté par le pollen, le nectar des fleurs ou le miellat. En outre, la conductivité électrique peut être affectée par sa teneur en acides organiques et en protéines présents dans le miel.

On a constaté également, que les miels polyfloraux présentent la conductivité la plus élevée avec une moyenne de $0,63 \pm 0,26$ mS/cm suivis par les miels d'*Eucalyptus* $0,56 \pm 0,19$ mS/cm, les miels de *Daucus carota* $0,505 \pm 0,06$ mS/cm, le miel de *Punica granatum* $0,504 \pm 0,00$ mS/cm, les miels de *Genista* $0,465 \pm 0,162$ mS/cm et en fin les miels de *Citrus* $0,404 \pm 0,10$ mS/cm. Bakchiche *et al.* (2018) a signalé que les miels polyfloraux provenant du Sahara algérien présentent une CE allant de $0,347 \pm 0,009$ à $0,372 \pm 0,008$ mS/cm, une valeur inférieure par rapport à celle qu'on a obtenue, cela peut s'expliquer par les variations des conditions climatiques et pédologiques entre les différentes régions en Algérie. La même constatation a été relevée pour les miels d'*Eucalyptus* marocains qui ont montré une valeur moyenne de conductivité de $0,246$ mS/cm (Belhaj *et al.*, 2015). C'est un paramètre qui montre une grande variabilité selon l'origine florale et considéré comme l'un des meilleurs paramètres pour distinguer les différentes origines florales du miel (Terrab *et al.*, 2004).

Une variation significative a été observée entre les valeurs de la CE selon la région de production ($p=0,02$). En effet, les miels de l'Est de Mostaganem présentent la conductivité la plus élevée avec une moyenne de $0,656 \pm 0,19$ mS/cm, suivis par les miels de Dahra avec une moyenne de $0,533 \pm 0,154$ mS/cm et les miels de l'Ouest $0,511 \pm 0,08$ mS/cm, tandis que les miels de centre de Mostaganem présentent la conductivité la plus basse avec une moyenne de $0,476 \pm 0,17$ mS/cm. (voir figure 43).

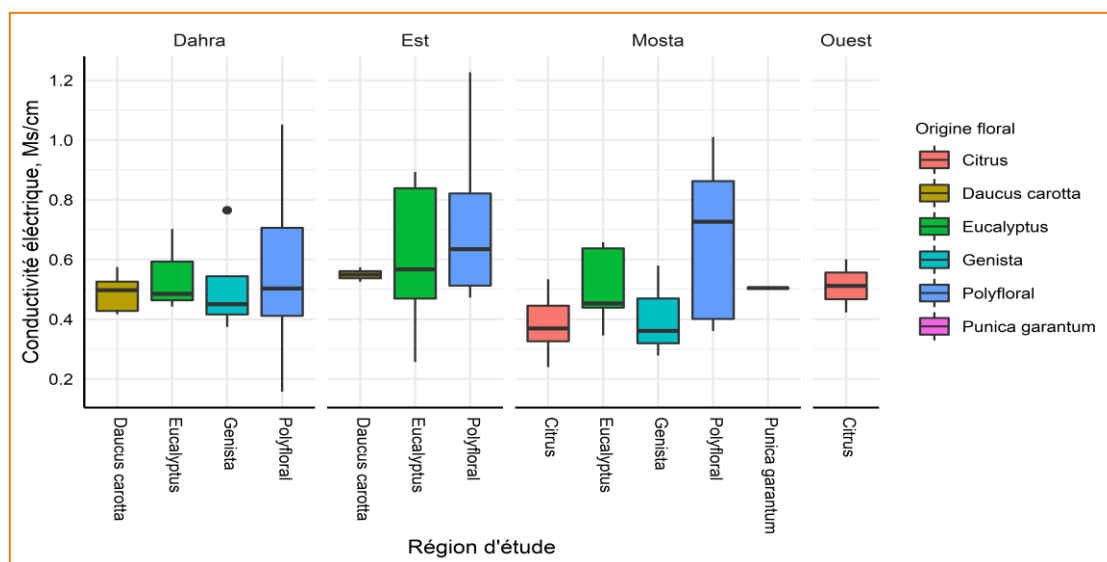


Figure 43 : valeurs de la conductivité électrique des miels selon l'origine florale et la région de production.

VI.4. Teneur en Hydroxyméthyl-furfural

Le HMF est le résultat de dégradation du fructose et du glucose dans un milieu acide. Dans les miels frais, le HMF n'est présent qu'à l'état de traces (1 à 3mg/kg) et sa teneur augmente avec la température, la durée de stockage, et en cas de surchauffage (Ajlouni *et al.*, 2010); c'est un indicateur de fraîcheur et de qualité (Escriche *et al.*, 2008). Les caractéristiques chimiques du miel tels que le pH, la teneur en minéraux et l'acidité totale affectent également la teneur en HMF, la présence d'acides organiques et la forte teneur en eau favorisent sa production (Kalabova *et al.*, 2003). Les valeurs de la teneur en HMF des échantillons des miels oscillent de $5,19 \pm 0,26$ à $45,54 \pm 0,93$ mg/kg avec une moyenne de $16,14 \pm 9,61$ mg/kg.

Les résultats obtenus s'accordent avec les normes recommandées par le *Codex Alimentarius*, exception faite pour quatre échantillons présentant des teneurs supérieures à 40mg/kg (E62, E63, E66, E70). Cette augmentation de la concentration en HMF peut se justifier par le fait que la formation d'HMF est d'autant plus rapide que les miels sont plus acides (Benaziza-Bouchema *et al.*, 2010), ou bien par un chauffage lors de l'extraction pour faciliter l'écoulement du miel.

Selon les normes recommandées par *Codex Alimentarius* (2001), la teneur en HMF ne doit pas dépasser 40 mg/kg dans les régions à climat tempéré, tandis que la teneur en HMF de zones tropicales ne doit pas dépasser 80 mg/kg. Les pays européens tels que l'Allemagne, l'Italie, la Finlande, la Suisse, les organisations d'apiculteurs ont mis une valeur maximale de 15 mg/kg pour un étiquetage spécial miel « de qualité » ou miel « vierge » (Bogdanov *et al.*, 2004). Sur 75 échantillons de miels 45 présentent une teneur en HMF inférieure à 15mg/kg ; ces miels sont considérés comme des miels de qualité (voir figure 44). Achouri *et al.* (2019) ont trouvés des valeurs en HMF de 5,90 à 47,10 mg/kg avec une moyenne de $21,15 \pm 11,7$ mg/kg dans les miels du secteur Oranais, tandis que Draiaia *et al.* (2015) ont trouvé des teneurs entre 0,17 à 571,9mg/kg dans les miels du centre et l'Est algérien. Les miels marocains présentent des valeurs en HMF de l'ordre de 0,09 à 53,38 mg/kg (Chakir *et al.*, 2016) tandis que les miels tunisiens présentent une teneur en HMF entre 12,07 et 27,43 mg/kg (Boussaid *et al.*, 2018).

Il faut noter que le problème majeur est celui des températures élevées de stockage induisant à une augmentation de la teneur de ce composé.

Il est nécessaire de sensibiliser les apiculteurs afin de réviser les différentes techniques pour éviter d'exposer les miels à une chaleur excessive pendant l'extraction.

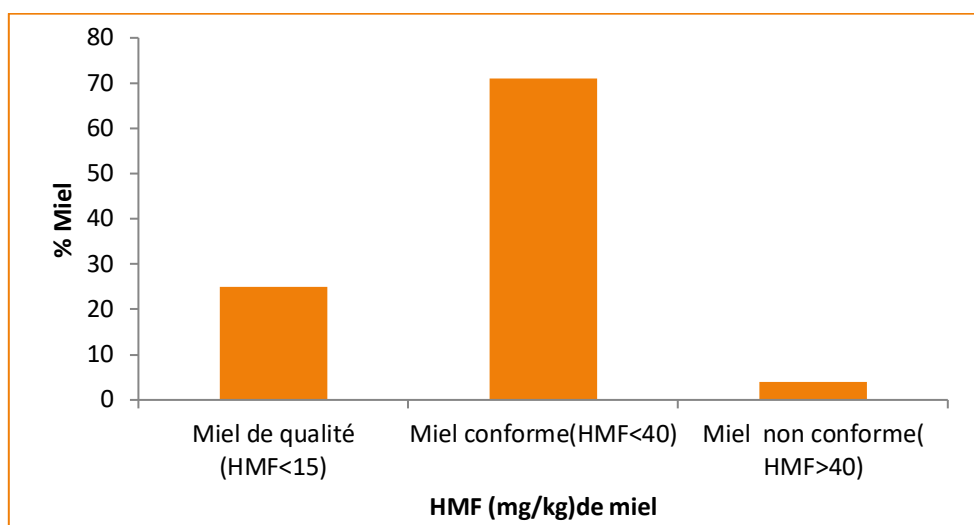


Figure 44 : répartition des miels selon leurs teneurs en HMF

VI .5. Dosage des sucres

De nombreuses études ont décrit les profils des composés du miel qui pourraient représenter une empreinte d'origines spécifiques, parmi eux, le profil glucidique (Se *et al.*, 2018). Les principaux sucres du miel sont le fructose et le glucose dont la somme associée à la teneur en sucrose constitue un critère de qualité. Le miel contient également d'autres mono, di, tri, oligo et polysaccharides (Bogdanov *et al.*, 2008). Les teneurs en sucres uniques et les rapports isotopiques du sucre sont des paramètres intéressants pour détecter les falsifications du miel (Cengiz *et al.*, 2018). Dans notre étude, le dosage des sucres des huit échantillons de miel (quatre miels d'*Eucalyptus* E42, E43, E44, E39 et quatre miels de *Daucus carota* E68, E36, E27, E26) a été réalisé par la méthode de RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) et les sucres dosés sont : deux monosaccharides (glucose, fructose), trois disaccharides (saccharose, maltose, turanose) et un trisaccharide (Mélézitose).

En ce qui concerne les sucres réducteurs, les miels de *Daucus carota* et les miels d'*Eucalyptus* présentent des teneurs allant de 71 à 74,9% avec une moyenne de l'ordre de $71,5 \pm 2,27$ % et de 67,1 à 70,5% avec une moyenne de l'ordre $68,95 \pm 1,42$ %. Ces valeurs sont en accord avec les exigences recommandées par le *Codex Alimentarius* une teneur en sucres réducteurs supérieure à >60% pour le miel de nectar, et >45 g/100 g pour les miels de miellat. Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Doukani *et al.* (2014) concernant les

miels de l'Ouest algérien (64,5 à 65,8%), ainsi que ceux des miels Bulgares, rapportant des taux entre 71,31% et 73,19%, obtenus également par la RMN (Balkanska *et al.*, 2023). Des miels Saoudiens ont été mesurés avec des teneurs en sucres réducteurs variant de $58 \pm 0,1$ à $82 \pm 0,2\%$, avec une moyenne de $71,2 \pm 1,3\%$ (Raweh *et al.*, 2023). En Ethiopie, la teneur en sucres réducteurs varie de $45,1 \pm 2,48\%$ à $63,8 \pm 1,2\%$ (Aschalew *et al.*, 2020). Il est important de noter que la composition en sucre du miel montre une grande variabilité due à l'origine botanique, et dans une moindre mesure, aux conditions climatiques et géographiques (Khalil *et al.*, 2011).

Le fructose a montré des teneurs entre 37,9 et 41,95% avec une moyenne de $39,85 \pm 1,48\%$ pour les miels de *Daucus carota* et entre 37,2 et 40,3 % avec une moyenne de $38,45 \pm 1,36\%$ pour les miels d'*Eucalyptus* (voir figure 45), tandis que le taux de glucose varie de 30,9 à 33,4% avec une moyenne de $32,05 \pm 1,06\%$ (miel de *Daucus carota*) et de 28,6 à 33,3 % avec une moyenne de $30,52 \pm 2,14$ et (miel d'*Eucalyptus*) (voir figure 46). Les constatations faites dans cette étude corroborent les conclusions de Pascual-Mate *et al.* (2018) sur les miels espagnols, qui rapportent des taux de glucose compris entre 26,86% et 31,38%. En Roumanie, les concentrations en glucose varient de 27,24% à 46,30% (Scripcă *et al.*, 2021), tandis qu'en Estonie, ces valeurs s'établissent entre 29,2% et 39,7% (Kivima *et al.*, 2021).

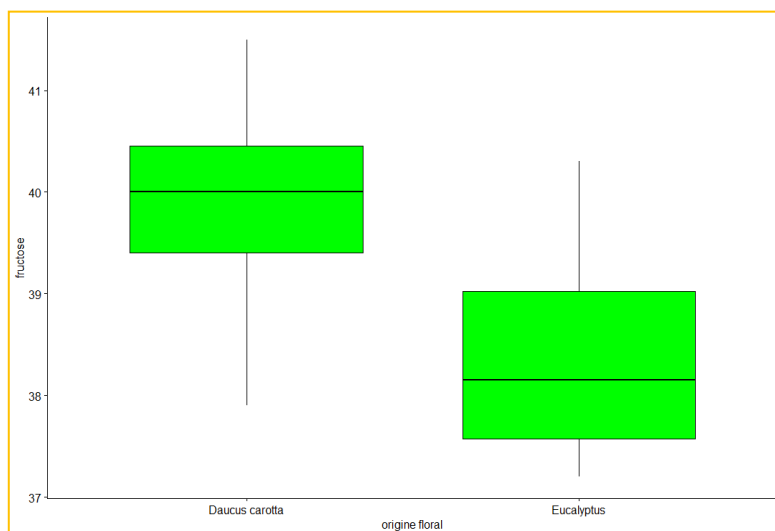


Figure 45 : teneur en fructose selon l'origine florale

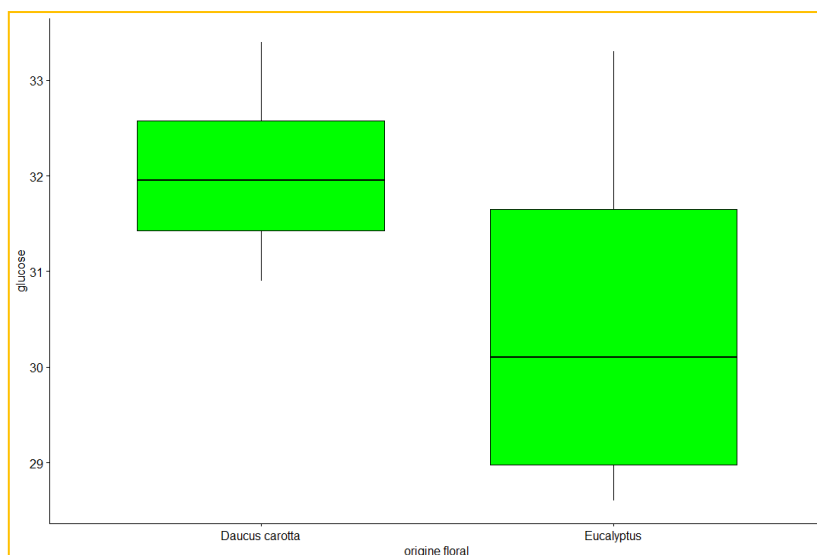


Figure 46 : teneur en glucose selon l'origine florale

La cristallisation est un phénomène naturel (Özbalci *et al.*, 2013). La tendance à la cristallisation peut être prédite par différents indices. Le miel cristallise plus rapide avec un rapport fructose/ glucose (F/G) inférieur à 1,11 ; un pourcentage de glucose supérieur à 35% ; un rapport glucose /eau (G/W) supérieur à 2,16 ou encore avec un rapport de (glucose-humidité)/fructose ((G-W)/F) supérieur à 0,49. Le miel cristallise lentement lorsque (F/G) est supérieur à 1,33, une teneur en glucose inférieur à 28%, le rapport (G/W) est inférieur à 1,70 et lorsque le rapport (G-W)/F est inférieur à 0,30 (Cavia *et al.*, 2002 ; Smanalieva *et Senge*, 2009). Deux échantillons (E42 et E39) sur huit montrent que le rapport (F/G) >1,33 donc ces miels cristallisent lentement et six miels montrent un rapport (F/G) >1,11 et sont moins sensibles à la cristallisation. Trois échantillons (E42, E44, E39) montrent que le rapport (G/W) est inférieur à 1,70 donc ces miel présentent une cristallisation lente et un échantillon à cristallisation rapide (G/W)>2,16. Louveaux (1985) a signalé que le rapport glucose/eau (G/E) est plus approprié que le rapport F/G pour la prédiction de la cristallisation du miel (voir figure 47).

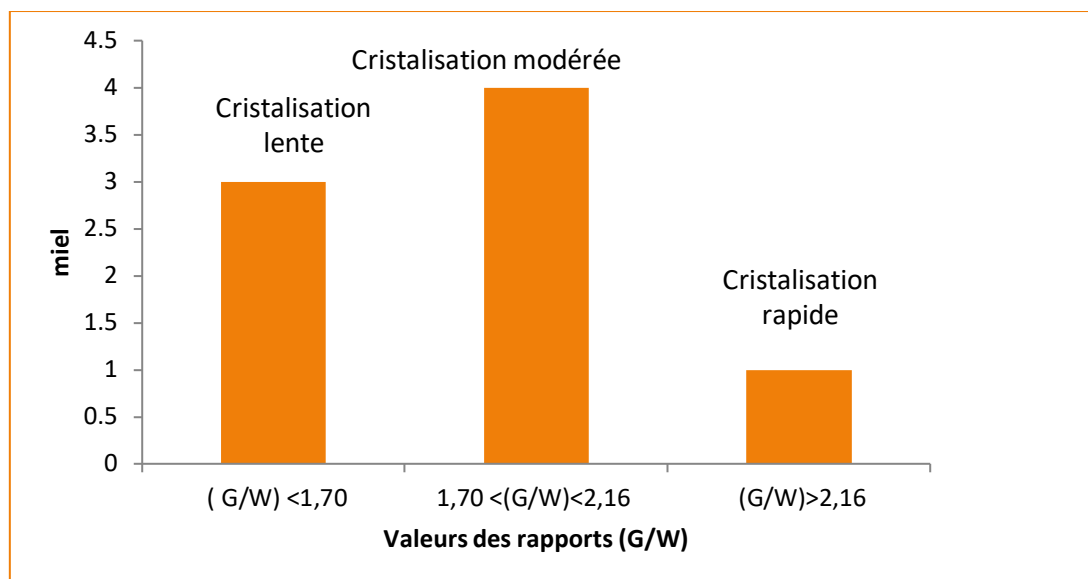


Figure 47 : cristallisation des miels selon le rapport (glucose/eau).

Trois disaccharides ont été dosés (saccharose, maltose, turanose). Le saccharose est un important sucre sur le plan législatif ; sa limite maximale est de 5%, (10% pour les miels d'*Eucalyptus*) *Codex Alimentarius* (2001), certaines exceptions (> 5%) pour les miels de tréfle et de lavande. Nos résultats montrent que les miels analysés sont conformes aux normes établies par le *Codex Alimentarius* (<1,9%). Ces faibles concentrations en saccharose suggèrent un stade avancé de maturation du miel, car la conversion du saccharose en glucose et fructose est complète (Pasini *et al.*, 2013) et également l'absence de toute falsification par l'ajout d'un sirop commercial. Une teneur plus élevée en saccharose dans le miel pourrait être attribuée à des raisons telles que la suralimentation des abeilles avec du sirop de saccharose, falsification ou la récolte précoce de miel (Guler *et al.*, 2007). Selon Homrani *et al.* (2020), les miels algériens respectent les normes, avec une teneur en saccharose comprise entre 0,5% et 3,3%, soit une valeur moyenne d'environ $1,25 \pm 0,5\%$. Les travaux de Makhloufi *et al.* (2021) ont révélé des concentrations allant de $0,93 \pm 0,1$ à $3,1 \pm 1,4\%$ dans les miels algériens. Par ailleurs, Belhaj *et al.* (2015) ont indiqué que les miels marocains contiennent des taux de saccharose de 2,15% à 3,10%, tandis que des concentrations comprises entre $0,1 \pm 0,07\%$ et $1,5 \pm 2,47\%$ ont été signalées dans les miels espagnols (Pascual-Mat *et al.*, 2018).

Les concentrations en maltose dans les échantillons de miel oscillent de $1,3 \pm 11\%$ à $2,2 \pm 11\%$ avec une moyenne de $1,92 \pm 0,41\%$ pour les miels de *Daucus carota* et de $1,3 \pm 11$ à $2,1\%$ avec une moyenne de $1,62 \pm 0,42\%$ pour les miels d'*Eucalyptus* (voir figure 48). Des résultats similaires ont été rapportés par Ouchemoukh *et al.* (2010) sur les miels d'*Eucalyptus* algérien avec une concentration moyenne en maltose de $1,62 \pm 0,84$. Des valeurs légèrement

inférieures ont été rapportées par [Homrani et al. \(2020\)](#) pour les miels des apiacées produits en Algérie (1,10%). D'après [Cavia et al. \(2006\)](#) la teneur des miels naturels en maltose est environ 2 à 3 fois plus élevée que de celle du saccharose. Aucune réglementation n'exige un seuil limite pour le maltose. Cependant, Une forte concentration de ce disaccharide peut être un indicateur de falsification. En effet, certains apiculteurs ajoutent le sirop de maltose pour augmenter la quantité du produit. Nos valeurs de maltose indiquent que nos miels n'ont pas fait l'objet de falsification par l'ajout sirop de sucre ou de l'hydrolysate d'amidon.

La teneur en turanose des échantillons de miels analysés varie de de $1,4 \pm 8$ à $1,9 \pm 8\%$ et de $1,6 \pm 8$ à $2 \pm 8\%$ pour les miels de *Daucus carota* et d'*Euaclyptus*. Ces valeurs s'avèrent être légèrement inférieures à celles rapportées par [Chettoum et al. \(2023\)](#) sur les miels produits dans la région de Annaba ($1,8 \pm 0,56\%$ à $2,15 \pm 0,49\%$). Toutefois, elles semblent être supérieures à celles rapportées par [Balkanska et al. \(2023\)](#) sur les miels provenant de Bulgarie ($0,28\%$ à $1,41\%$). Par ailleurs, comme indiqué dans [la figure 49](#), on constate une variation de la teneur en turanose des échantillons selon leur origine florale. Les miels d'*Eucalyptus* présentent des concentrations plus élevées en turanose ($1,82 \pm 1,70\%$) par rapport à ceux de *Daucus carota* ($1,52 \pm 0,25\%$). Ces observations concordent avec celles de [Homrani et al. \(2020\)](#) sur les miels algériens qui ont constaté que les miels monofloraux d'*Eucalyptus* sont plus riches en turanose que les miels des Apiacées. Cependant, ces résultats sont en contradiction avec ceux d'[Ouchemoukh et al. \(2010\)](#) qui ont rapporté que les miels d'*Eucalyptus* renferment des concentrations plus faibles en turanose ($0,85 \pm 0,49\%$) que ceux des apiacées ($1,41 \pm 0,47\%$).

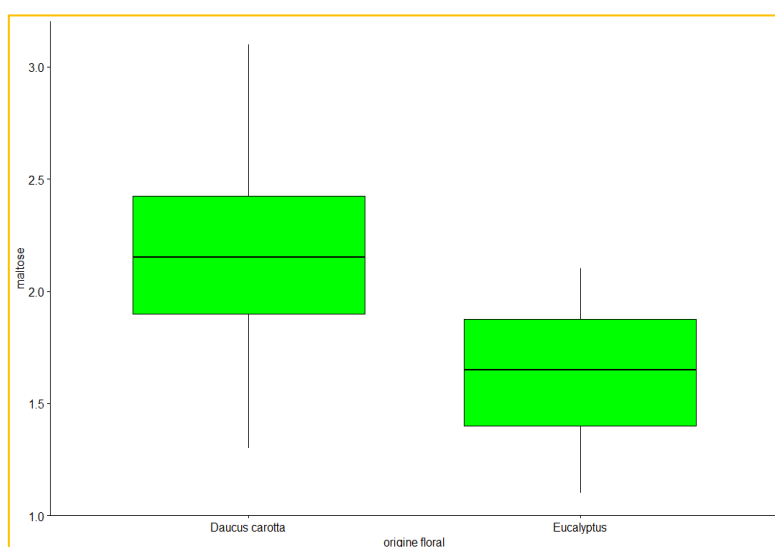


Figure 48 : teneur en maltose selon l'origine florale

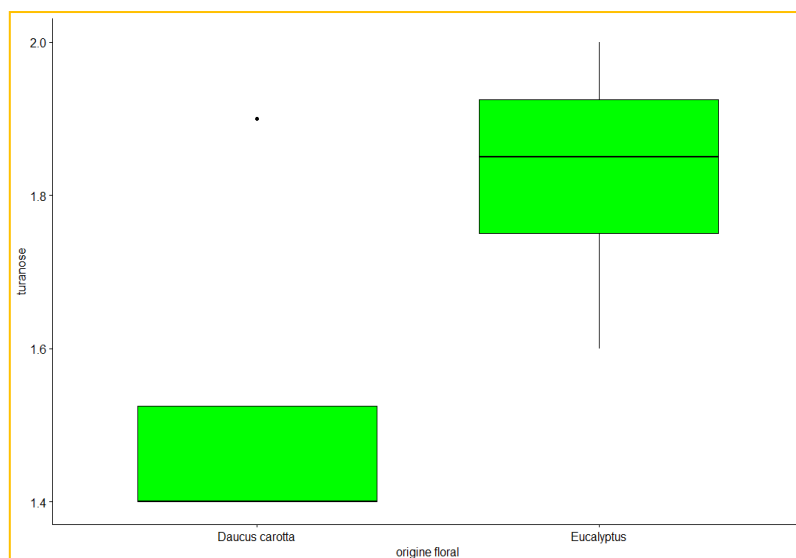


Figure 49 : teneur en turanose selon l'origine floral

Les résultats obtenus montrent que les concentrations en mélézitose des miels testés de *Daucus carota* et d'*Eucalyptus* sont inférieures à 3,7% . Le dosage de ce sucre a été proposé pour différencier les miels de nectar de ceux de miellat. Les miels de miellat sont généralement caractérisés par une concentration plus élevée en oligosaccharides, en particulier les trisaccharides tels que le raffinose et mélézitose, qui ne sont généralement pas trouvés ou en très faibles concentrations dans les miels de nectar (Kaškonienė, Venskutonis et Čeksterytė, 2010 ; Victorita *et al.*, 2008). D'après Olga Escuredo *et al.* (2014), la quantité de mélézitose dans les miels de miellat d'Espagne est de 0,14%, la présence de ce sucre dans nos échantillons peut signifier qu'une partie du miel est fabriquée à partir de miellat (Rybak-Chmielewska *et al.*, 2013). Il faut toutefois signaler que la méthode de dosage utilisée dans notre étude, dans laquelle un seuil limite de détection de 3,7% dans les miels a été établi pour ce sucre ne nous permet pas d'affirmer leur origine botanique.

Cependant, en raison des résultats obtenus du pH pour tous les échantillons qui était inférieur à 4,5 ainsi que la conductivité qui était inférieur à 0,8 mS/cm montre que ce sont des miels de nectar ou mélange de miel de nectar et de miellat. D'après plusieurs auteurs la teneur en mélézitose de miels algériens varie de 0,02 à 0,43% (Mekious *et al.*, 2015 ; Ouchemoukh *et al.*, 2010).

La contamination des miels par du miellat peut s'expliquer par la faible richesse floristique de la zones de butinage poussant les abeilles à collecter le miellat, ou bien à une forte présence d'insectes responsables de la sécrétion de miellat dans la zone de butinage. Le mélézitose peut commencer une cristallisation du miel à partir d'une concentration de 8 à 22%

(Howse, 2017). Par ailleurs, La forte teneur en mélézitose du miel réduit ses caractéristiques organoleptiques en réduisant le goût sucré (Mussatto *et Mancilha*, 2007) et en contribuant au goût inacceptable par les acides salicyliques et maliques considérés comme fiables marqueurs chimiques pour miel de miellat (Sopow *et al.*, 2017). Le test ANOVA a révélé qu'il ya une variation non significative de la concentration de chaque sucre dosé avec l'origine floral et l'origine géographique.

VI.6.Intensité de la couleur ABS₄₅₀

La couleur du miel est la première propriété physique et sensorielle perçue par le consommateur, constitue un facteur déterminant son acceptabilité (El Sohaimy *et al.*, 2015), dépendante de l'origine botanique. En effet, la couleur du miel est un élément important dans l'identification de l'origine florale (Moniruzzaman *et al.*, 2013).

Les valeurs de l'intensité de la couleur obtenues par la mesure de l'absorbance à 450 nm montrent une variation comprise entre $0,360 \pm 0,3$ (E16, miel de *Genista*) et $2,458 \pm 0,03$ UA (E64, miel polyfloral) avec une moyenne $0,988 \pm 0,39$ UA. Ces valeurs se rapprochent de celles rapportées par Doukani *et al.* (2014) sur les miels de l'Ouest algérien (0,447 à 1,163 UA). D'autres études ont révélé des concentrations inférieures aux notres, dans les miels palestiniens ($0,074 \pm 0,017$ à $0,195 \pm 0,01$ UA), slovéniens (0,07 à 0,495 UA), indiens (0,524 à 1,678 UA) (Bertoncelj *et al.*, 2007 ;Saxena *et al.*, 2010 Imtara *et al.* (2018). A l'inverse, l'étude menée par (Beretta *et al.*, 2015) sur les miels italiens a révélé une plus grande variation de couleur allant de 0,025 à 3,413 UA, montrant ainsi une plus grande diversité de couleur .

En fonction de son origine botanique, le miel présente une palette des couleurs très étendue allant du jaune très pâle, presque blanc, au brun foncé, et englobant toutes les nuances de jaune, d'orange, de marron, voire même de vert. D'après Moniruzzaman *et al.* (2013), ce paramètre est un élément important dans l'identification de l'origine florale des miels, il est utilisé dans la classification des miels monofloraux. Ces observations ont été confirmées dans notre étude puisque une variation significative a été détectée entre l'intensité de la couleur des miels produits dans la région de Mostaganem et leur origine florale ($p=0,015$). Les miels les plus clairs sont les miels de *Citrus* avec une moyenne de $0,667 \pm 0,25$ UA suivis par les miels de *Genista* $0,700 \pm 0,27$ UA, le miel de *Punica granatum* $0,807 \pm 0,01$ UA, miels d'*Eucalyptus* $0,981 \pm 0,26$ UA ; tandis que les miels les plus foncé sont ceux de *Daucus carota* $1,046 \pm 0,17$ UA et polyfloraux $1,198 \pm 0,46$ UA. En comparaison avec

nos résultats, pour des miels de mêmes origines botaniques, [Mekiouss et al. \(2015\)](#) a décrit les mêmes constatations, les miels à dominance de genre de *Citrus* sont clairs et les miels à dominance des espèces des genres *Eucalyptus* et *Daucus carota* sont les plus foncés.

Le test ANOVA a révélé une variation significative de la couleur selon la région de récolte ($p=0$), les miels les plus foncés sont les miels provenant de l'Est avec une moyenne de la couleur de $1,22\pm 0,44$ UA suivis par les miels de l'Ouest et du Dahra avec respectivement des moyennes de $1,10\pm 0,15$ et $1,00\pm 0,44$ UA, les plus clairs sont les miels du centre avec une moyenne de $0,741\pm 0,32$ UA. (voir [figure 50](#)). Selon [Gomes et al. \(2010\)](#), la couleur varie fortement selon l'origine géographique principalement en raison de la richesse du sol en minéraux. Par ailleurs, ce paramètre est étroitement lié à la composition chimique du miel, principalement aux pigments tels que les caroténoïdes, les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui contribuent également aux propriétés antioxydantes ([Frankel et al., 1998](#) ; [Juszczak et al., 2009](#) ; [Eleazu et al., 2013](#)). Selon plusieurs auteurs les miels de couleur foncée présentaient des teneurs totales en phénols et en flavonoïdes totaux plus élevées, et par conséquent une activité antioxydante plus élevée que les miels clairs ([Meda et al., 2005](#) ; [Alvarez-Suarez et al., 2010](#)).

D'autres chercheurs ont déclaré que la couleur du miel dépend de sa teneur en minéraux, plus la concentration de ce dernier est élevée plus le miel est de couleur foncée. Par ailleurs, le miel a tendance à s'assombrir avec le temps ([Rodríguez-Flores et al., 2015](#)). La couleur peut également être affectée par les pratiques de gestion de l'apiculteur, notamment par la fréquence de changement de la cire. ([Kavanagh et al., 2019](#)). D'autres facteurs provoquent le brunissement de miel tels que : le temps de stockage, l'utilisation des vieux rayons, l'exposition à la lumière et le contact avec des métaux ([Moniruzzaman et al., 2013](#)),

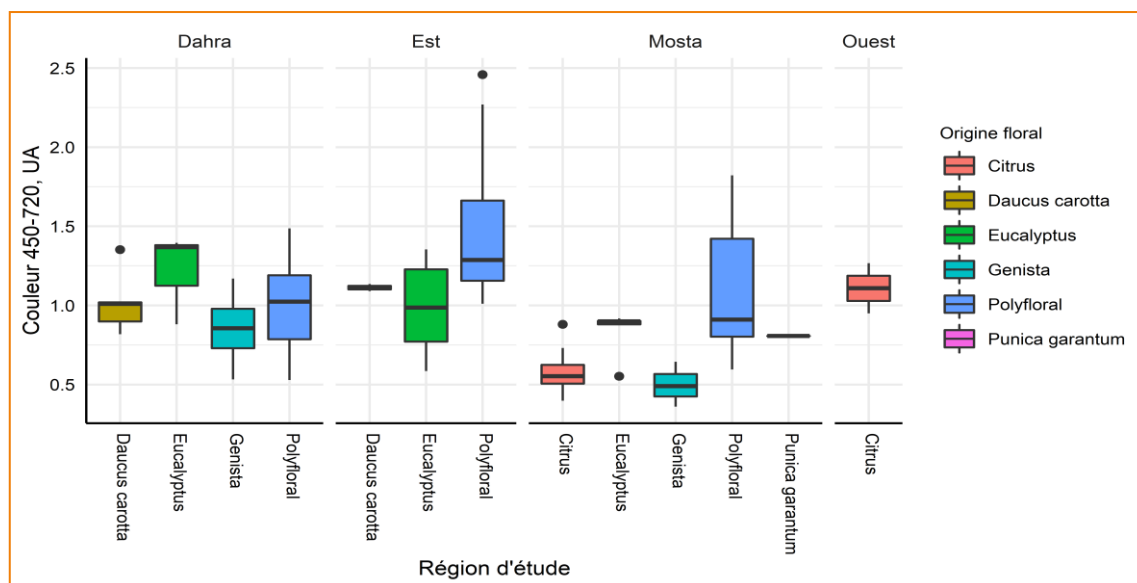


Figure 50 : variation de l'intensité de la couleur selon l'origine florale et la région de production

L'augmentation de l'intensité de la couleur semble être liée à une augmentation des propriétés antioxydantes et de la teneur en polyphénols du miel (Beretta *et al.*, 2005). En effet, il existe une forte corrélation entre l'activité antioxydante et leurs composés phénoliques avec l'intensité de la couleur dans les différents types du miel (Irina *et al.*, 2010).

VII. Etude des propriétés biologiques

VII.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont des composés bioactifs que l'on trouve en quantités variables dans les aliments naturels et notamment dans le miel. Ces molécules possèdent une grande diversité de structures chimiques et de propriétés bénéfiques pour la santé. Ils sont réputés pour leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Manach *et al.*, 2004).

La teneur en PT est un critère essentiel pour déterminer la qualité et évaluer les propriétés nutritionnelles et thérapeutiques des différents types de miels (Al Mamary *et al.*, 2002). Les principaux composés phénoliques du miel sont les flavonoides (chrysin, pinosebrine, quercétine, galangine, kaempférol, hespérétine et mycéticine), acides phénoliques (acides caféique, coumarique, ellagique, férulique et chlorogénique).

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé en utilisant le réactif de folin-ciocalteu par la méthode colorimétrique de Singleton *et al.* (1999), en se basant sur une courbe d'étalonnage (voir figure 51). Les teneurs en PT sont calculées, sont exprimées en mg équivalent acide gallique.

Nos résultats montrent une grande variabilité des teneurs en PT entre les différents échantillons allant de $6,35 \pm 0,42$ mg EAG/100g (E2, Citrus, Sidi Felag) à $107,59 \pm 0,37$ mg EAG/100g (E50, polyfloral, Sidi Ali) avec une moyenne de $47,32 \pm 23,05$ mg EAG/100g. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Bouhala *et al.* (2020) sur les miels de l'Est algérien qui étaient comprises entre 48, 19 et 147,50 mg EAG/100g, et à celles rapportées par Ghorab *et al.* (2021) sur les miels du Nord est algérien qui variaient de 41,8 à 128,3 mg EAG/100g avec une moyenne de 70,6 mg EAG/100g. D'après Alevia *et al.* (2021), les miels espagnols ont des teneurs en PT de 24 à 242 mg EAG/100g. Les concentrations en PT des miels brésiliens varient de 61,16 à 111,7 mg EAG/100g (Bueno-Costa *et al.*, 2016). A l'inverse, nos valeurs semblent être nettement supérieures à celles rapportées par Imtara *et al.* (2018) sur les miels palestiniens $26,96 \pm 0,71$ à $70,73 \pm 0,84$ mg EAG/100g avec une moyenne de 45,93 mg EAG/100g et celles rapportées par Yaoa *et al.* (2005) sur les miels australiens.

Selon Flores *et al.* (2015), la diversité florale a un impact significatif sur la composition des polyphénols totaux présents dans le miel, entraînant ainsi une grande variabilité en termes de concentrations et de types de ces composés. D'après Alvarez-Suarez *et al.* (2009) la

détermination de la teneur en composés phénoliques totaux est considérée comme une méthode prometteuse pour étudier les origines florales des miels. Dans notre cas, les miels polyfloraux sont les plus riches en PT avec une moyenne de $55,33 \pm 20,44$ mg EAG/100g suivis respectivement par les miels d'*Eucalyptus* ($52,30 \pm 20,99$ mg EAG/100g), de *Daucus carota* $51,15 \pm 28,06$ mg EAG/100g et de *Punica granatum* ($48,42 \pm 0,47$ mg EAG/100g) et de *Genista* $35,76 \pm 19,69$ mg EAG/100g. Les miels de *Citrus* ont les concentrations en PT les plus faibles avec une moyenne de $24,47 \pm 16,57$ mg EAG/100g. [Zerrouk et al. \(2017\)](#) ont signalé que le miel de Jujubier algérien possède un taux élevé en PT 174 mg EAG/100g. A titre de comparaison, [Escuredo et al. \(2013\)](#) a signalé des variations des teneurs en PT des miels espagnols selon l'origine florale.

Selon plusieurs auteurs, l'origine géographique des récoltes de miel influe sur la teneur du miel en polyphénols totaux ([Scripcă et al., 2019](#) ; [Al-Farsi et al., 2018](#)). En effet, Le test ANOVA a révélé une variation significative de la teneur en PT des échantillons analysés selon leur origine géographique ($p=0,021$). Les miels ayant le plus fort contenu en PT sont ceux qui proviennent de Dahra et de l'Est de la wilaya de Mostaganem avec des moyennes de $54,62 \pm 23,61$ et $53,54 \pm 22,04$ mg EAG/100g respectivement, suivis par les miels de l'Ouest et du centre avec des moyennes de $32,44 \pm 10,86$ et $32,21 \pm 17,36$ mg EAG/100g respectivement (voir [figure 52](#)). [Doukani et al. \(2014\)](#) ont également démontré que les variations des concentrations en PT des miels de l'ouest algérien sont en fonction de l'origine géographique et type de miel, miel de Mostaganem ($427,47$ mg EAG/100g), Relizane ($327,47$ mg EAG/100g), Béchar ($246,79$ mg EAG/100g), Tiaret ($215,15$ mg EAG/100g), Chlef ($166,11$ mg EAG/100g).

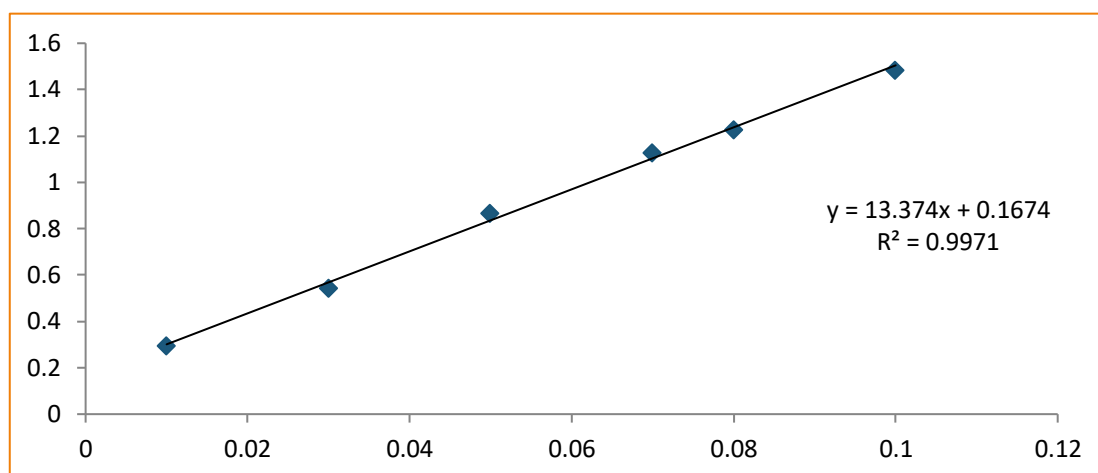


Figure 51 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols totaux

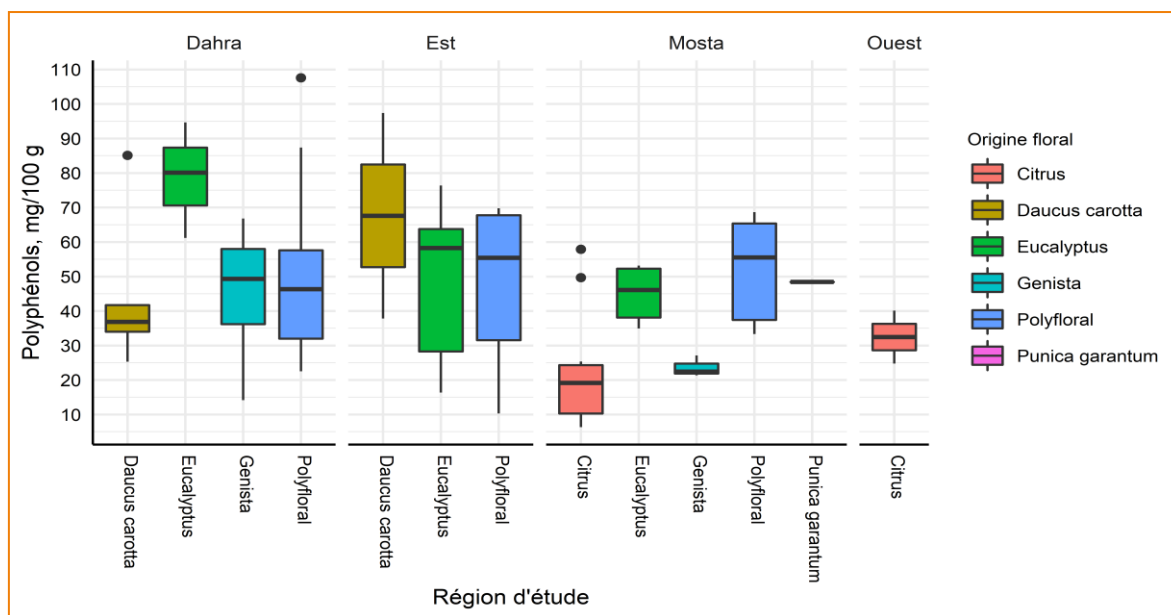


Figure 52 : teneurs en PT des miels selon l'origine florale et la région de production

VII.2. Dosage des flavonoides

Les flavonoides font partie des composés phénoliques, ils sont de faible poids moléculaire, constituent des composants vitaux pour l'arôme et contribuent aux propriétés antioxydantes du miel, et ils sont décrits comme les plus importants composés fonctionnels du miel (Da Silva *et al.*, 2016).

Les teneurs en flavonoides totaux ont été dosées par méthode colorimétrique en utilisant le chlorure d'aluminium (AlCl_3), les concentrations sont exprimées en mg équivalent Quercétine par 100 g de miel (mg EQ/100 g), calculées à partir d'une courbe d'étalonnage (voir figure53).

D'après les résultats obtenus, les concentrations en flavonoides totaux (FT) oscillent de $0,90 \pm 0,39$ mg EQ/100 g (E11, *Citrus*, Touahria) à $20,5 \pm 1,35$ mg EQ/100 g (E70, *Eucalyptus*, Khadra) avec une moyenne atteignant $9,34 \pm 4,63$ mg EQ/100 g. L'amplitude des valeurs trouvées est largement supérieure à ceux rapportés par Homrani *et al.* (2020) sur les miels algériens et qui ont signalé des teneurs en FT comprises entre $0,24 \pm 0,03$ et $13,4 \pm 0,61$ mg EQ/100g avec une moyenne de $5,86 \pm 2,96$ mg EQ/100 g, ainsi que celles rapportés par Ghorab *et al.* (2021) sur les miels du Nord est algérien et qui ont trouvés des les teneurs comprises entre 2,3 et 9,7 mg EQ/100 g avec une moyenne de l'ordre de 4,9 mg EQ/100 g. Les miels thaïlandais ont montré des concentrations supérieures à celles que nous avons obtenues, allant de 31,52 à 60,73 mg EQ/100 g (Chaikham *et al.*, 2016).

De même, les miels espagnols et italiens présentent des teneurs en flavonoïdes totaux oscillant entre 5,4 et 25 mg CE/100g (Alevia *et al.*, 2021) et de 6,85 à 23,17 mg EQ/100 g respectivement (Tenore *et al.*, 2012).

Par ailleurs, Nos résultats se situent au-dessus des concentrations en flavonoïdes totaux rapportées par Chirsanova *et al.* (2021) sur les miels de la Moldavie, où les concentrations en flavonoïdes totaux varient de 0,81 à 4,52 mg CE/100g. Selon Ghorab *et al.* (2021), il est possible de trouver une grande variation selon la méthodologie de travail utilisée. Il a été antérieurement observé que la teneur en flavonoïdes du miel est influencée par la source florale, et que la composition du nectar de la flore mellifère est également façonnée par l'environnement et le climat (Sousa *et al.*, 2016).

On a constaté que les miels polyfloraux présentent les plus fortes teneurs en FT avec une moyenne de $10,90 \pm 4,15$ mg EQ/100 g, suivis par les miels d'*Eucalyptus* et de *Punica granatum* avec des moyennes de $10,07 \pm 5,26$, $9,90 \pm 0,48$ mg EQ/100 g respectivement, les miels de *Citrus* et de *Genista* présentent les plus faibles teneurs avec des moyennes de $6,30 \pm 4,24$ et $5,66 \pm 1,53$ mg EQ/100 g. La même constatation a été montrée par Nakib *et al.* (2021) sur. Selon ces auteurs les miels de *Atractylis* et de *Genista* produits en algérie avaient les plus faibles teneurs en FT alors que ceux de l'arbousier, l'*Acacia* et le polyfloral avaient la teneur la plus élevée. D'un autre coté, nous avons constaté que les miels provenant du Dahra et l'Est présentent les plus fortes concentrations en FT $10,33 \pm 4,69$, $10,09 \pm 4,86$ mg EQ/100 g respectivement, suivis par les miels de l'Ouest et de Centre $9,39 \pm 5,50$, $7,56 \pm 4,69$ mg EQ/100 g respectivement (voir figure 54).

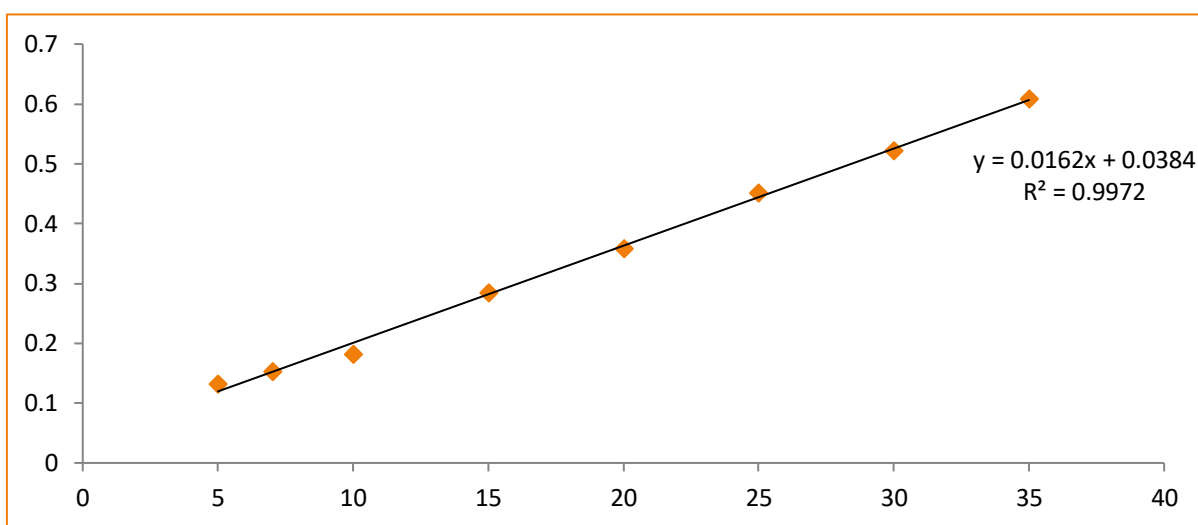


Figure 53 : courbe d'étalonnage de la quercétine utilisée pour le dosage des flavonoides totaux

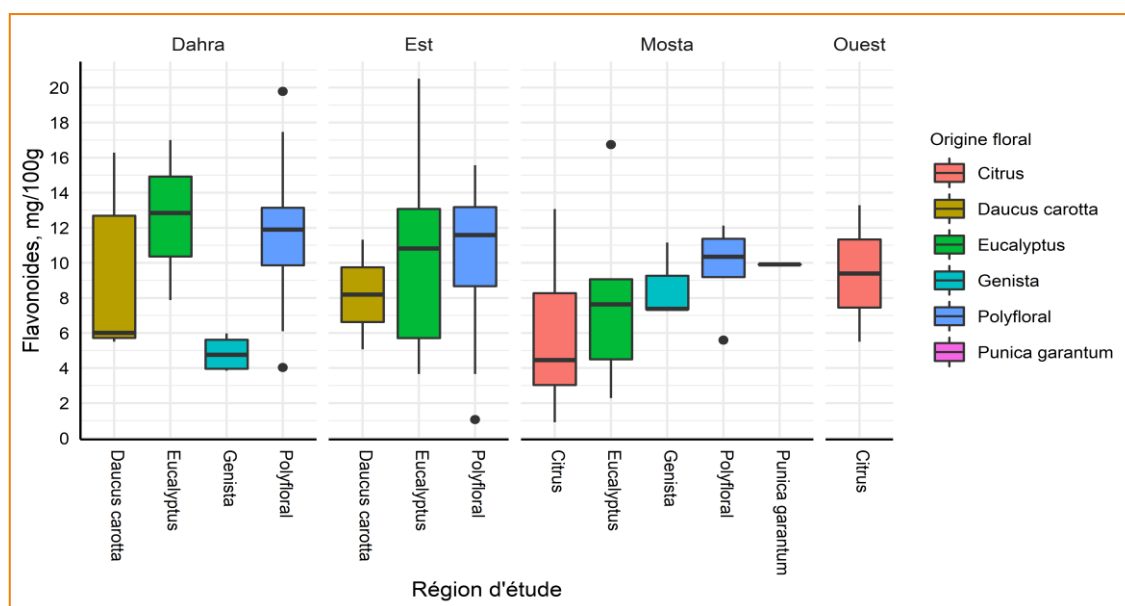


Figure 54: teneurs en FT des miels selon l'origine florale et la région de production

VII.3. Estimation de l'activité antioxydante

De nombreuses études ont prouvé que le miel est une source d'antioxydants naturels, qui sont efficaces pour réduire le risque de maladie cardiaque, cancer, système immunitaire et les différents processus inflammatoires (Gheldof *et al.*, 2002). Les tests les plus couramment utilisés pour l'évaluation des propriétés antioxydantes des miels incluent DPPH (activité de piégeage des radicaux libres), FRAP (pouvoir réducteur / antioxydant ferrique), ORAC (capacité d'absorption des radicaux d'oxygène), AEAC (teneur en acide ascorbique) et TEAC (activité antioxydante équivalente au trolox),

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'estimation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). La méthode de DPPH est basée sur la réduction du DPPH à une forme non radicalaire DPPH H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans l'échantillon. Cette réaction se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution alcoolique de DPPH à 515nm. Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par méthode de piégeage du radical libre sont exprimés en % RSA (Radical Scavenging Activity).

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de l'effet antioxydant varient de $7,07 \pm 0,57\%$ (E10, *Citrus*, Sirat) à $84,92 \pm 17,71\%$ (E67, *Eucalyptus*, Sidi Lakhdar) avec une moyenne atteignant $40,71 \pm 18,45\%$. Une variation significative a été détectée selon l'origine

florale ($p=0.038$), les miels de *Punica granatum*, *Eucalyptus* et polyfloraux présentent les teneurs les plus élevées de RSA avec des moyennes de $69,92\pm 0,51$; $45,29\pm 17,53$; $44,64\pm 16,41\%$ respectivement, suivis par les miels de *Daucus carota* et de *Genista* avec des moyennes de $38,15\pm 22,86$ et $36,67\pm 23,23\%$, cependant les miels de *Citrus* présentent les teneurs les plus faibles $26,97\pm 13,03$ (voir figure 55). Nakib *et al.* (2021) ont signalé également que les miels de *Genista* avaient des teneurs faibles en RSA, tandis que les miels polyfloraux et d'*Eucalyptus* algériens avaient des teneurs supérieures à 50%. De même pour les miels italiens, Perna *et al.* (2013) ont montré que les variations des valeurs de RSA sont en fonction de l'origine florale, les miels d'agrumes avaient une teneur de $54,87 \pm 8,3\%$ et les miels de chataîgnier avaient une teneur de $78,89 \pm 9,87\%$.

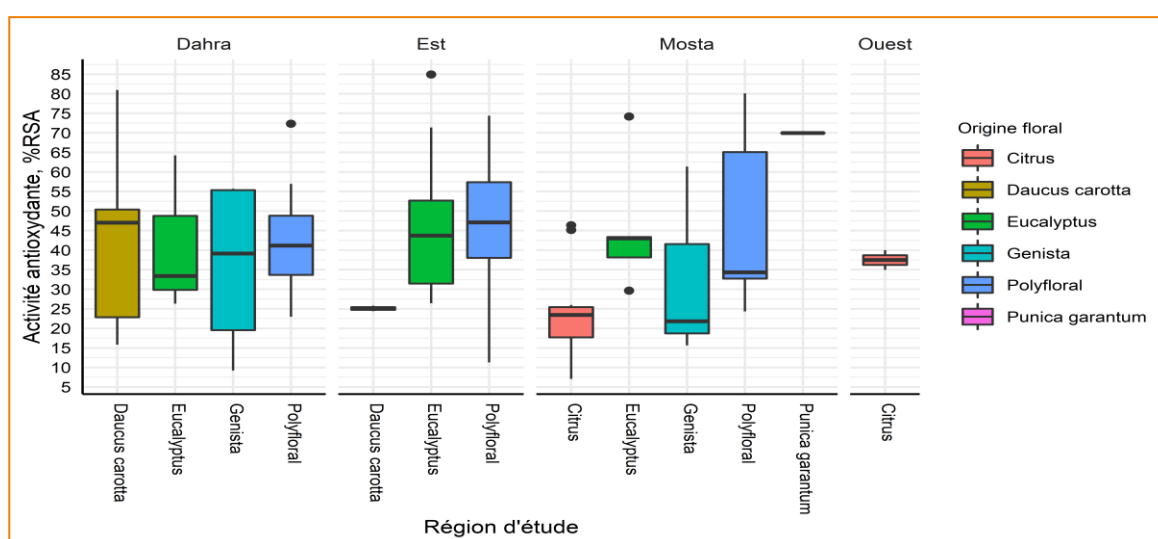


Figure 55: pouvoir antioxydant des miels selon l'origine florale et la région de production

La concentration inhibitrice à 50% ou IC50 est exprimée en mg/ml correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres. L'IC50 a été calculé graphiquement par les régressions linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des miels testés. IC 50 est inversement proportionnelle à RSA% donc une IC50 faible signifie une meilleure activité de piégeage des radicaux.

D'après les résultats obtenus, la valeur maximale en IC50 est de $55,69\pm 0,02$ mg/ml et la valeur minimale est de $2,67\pm 0,07$ mg/ml avec une moyenne de l'ordre de 18,37 mg/ml, résultats comparables avec ceux trouvés par Berrata *et al.* (2005) sur les miels italiens les valeurs d'IC50 1,63 à 45,45 mg/ml, cependant nos résultats sont supérieurs avec ceux rapportés par Bouhala *et al.* (2020) sur les miels algériens les valeurs de IC50 varient de 4,2 à

17,92 mg/ml. Les miels espagnols avaient des valeurs de IC50 entre 8,6 à 17,8 mg/ml (Escuredo *et al.*, 2013). L'origine botanique du miel est considérée comme un facteur déterminant dans la teneur des composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel (Al-Mamary *et al.*, 2002).

Ferreira *et al.* (2009) ont montré que le miel foncé avait une teneur en composés phénoliques plus élevée et une activité de piégeage des radicaux DPPH plus forte que le miel ambré et miel léger. Des corrélations significatives entre l'activité antioxydante et l'intensité de la couleur ($r= 0,334$, $p < 0,001$), les polyphénols totaux et l'intensité de la couleur ($r=0,494$, $p < 0,001$), les flavonoides totaux et l'intensité de la couleur ($r=0,285$, $p < 0,001$). Plusieurs auteurs ont montré que l'activité antioxydante est **fortement corrélée** avec le contenu des composés phénoliques totaux (Beretta *et al.*, 2005). A côté de cela, une forte corrélation a été trouvée entre l'activité antioxydante et la couleur du miel (Al-Mamary *et al.*, 2002). Des corrélations significatives entre l'activité antioxydante et les paramètres suivants : le contenu en polyphénols et les flavonoides, cependant cette corrélation est légèrement plus forte avec les flavonoides ($r=0,389$, $p < 0,001$) qu'avec les composés phénoliques ($r=0,357$, $p < 0,001$). Même observation a été montrée par Khalil *et al.* (2012), les coefficients de corrélation de l'activité antioxydante avec les flavonoides et les polyphénols sont de l'ordre ($r= 0,888$), ($r=0,615$) sur les miels algériens. La corrélation entre de DPPH RSA et la teneur totale en composés phénoliques suggèrent que les composés phénoliques étaient les plus forts contributeurs au RSA de miel (voir [tableau 15](#)).

Une corrélation significative a été observée entre la conductivité électrique et la couleur ($r=0,657$, $p < 0,001$). La même observation a été montrée par Escuredo *et al.* (2013) sur les miels espagnols. Rodier (1997) a rapporté que la conductivité électrique est influencée par le pH ; en effet [le tableau 15](#) montre que le coefficient de corrélation entre la conductivité électrique et le pH est de ($r = 0,305$, $P < 0,01$). Des corrélations ont été trouvées entre la conductivité électrique et la teneur en PT, l'activité antioxydante et l'IC50 respectivement, ($r= 0,532$, $P < 0,01$), ($r=0,369$, $P < 0,01$), ($r= 0,341$, $P < 0,01$) (voir [tableau 15](#)).

Tableau 15 : corrélations entre la CI, la couleur, la teneur en polyphénols, la teneur en flavonoïdes et activité antioxydante des miels.

		pH	Humidité %	conductivité électrique mS /cm	Couleur UA	HMF mg/kg	Polyphénol mgEAG/100g	Flavonoïde mgEQ/100g	RSA%	IC 50 mg/ml
pH	Corrélation de Pearson	1	-0,097	,305**	0,173	0,069	0,155	0,122	0,213	-0,146
	Sig. (bilatérale)		0,406	0,008	0,137	0,558	0,184	0,299	0,067	0,211
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
Humidité %	Corrélation de Pearson	-0,097	1	-0,075	0,130	-0,043	0,053	0,137	0,162	-0,179
	Sig. (bilatérale)	0,406		0,521	0,265	0,715	0,650	0,243	0,166	0,125
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
conductivité électrique mS/ cm	Corrélation de Pearson	,305**	-0,075	1	,657**	0,194	,532**	0,223	,369**	-,341**
	Sig. (bilatérale)	0,008	0,521		0,000	0,098	0,000	0,055	0,001	0,003
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
Couleur UA	Corrélation de Pearson	0,173	0,130	,657**	1	,243*	,494**	,285*	,334**	-,491**
	Sig. (bilatérale)	0,137	0,265	0,000		0,037	0,000	0,013	0,003	0,000
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
HMF mg/kg	Corrélation de Pearson	0,069	-0,043	0,194	,243*	1	0,075	0,146	0,069	-0,094
	Sig. (bilatérale)	0,558	0,715	0,098	0,037		0,523	0,213	0,560	0,424
	N	74	74	74	74	74	74	74	74	74

Polyphénol mgEAG/100g	Corrélation de Pearson	0,155	0,053	,532**	,494**	0,075	1	0,213	,357**	-,406**
	Sig. (bilatérale)	0,184	0,650	0,000	0,000	0,523		0,067	0,002	0,000
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
Flavonoïde mgEQ/ 100g	Corrélation de Pearson	0,122	0,137	0,223	,285*	0,146	0,213	1	,389**	-,305**
	Sig. (bilatérale)	0,299	0,243	0,055	0,013	0,213	0,067		0,001	0,008
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
RSA%	Corrélation de Pearson	0,213	0,162	,369**	,334**	0,069	,357**	,389**	1	-,617**
	Sig. (bilatérale)	0,067	0,166	0,001	0,003	0,560	0,002	0,001		0,000
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75
IC 50 mg/ml	Corrélation de Pearson	-0,146	-0,179	-,341**	-,491**	-0,094	-,406**	-,305**	-,617**	1
	Sig. (bilatérale)	0,211	0,125	0,003	0,000	0,424	0,000	0,008	0,000	
	N	75	75	75	75	74	75	75	75	75

** . La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral).* . La corrélation est significative au niveau 0,05 (bilatéral). N : nombre d'échantillon VI.4. L'effet antibactérien des miels contre des bactéries pathogènes

VII .4. Effet antibactérien des miels contre des bactéries pathogènes

L'évaluation de l'activité antibactérienne (*in vitro*) des miels bruts et ses dilutions (75%, 50%, 25%) (v/v), contre quatre souches bactérienne à savoir *Klebsielle pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus* a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose en utilisant la méthode des puits, les résultats sont illustrés dans la **figure 56**:

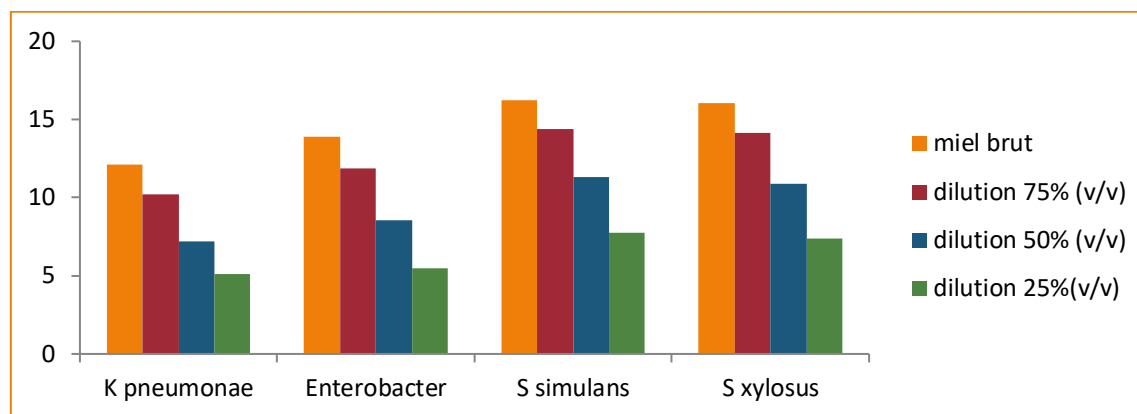


Figure 56 : moyennes des diamètres des zones d'inhibition de chaque souche bactérienne

D'après les résultats enregistrés, on a constaté que tous les miels possèdent un pouvoir antibactérien avec des variations des diamètres des zones d'inhibitions selon le type de miel, la souche indicatrice et les dilutions effectuées.

Cependant les deux souches de *Staphylococcus* sont plus sensibles que *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp* qui sont les plus résistantes. Les zones d'inhibitions les plus grandes ont été remarquées lors d'utilisation des miels bruts avec des moyennes $12,13 \pm 0,81$ mm ; $13,87 \pm 1,01$ mm ; $16,26 \pm 1,20$ mm ; $16,06 \pm 1,04$ mm tandis que les miels dilués à 25% présentent les plus faibles diamètres avec des moyennes $5,08 \pm 0,02$ mm ; $5,47 \pm 0,08$ mm ; $7,76 \pm 0,39$ mm ; $7,40 \pm 0,29$ mm respectivement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*.

La valeur la plus élevée de zone d'inhibition a été enregistrée lors d'utilisation de miel brut par l'échantillon E6 provenant de la localité Mansoura et E36 provenant de la localité Hchachta contre *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus xylosus* avec une moyenne de 21,5 mm.

Dans la dilution 75% les valeurs des zones d'inhibitions varient de 5 mm contre *Klebsiella pneumoniae* pour l'échantillon E 72 provenant de la localité Khadra à 20,5 mm contre

Staphylococcus simulans pour l'échantillon E6 provenant de la localité Mansoura, tandis que dans la dilution 50% les valeurs d'inhibitions varient de 5mm contre *Klebsiella pneumone* et *Enterobacter sp* à 17,5mm contre *Staphylococcus simulans* pour l'échantillon E45 provenant de la localité de Ouled Boughalem.

Egalement, pour la dilution 25% la valeur d'inhibition allant de 5mm contre toutes les souches indicatrices à 13mm contre *Staphylococcus simulans* pour l'échantillon E2, E4, E25.

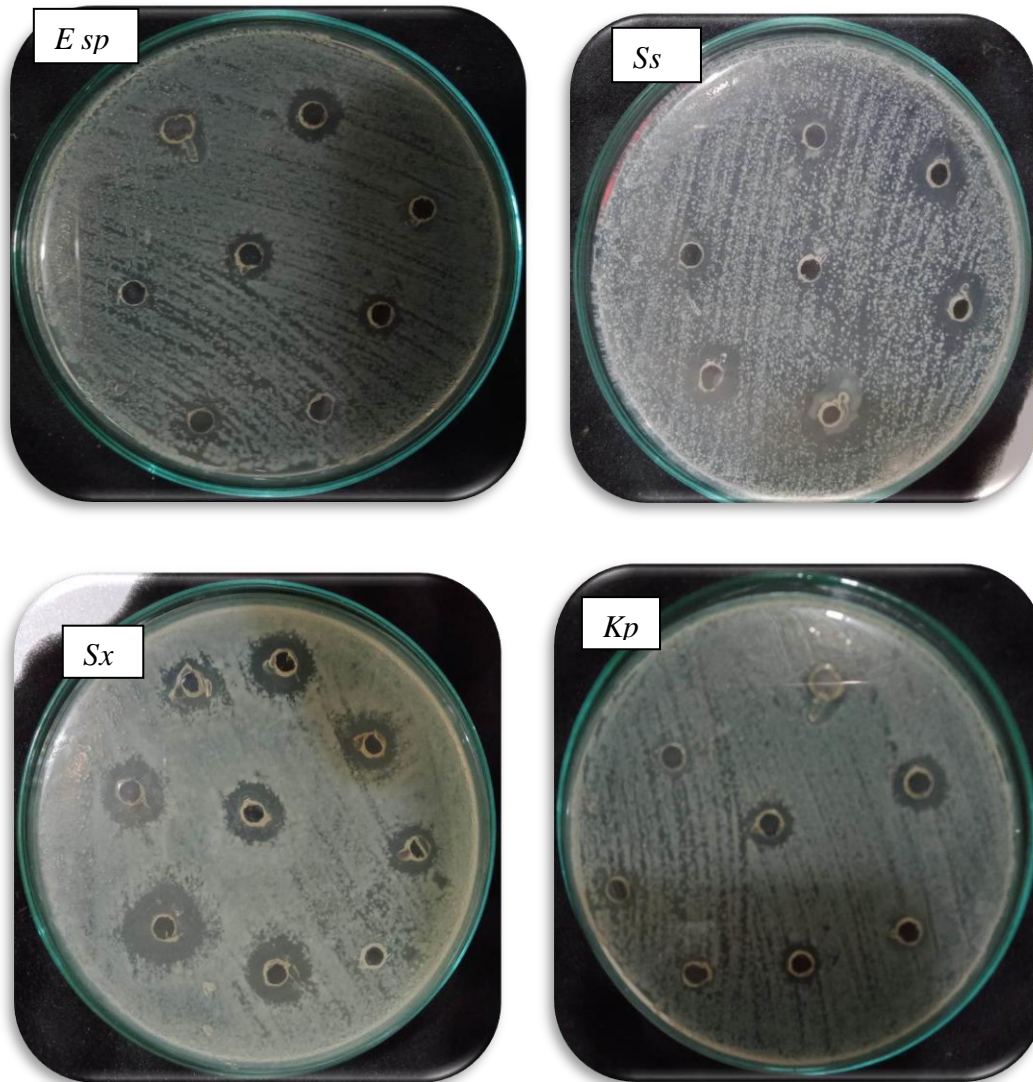


Figure 57 : activité antibactérienne des miels contre des souches bactériennes pathogènes.

Esp : *Enterobacter sp*, *Ss* : *Staphylococcus simulans*, *Sx* : *Staphylococcus xylosus*, *kp* : *Klebsiella pneumoniae*.

VII.4.1. Effet inhibiteur des miels contre des souches bactériennes pathogènes selon l'origine botanique

Selon le diamètre d'inhibition, les souches indicatrices sont considérées comme sensibles si le diamètre d'inhibition est supérieur à 12mm, modérément sensibles si le diamètre d'inhibition est entre 6 et 10mm et résistantes si le diamètre d'inhibition est de 5 mm.

Klebsiella pneumoniae a été considérée comme modérément sensible à sensible par rapport à l'effet inhibiteur des miels étudiés en état brut.

On a constaté que les miels d'*Eucalyptus* possèdent le plus fort effet inhibiteur avec une moyenne des diamètres des zones d'inhibition ($13,5 \pm 2,02$ mm), suivis par les miels de *Daucus carota* ($13,42 \pm 1,71$ mm), les miels de polyfloral ($11,75 \pm 1,52$ mm) et les miels de *Citrus* ($11,5 \pm 3,38$ mm), tandis que les miels de *Punica granatum* et de *Genista* expriment les plus faibles activités antibactériennes avec respectivement une moyenne des diamètres des zones d'inhibition de ($10,5 \pm 0,71$ mm), ($10 \pm 2,25$ mm). (voir figure 58).

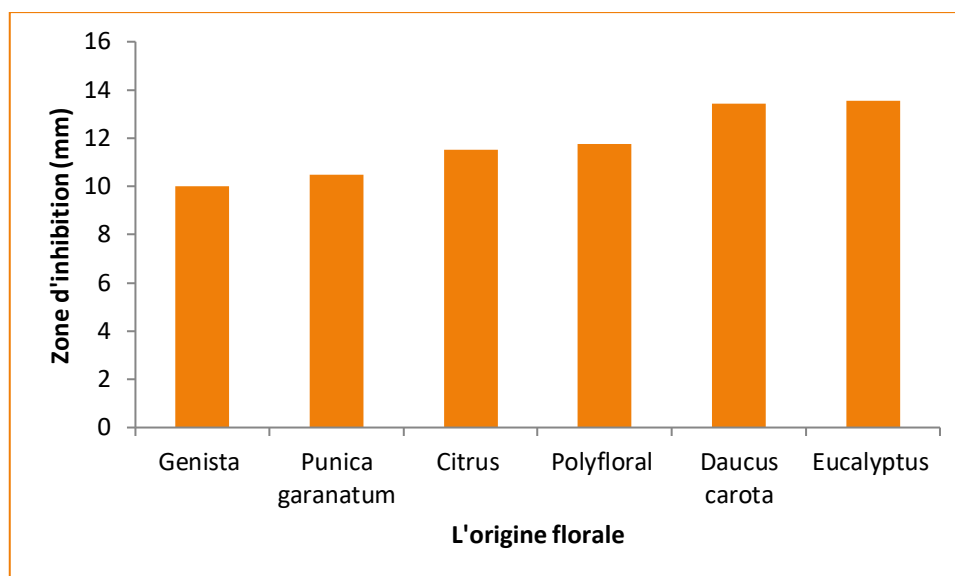


Figure 58: effet inhibiteur des miels contre *Klebsiella pneumoniae* selon l'origine florale

L'effet inhibiteur des miels contre *Enterobacter sp* varie de modérément sensible à sensible, le miel polyfloral présente la plus forte activité antibactérienne avec une moyenne des diamètres des zones d'inhibition de ($14,22 \pm 2,41$ mm) suivi par le miel d'*Eucalyptus* et le miel de *Daucus carota* ($14 \pm 1,5$ mm), ($14 \pm 2,23$ mm), le miel de *Citrus* ($13,86 \pm 2,54$ mm), tandis que les miels de *Genista* et de *Punica granatum* présentent les plus faibles activités antibactériennes contre *Enterobacter sp* avec respectivement une moyenne des diamètres de (12 ± 2 mm), ($12 \pm 1,41$ mm). (voir figure 59).

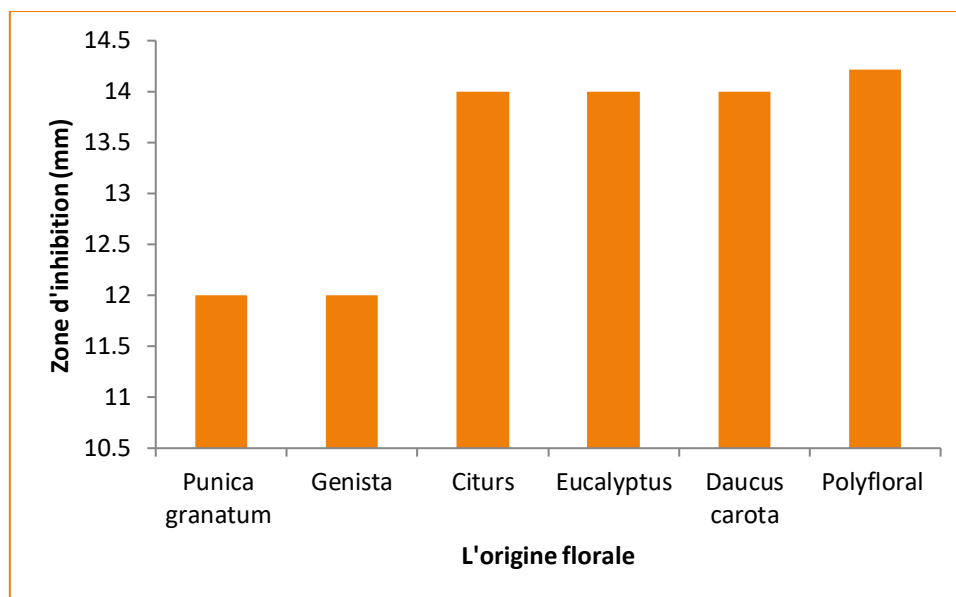


Figure 59 : effet inhibiteur des miels contre *Enterobacter sp* selon l'origine florale

L'effet inhibiteur des miels vis à vis de les souches *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus xylosus* varie de modérément sensible à sensible.

On a constaté que les miels étudiés possèdent la plus forte activité antibactérienne contre ces souches, l'effet inhibiteur de miel de *Daucus carota* contre *Staphylococcus simulans* présente le plus fort effet inhibiteur avec une moyenne des zones d'inhibition de $(18,5 \pm 1,80 \text{ mm})$ suivis par le miel de polyfloral et d'*Eucalyptus* avec respectivement une moyenne des diamètres de $(16,51 \pm 2,58 \text{ mm})$, $(16,23 \pm 2,22 \text{ mm})$, tandis ce que les miels de *Citrus*, de *Genista* et de *Punica granatum* présentent les plus faibles activités antibactériennes avec des moyennes de $(15,86 \pm 2,38 \text{ mm})$, $(14,5 \pm 3,53 \text{ mm})$, $(14 \pm 1,41 \text{ mm})$. (voir figure 60).

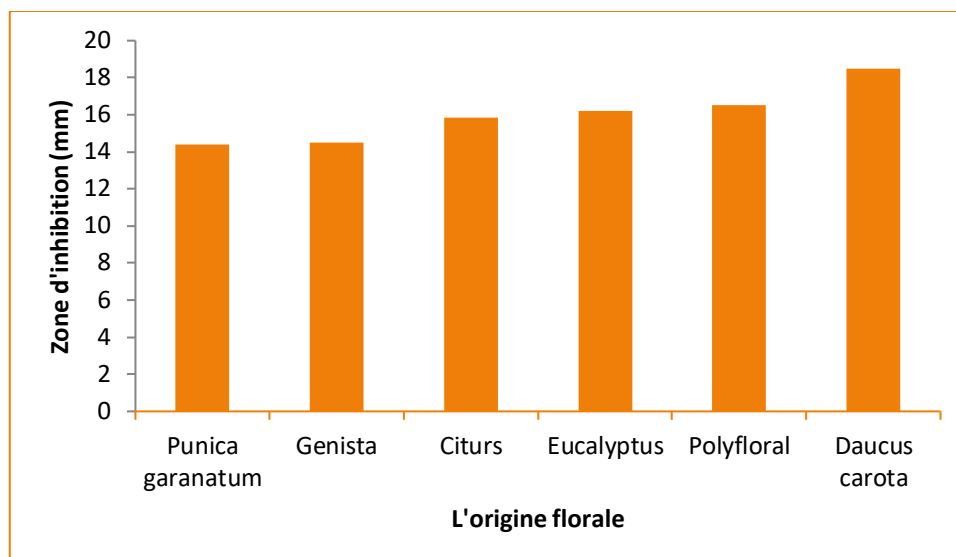


Figure 60: effet inhibiteur des miels contre *Staphylococcus simulans* selon l'origine florale

Egalement pour *Staphylococcus xylosus* le miel de *Daucus carota* a montré la plus forte activité antibactérienne avec une moyenne des diamètres de $(17,28 \pm 1,67 \text{ mm})$ suivi par les miels d'*Eucalyptus*, de polyfloral et de *Citrus* avec des moyennes de $(16,78 \pm 2,41 \text{ mm})$, $(16,44 \pm 2,70 \text{ mm})$, $(15,72 \pm 2,65 \text{ mm})$ tandis que les miels de *Genista* et de *Punica granatum* présentent un effet inhibiteur beaucoup plus faible avec des moyennes des diamètres des zones d'inhibition de $(13,72 \pm 2,62 \text{ mm})$, $(12 \pm 1,41 \text{ mm})$ (voir figure 61).

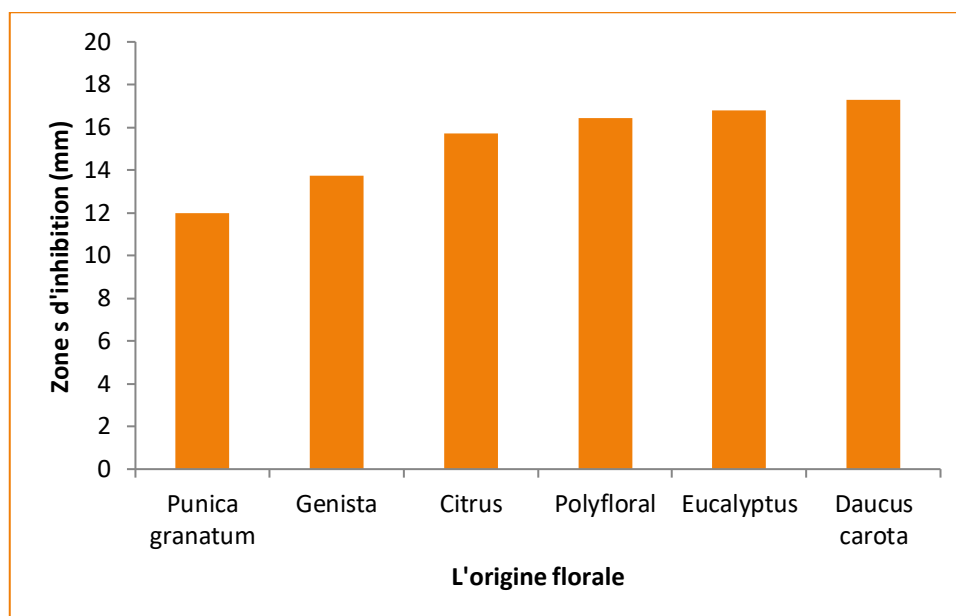


Figure 61 : effet inhibiteur des miels contre *Staphylococcus xylosus* selon l'origine florale

Les souches les plus sensibles sont *S simulans* et *S xylosus* (Gram positif), les souches bactériennes relativement résistantes sont *K pneumoniae* et *Enterobacter sp* (Gram négatif). Cette constatation a été signée par [Syed Yaacob et al., \(2020\)](#) sur les miels malaisiens.

La variation de l'activité antibactérienne dépend de la souche bactérienne et l'origine florale du miel, ([Al-Waili et al 2013](#)), des conditions géoclimatiques et la saison de récolte ([Azonwadé et al., 2017](#)), les conditions de stockage, ainsi que la race et l'âge de l'abeille.

La mammite bovine présente une cause majeure de perte économique dans le secteur de production et transformation laitière dans le monde, et son traitement implique l'administration d'antibiotiques par voie intramammaire et/ou systémique. Cependant des études antérieures ont montré que les bactéries isolées à partir de lait mammiteux présentent des variations de sensibilité aux médicaments antimicrobiens ([Mekonnen et al., 2005](#)).

Dans ce sens, cette partie de notre travail sur les miels de la région de Mostaganem est une contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des miels bruts et ses dilutions contre certaines souches isolées à partir de lait mammiteux. Les résultats obtenus ont montré que tous les miels possèdent une activité antibactérienne contre les isolats de mammite dont la variation de sensibilité est en fonction de l'espèce de la souche testée, l'origine florale de miel et son degré de dilution.

Klebsiella pneumoniae est un bacille à Gram négatif, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette espèce est à la fois une bactérie commensale de l'organisme, et un agent pathogène responsable des infections variées.

En Occident *klebsiella pneumoniae* est responsable des infections nosocomiales (des infections urinaires, broncho-pulmonaires, bactériémie), les résistances aux antibiotiques concernent les aminosides, les céphalosrine de 3^{ème} génération et dernièrement les carbapénèmes.

La mammite causée par *Klebsiella* est un problème émergent associé aux environnements contaminés et surtout avec une mauvaise réponse au traitement ([Kleinhenz et al., 2019](#)), parfois mortelle avec une très courte période de symptômes cliniques ([Silva et Costa, 2001](#)). L'effet inhibiteur des miels bruts contre *k pneumoniae* montre que cette souche est modérément sensible à sensible.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par [Olotu \(2020\)](#) avec les miels Nygériens contre *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Bacillus*

subtilis ATCC 14579. [Wahba. \(2011\)](#) a démontré l'efficacité des injections intramammaires de miel dans le traitement de mammite subclinique bovine.

On a constaté que l'activité antibactérienne la plus faible des échantillons de miel a été observée sur *K pneumoniae*. Nos résultats sont conformes à ceux trouvés par [Dušková et al. \(2017\)](#) avec des miels appartenant de la république de Tchéquie et Slovakia sur *K pneumoniae* isolés à partir de lait mamiteux chez la chèvre.

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négative, font partie à la famille des *Enterobacteriaceae*, colonisent principalement le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. Certaines espèce (*E. aerogenes* et *E. cloacae*) ont été associées à des épidémies nosocomiales, et les espèces du genre *Enterobacter* peuvent causer de nombreuses infections y compris méningite, infection des plaies, infection urinaire.

Le genre *Enterobacter* est résistant à l'Ampicilline, aux céphalosporines de première et de deuxième génération et à la céphalothine ([Farmer et al., 2007](#)). Ces microorganismes sont largement disséminés dans l'environnement de la vache particulièrement dans la litière, eau, fumier. ([Gonzalez et al, 1989](#)). Le test d'inhibition des miels contre *Enterobacter sp* révèle que cette souche est sensible avec un diamètre d'inhibition allant de 7.5 mm dans le cas de miel de *Genista* à 20.5 mm dans le cas de miel de polyfloral. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par [Bourabah et al. \(2014\)](#) sur les miels de l'Ouest algérien (Tiaret) en utilisant la méthode de diffusion sur gélose, *Enterbacter sp* et autres souches pathogènes de mammite subclinique chez la chèvre (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp*, *Corynabaterium spp*) sont sensibles à l'action inhibitrice de miel.

Staphylococcus simulans fait partie au groupe de staphylocoque à coagulase négative, agent pathogène opportuniste chez les animaux (vaches, chèvres, chevaux et autres animaux d'élevage).

On les trouve sur la peau saine du pis, sur les muqueuses et dans l'environnement de l'étable, colonise rarement la peau humaine. La propagation de staphylocoques à coagulase négative a été décrite chez les animaux.

La sensibilité aux antibiotiques habituels est souvent diminuée et peut poser des problèmes thérapeutiques. *S simulans* a été fréquemment associé à la mammite bovine ([Unal et al., 2012](#)), pouvant provoquer des mammites chroniques non négligeables.

D'après les résultats de test d'inhibition des miels, *S simulans* est très sensible à tous les types des miels étudiés, 21,5 mm pour le miel de *Citrus* E6, 20,5 mm pour le miel polyfloral,

21,5mm pour le miel de *Daucus carota*, 21,5 mm pour le miel d'*Eucalyptus*, 19,5 mm pour le miel de *Genista*. [Bourabah et al. \(2014\)](#) ont démontré que les miels de l'Ouest algériens possèdent un effet inhibiteur contre les CNS pathogènes des mammites chez la chèvre avec une concentration minimale inhibitrice de 12,66%.

L'activité antibactérienne de miel contre les CNS a été prouvée par [French et al. \(2005\)](#) dont la concentration minimale inhibitrice contre *S simulans* est de 3% dans le cas de miel de Manuka et 4% dans le cas de miel polyfloral.

Staphylococcus xylosus fait partie au groupe de staphylocoque à coagulase négative, existe comme un commensal sur la peau des animaux, des humains et dans l'environnement. Il a été associé aux staphylococcose aviaire, pyélonéphrite humaine et infection mammaire bovine.

A la lumière des résultats que nous avons obtenus *S xylosus* est très sensible à l'action inhibitrice des miels, 21,5 mm pour le miel de *Citrus*, 20,5 mm pour le miel d'*Eucalyptus* et de polyfloral, 19,5 mm pour le miel de *Daucus carota*, 19 mm pour le miel de *Genista*.

Nos résultats sont similaires avec ceux trouvés par [Tuksithaa et al. \(2018\)](#) pour les miels malaisiens, ayant rapportés que ces miels possèdent une activité antibactérienne contre *S xylosus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 21mm. [Azonwadé et al. \(2017\)](#) a montré l'effet inhibiteur des miels appartenant de Bénin sur différentes souches de *Staphylococcus* y compris *S xylosus*.

Les résultats obtenus montrent que plus les miels sont dilués plus l'activité antibactérienne est faible, donc l'acidité du pH et la teneur en sucres constituent les composants actifs de ce test. [White et al. \(1962\)](#) ont décrit que les propriétés antibactériennes du miel sont dues à l'effet osmotique, par sa teneur élevée en sucres, le pH bas du miel associé à l'effet osmotique de ses sucres est considéré comme le principal facteur antibactérien.

Le peroxyde d'hydrogène, inhibe la bactérie sous l'action d'une enzyme sécrétée par l'abeille : le glucose oxydase, principal agent antibactérien ([White et al, 1963](#) ; [Dustmann 1979](#) ; [Morse 1986](#)). Néanmoins, divers inhibiteurs végétaux dits non peroxydes, tels que : les lysozymes, les flavonoïdes, et certaines substances aromatiques et volatiles, posséderaient également des propriétés antibactériennes ([Molan, 1997](#)).

D'après l'analyse des résultats de l'effet inhibiteur des miels bruts et dilués, on suppose que la peroxydase, enzyme sécrétée par l'abeille n'est pas le principal agent antibactérien car

cet enzyme agit quand le miel est dilué. En effet, Il s'agit d'autres molécules dits inhibines non peroxydes qui sont responsables de l'activité antibactérienne.

Ces inhibines non peroxydes ont une origine végétale ou ajoutées par les abeilles : le cas des résidus des antibiotiques qui contribuaient à l'effet inhibiteur naturel du miel autre que la peroxydase et l'effet osmotique du sucre. On signale que les résidus d'antibiotique sont insensible à la chaleur, la lumière et demeurent actifs dans le miel stocké (Roth *et al.*, 1986).

VIII. Caractérisation microbiologique des miels frais

VIII.1. Isolement des lactobacilles

Après pré-enrichissement des échantillons des miels dans le bouillon MRS en aérobie et en anaérobie, le résultat positif se traduit par des troubles dans le bouillon. Dans ce cas là on a procédé à l'ensemencement par rateau sur les géloses MRS suivant : MRS, MRS supplémenté de 0,8% de CaCO₃, MRS supplémenté de 0,1% de cystéine et 2% de fructose et Rogosa). Après incubation de 72h en anaérobiose, macroscopiquement il a été observé des colonies espacées les unes des autres, rondes, certains d'entre elles translucides et d'autres opaques (blanchâtre), de consistance crémeuse et muqueuse (voir [figure 62](#)).

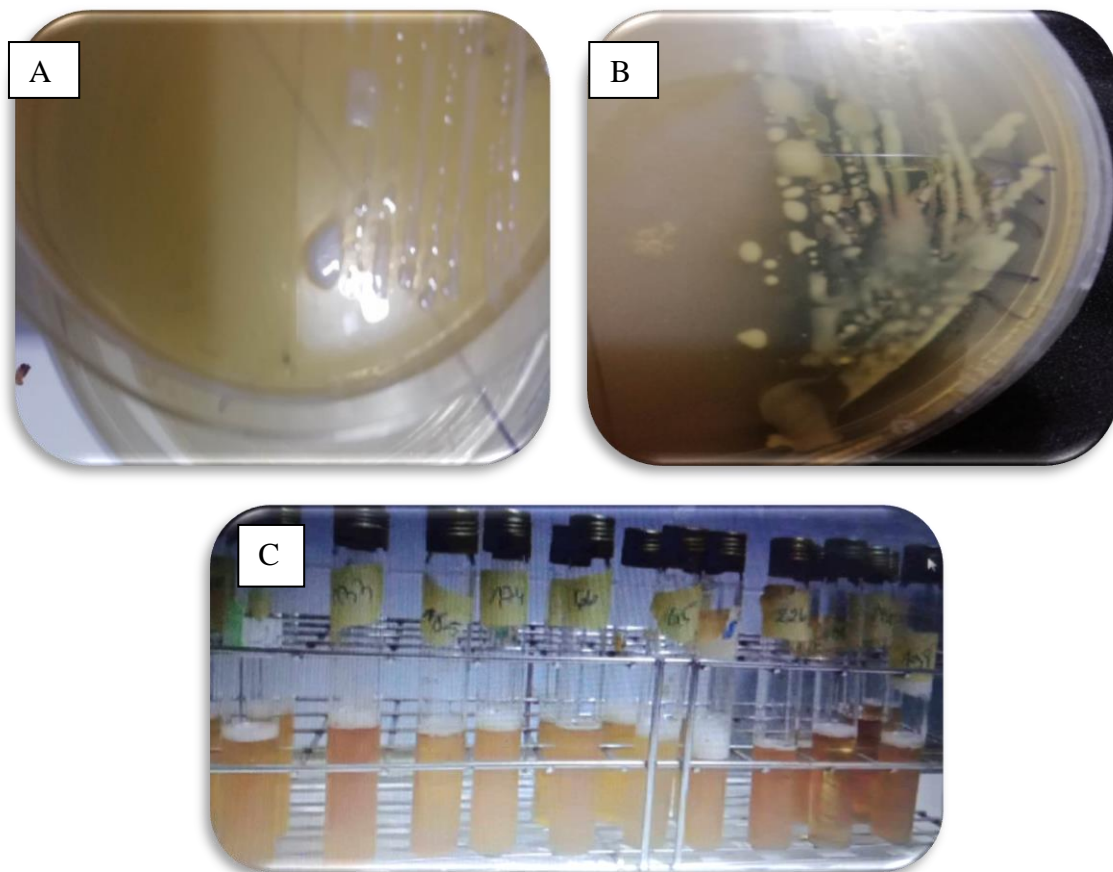


Figure 62: observation maroscopique des colonnies de lactobacille isolé de miel sur milieu MRS. A, B : gélose MRS, C : bouillon MRS.

VIII.2. Screening des bactéries du genre *Lactobacillus*

Le test de catalase a été réalisé en premier, les colonies qui ont un catalase négatif ont subi la coloration de Gram, seules les colonies qui ont un catalase négatif et Gram positif ont été considérées comme présumées de bactéries lactiques. La lecture microscopique nous a montré non seulement le Gram mais aussi la forme et le mode de regroupement des bactéries ; il a été observé deux formes bien distinctes. Les coques sont disposées en paires ou en amas tandis que les bâtonnets sont disposés en courtes chainettes, en paires ou isolés (voir [figure 63](#)).

Selon [Woese \(1987\)](#), la description morphologique des bactéries est une étape clé pour le pré-identification. Dans ce contexte le nombre total des bactéries lactiques identifiées phénotypiquement par les tests précédants est de 309 isolats dont 41% en forme de bâtonnet, cette forme présumée du genre de *Lactobacillus* et 59% en forme de coque et sont présumée des genres *Antérocoque*, *Streptocoque* ou *Pédiocoque* ([Corrieu et Luquet, 2005](#) ; [Galvez et al., 2011](#)). Seulement les bactéries lactiques présumées lactobacilles ont été conservées dans le bouillon MRS à la température de -20°C pour des études ultérieures (voir [figure 64](#)).

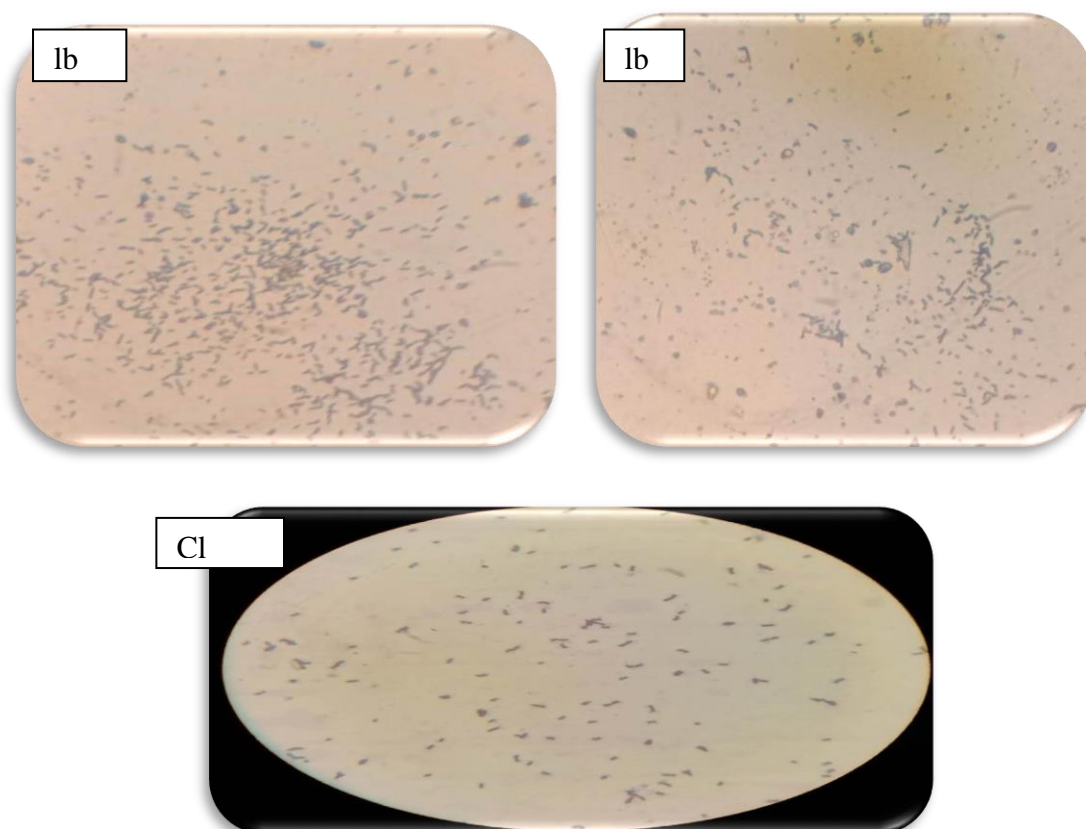


Figure 63: observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram ($G\times 100$). lb : lactobacille, Cl : coque lactique.

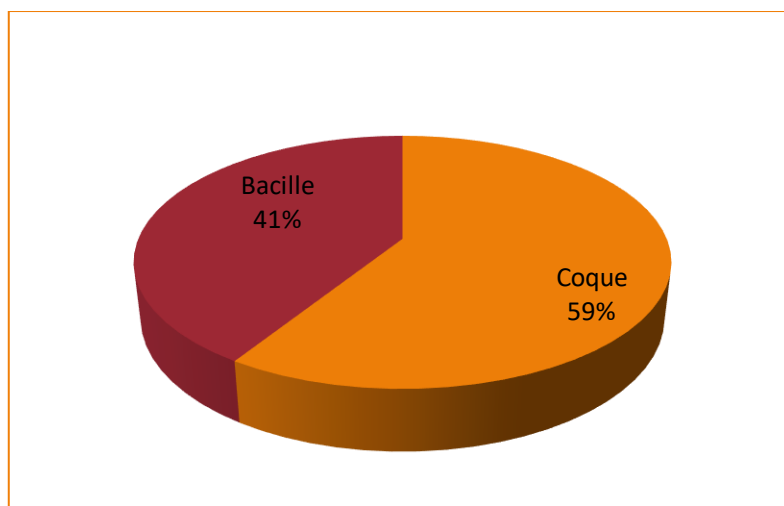


Figure 64: fréquence des bactéries lactiques dans les miels frais.

La présence des bactéries dans le miel a été bien évidemment prouvée par des études antérieures, ces bactéries peuvent être pathogènes ou bénéfiques. Parmi les bactéries bénéfiques isolées à partir du miel sont les bactéries lactiques. Cette partie est une contribution à l'isolement des bactéries lactiques à partir des miels frais dans la région de Mostaganem. Les résultats obtenus montrent la présence des bactéries lactiques dans les miels frais ce qui confirme les travaux de : [Lee *et al.*, \(2008\)](#), [Tajabadi *et al.*, \(2013\)](#), [Sinacori *et al.*, \(2014\)](#) et [Mohamed *et al.* \(2012\)](#).

Les bactéries lactiques détectées dans les miels peuvent être originaires de nectar, pollen, propolis et fleurs ([Silva *et al.*, 2017](#)). [Endo et Salminen \(2013\)](#) ont signalé que la source principale du genre de FLAB existant dans le tarctus intestinal de l'abeille mellifère est la fleur, par exemple *Lactobacillus Kunquei* se trouve dans la récolte d'abeille et également présente en forte proportion dans le pain d'abeille ([Anderson *et al.*, 2014](#)), mais également dans le tube digestif des abeilles. En effet, [Elzeini *et al.* \(2020\)](#) a prouvé que le tractus intestinal de *Apis mellifera* constitue une source importante de bactérie lactique (*Lactobacillus* et *Enterococcus*) et lors de processus de régurgitation que le nectar se contamine par la flore intestinale. Donc la source des bactéries lactiques dans le miel est exogène (pollen et nectar) et endogène (tarctus intestinal de l'abeille) ([Anderson *et al.*, 2013](#) ; [Asama *et al.*, 2015](#)).

Cependant, le screening nous a montré la prédominance des coques par rapport les lactobacilles. Selon [Olofsson *et al.* \(2016\)](#), le nombre des lactobacilles dans le miel dépend de la santé de l'abeille mellifère et la source de nectar. Les études récentes s'intéressent par les bactéries lactiques symbiotiques des miels, car certaines souches sont considérées comme

probiotiques en raison de leurs effets bénéfiques sur l'hôte ; par conséquent ils sont ajoutés aux produits alimentaires à fin de promouvoir la santé humaine et animale. Selon [FAO / OMS \(2006\)](#), les probiotiques sont des micro-organismes lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate apportent des bénéfices pour la santé de l'hôte.

En industrie agro-alimentaire les LAB jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments ([Pisano et al., 2014](#)). Ils sont reconnus comme « starter » dans les aliments fermentés en améliorant les caractéristiques organoleptiques et en inhibant la multiplication microbienne donc augmenter la durée de conservation. La ruche et ses produits constituent une source intéressante de la biodiversité des LAB à potentiel probiotique bénéfique pour la santé humaine et animale ([Ramos, 2019](#)).

Dans l'alimentation animale, l'utilisation des systèmes biologiques pour la préservation des aliments a augmenté et se base principalement sur l'effet des LAB qui sont utilisés comme additifs aux ensilages ([Muck, 2010](#)). Par exemple, *Lactobacillus plantarum* est le microorganisme le plus utilisé pour la préservation de la qualité nutritionnelle des fourrages ensilés en améliorant la fermentation de l'acide lactique ([Oliveira et al., 2017](#)).

En production avicole, les LAB ont des effets positifs sur les performances de croissance, le microbiote intestinal, la digestibilité et l'immunité. Certaines LAB ont un effet antibactérien contre les bactéries pathogènes par exemple *Pediococcus sp* s'est avéré avoir une activité antibactérienne contre *Salmonella enteritidis* et *E.coli* ([Noohi et al., 2016](#)).

Un problème majeur engendré par les mycotoxines entraînant des pertes dans la production et santé animale tels que l'aflatoxine B1 produite par *Aspergillus* se trouve fréquemment dans les aliments pour poulets et entraîne des résidus toxiques dans les produits de poulet, dans ce contexte l'utilisation de LAB : *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus faecium* dans l'alimentation des poulets à améliorer la fonction immunitaire et réduit l'effet délétère des mycotoxines. ([Liu et al., 2018](#)).

En élevage des veaux de boucherie, l'administration orale aux veaux de LAB a révélé une valeur significative de gain de poids et activité cardiaque légèrement élevée ([Frizzo et al., 2010](#)). Des études récentes ont montré l'efficacité de l'administration de *Lactobacillus acidophilus* dans la réduction des incidences de diarrhée chez le veau ([Ramos, 2019](#)).

En plus des propriétés antibactériennes, les LAB peuvent avoir des effets probiotiques en raison de leur contribution à la protection de l'hôte en modulant le microbiote intestinal, inhibant l'adhérence des agents pathogènes aux muqueuses intestinales et stimulant le

système immunitaire. Par exemple *Lactobacillus Kunkkeei* isolés à partir des produits des abeilles a été étudiée chez l'homme, il a été montré que lors de son administration, la concentration des anticorps IgA a été augmenté dans la salive humaine (Asama *et al.*, 2015).

En production apicole, où le miel est le principal produit. Le mauvais usage des médicaments affecte déléterement la qualité et la sécurité de miel en raison de la présence de résidus de médicaments. Donc l'utilisation des probiotiques en apiculture pourrait prévenir les maladies, améliorer la santé des abeilles et par conséquent l'augmentation de production de miel. Audisio *et Benitez-Ahrendts*, (2011), Budge *et al.*, (2016) et Mattila *et al.* (2012) ont rapporté que le *Bifidobacterium* pourrait moduler la réponse immunitaire ou exclure les agents pathogènes et donc assurer la protection des abeilles contre les infections. Plusieurs études ont montré le potentiel probiotique des LAB isolés à partir de l'abeille ou ses produits, Audisio (2011) a évalué l'effet probiotique *in vitro* contre *Paenibacillus larvae* de *Lactobacillus johnsonii* isolé à partir du tractus intestinal de l'abeille, *in vivo* Maggi *et al.* (2013) ; Audisio *et Sabaté* (2015); Audisio (2017) ont rapporté l'effet antiparasitaire contre *Nosema ceranae*. Endo *et Salminen* (2013) et Vasquez *et al.* (2012) ont signalé le potentiel probiotique *in vivo* contre *Melissococcus plutonis* agent de la loque européenne de *Lactobacillus Kunkkeei* isolé de miel et estomac de l'abeille.

VIII 3. Nombre de lactobacilles détectés dans les miels frais selon leur région, origine botanique et le milieu d'isolement

Le Tableau (16) indique le nombre des présumés des lactobacilles dans chaque miel. Il a été constaté que 18 échantillons sont positifs sur 39 échantillons testés. Aucune bactérie lactique n'a été détectée dans les échantillons, E5, E6, E7, E10, E25, E26, E28, E36, E46, E38, E39, E40, E41, E42, E43, E44, E45, E46, E47, E48, E49, E50.

Malgré les composants antibactériens que possède le miel (forte teneur en sucre, pH bas), les lactobacilles peuvent survivre (Aween *et al.*, 2012). La présence des lactobacilles dans des miels et l'absence dans d'autres peut s'expliquer par l'incapacité à se multiplier dans le miel.

Les lactobacilles isolés à partir des miels de la région de Plateau (n=68) sont légèrement nombreuses par rapport aux miels de la région de Dahra (n=57). La plus grande quantité des lactobacilles a été observée dans les miels de *Citrus* (6 échantillons) avec (n=51), suivis par les miels polyflorals (6 échantillons) avec (n=38), miels de Carotte sauvage (2 échantillons)

avec (n=8), miels de *Genista* (2 échantillons) avec (n=7), miel d'*Eucalyptus* (1 échantillons) avec (n=7), miel de grenadier (1 échantillon) avec (n=5).

Tableau 16 : nombre de lactobacille isolé de chaque miel.

Miel	Origine botanique	Origine géographique	Nombre d'isolats de lactobacille
E1	<i>Citrus</i>	Plateau	12
E2	<i>Citrus</i>	Plateau	19
E3	<i>Citrus</i>	Plateau	2
E12	<i>Citrus</i>	Plateau	18
E14	<i>Genista</i>	Dahra	4
E17	Polyfloral	Dahra	3
E18	<i>Citrus</i>	Dahra	9
E20	Polyfloral	Dahra	12
E23	<i>Genista</i>	Dahra	3
E25	Polyfloral	Plateau	4
E27	Polyfloral	Dahra	1
E29	<i>Citrus</i>	Plateau	2
E30	<i>Daucus carota</i>	Dahra	2
E31	<i>Punica granatum</i>	Plateau	5
E32	Polyfloral	Plateau	1
E33	<i>Daucus carota</i>	Dahra	6
E35	Polyfloral	Dahra	17
E38	<i>Eucalyptus</i>	Plateau	7
E25, E46	Polyfloral	Plateau	0
E26, E36	<i>Daucus carota</i>	Dahra	0
E28, E10, E6, E7	<i>Citrus</i>	Plateau	0
E5	<i>Genista</i>	Plateau	0
E38, E39, E47, E48, E49	<i>Eucalyptus</i>	Plateau	0
E40, E41, E42, E43, E44, E45	<i>Eucalyptus</i>	Dahra	0
E50	Polyfloral	Dahra	0

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par [Homrani. \(2019\)](#) qui a noté la détection des présumés de lactobacilles dans les miels polyfloral, *Genista*, *Eucalyptus* provenant de la région de Mostaganem. Plusieurs facteurs interviennent dans la variation de la quantité des lactobacilles dans le miel,

-Facteurs intrinsèques : la santé de l'abeille (une antibiothérapie peut influencer sur le microbiote intestinal).

-Facteurs extrinsèques : la récolte de l'abeille (pollen, nectar), l'emplacement du rucher à proximité des zones de maraichage où se trouvent les pesticides et les insecticides, les résidus d'antibiotiques dans le miel, surchauffage de miel. La variation du nombre des bactéries lactiques dans le miel est unique, elle est en fonction du nectar et la santé de l'abeille. ([Kňazovická et al., 2016](#) ; [Olofson et al., 2016](#)).

VIII.4. Fréquence de distribution des lactobacilles selon les milieux d'isolement

Tous les milieux testés sont efficaces pour l'isolement des lactobacilles, cependant il a été observé que le milieu MRS-fructose+cystéine avec un pourcentage de 39%, suivi par le milieu MRS avec un pourcentage de 36%, ensuite le milieu MRS-Caco3 avec un pourcentage 14% et enfin le milieu Rogosa avec un pourcentage de 11% (voir [figure 65](#)). Ces résultats sont en désaccords avec ceux trouvés par [Homrani. \(2020\)](#) qui a montré que le milieu Rogosa est le plus efficace pour l'isolement de ce genre de bactérie dans le miel.

Le milieu MRS additionné par un autre sucre est couramment utilisé. Par exemple [Aween et al. \(2012\)](#) ont montré que les LAB peuvent se développer dans le milieu MRS-glucose. Le milieu MRS est habituellement utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques à partir des produits alimentaires fermentés mais n'empêche pas de l'utiliser pour le miel. Plusieurs études ont été menées par le milieu MRS pour l'isolement des LAB originaires d'abeille. [Olofsson et al., \(2016\)](#) ; [Elzaeini et al.,\(2020\)](#) et [Olofsson et al. \(2014\)](#) ont prouvé l'efficacité de l'addition de la L-Cystéine au MRS-fructose dans l'isolement des LAB. [Aween et al. \(2012\)](#) ont ajouté que le milieu MRS- Caco3 aussi semble être efficace et permet à la poussée des LAB à partir des miels.

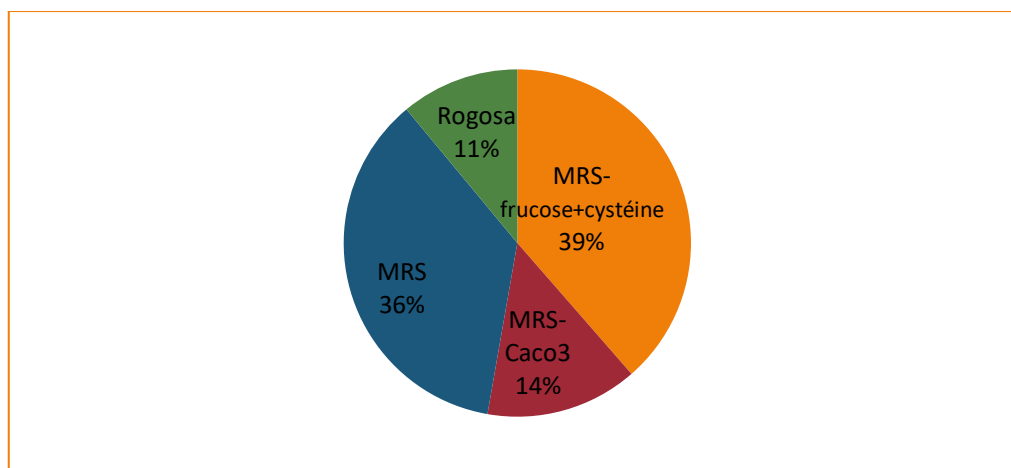


Figure 65: fréquence de répartition des présomés des lactobacilles selon leurs milieux d'isolement.

VIII. 5. Identification génotypique

Le PCR séquençage de l'ARN 16S est intéressant pour l'identification précise des souches bactériennes. Ce gène 16S code la sous-unité de 16S ribosomal (ARNr) essentiellement utilisé en raison de sa structure très conservée dans toutes les bactéries. Il est constitué d'une succession de domaines conservés, sites de complémentarité pour les amorces universelles utilisées pour le séquençage de ce gène, et d'autres portions de séquences propres à un groupe de bactéries, nommées séquences signatures (espèce, genre, famille). Les résultats obtenus par séquençage du gène 16S sont similaires à ceux obtenus avec le génome entier.

Après la réalisation de la première étape qui consiste à l'extraction de l'ADN de 11 isolats de présomés des lactobacilles, l'amplification du fragment d'ADN codant la région 16S par rep-PCR a été effectuée. La visualisation de la taille des amplicons a été réalisée sur gel d'agarose (voir figure 66 et figure 67).

L'électrophorèse des produits d'amplification par REP-PCR montre dans chaque puits une bande blanche au même niveau avec celle de la souche de référence. Les séquences ont été ensuite comparées d'une part avec ceux obtenus par les souches de référence et avec d'autres souches existantes dans la base de données NCBI GenBank par l'utilisation du programme BLAST. Seulement 11 isolats sont identifiés génotypiquement isolés à partir des huit miels (E1, E2, E12, E14, E20, E23, E31, E35). Les résultats du séquençage montrent que les 11 isolats des présomés de *Lactobacillus* proviennent du genre de *Lactobacillus*, dont huit isolats sont des espèces de *Lactobacillus plantarum subsp. Plantarum* (lb75, lb108, lb133, lb87, lb21, lb234, lb109, lb175) et trois sont *Lactobacillus pentosus* (lb38, lb174, lb170).

Lactobacillus plantarum constitue un membre très répandu du genre *Lactobacillus*, est l'une des espèces largement utilisées dans l'industrie alimentaire en tant que probiotique et/ou starter. *Lactobacillus plantarum* est également utilisée pour produire de nouvelles aliments et boissons fonctionnels présentant des caractéristiques nutritionnelles et technologiques améliorées. Grâce à ses effets probiotiques contre les pathogènes d'origine alimentaire, la sécurité et la durée de conservation des aliments fermentés est augmenté (Sudhanshu *et al.*, 2018).

Lactobacillus plantarum est l'une des espèces identifiées dans les légumes fermentées, en raison de sa capacité à résister à la teneur élevée en sel et en acidité de ces légumes ; il s'agit principalement le concombre, choucroute et olive (Montet *et al.*, 2014). Cette souche a été même testée dans la prévention de développement d'une réponse immunitaire systématique et intestinale contre les protéines allergisantes, car elle atténue les IgE totaux et spécifiques (Gheziel *et al.*, 2019).

Lactobacillus pentosus et *Lactobacillus plantarum* sont des espèces étroitement apparentées génotypiquement et phénotypiquement (Tajabadi *et al.*, 2013). Ils sont très répandus dans les environnements alimentaires et non alimentaires, et leur présence est importante en tant que des bactéries starter ou probiotiques (Annamaria *et al.*, 2012).

Le genre *Lactobacillus* isolé à partir des produits de l'abeille a été étudiée. *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* ont été isolé à partir des miels malaisiens par Tajabadi, *et al.*, (2013). Feizabadi *et al.* (2020) ont prouvé la prédominance des espèces de *Lactobacillus* notamment *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* dans les miels produits en Iran. D'autres espèces ont été trouvés dans le miel tels que *Lactobacillus kunkeei* a été détecté dans le miel par (Olofsson *et Vasquez*, 2008; Endo *et Salminen*, 2013; Asama *et al.*, 2015). Aween *et al.* (2012) ont signalé la présence de *Lactobacillus acidophilus* dans les miels malaisiens. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kunkeei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus fermentum* ont été identifiés dans les miels iraniens (Lashani *et al.*, 2020).

En Algérie la détection des lactobacilles dans les miels frais a été étudiée par Homrani *et al.*, (2019). Ces mêmes auteurs ont signalé la dominance de *Lactobacillus plantarum* suivi par *Lactobacillus pentosus* dans 23 échantillons de miel provenant des différents étages climatiques. La distinction des espèces de *Lactobacillus* dans les miels des différents pays,

peut être en fonction de la variation de nectar et pollen, de l'abeille (race et santé) et de l'environnement.

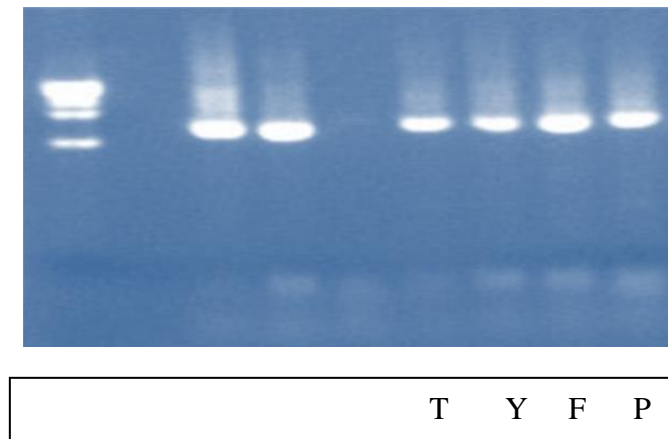


Figure 66: profil du dendogramme *Lactobacillus pentosus* et gel d'électrophorèse des produits de la (GTG)₅-PCR des isolats. T : lb38, Y : lb174, F : lb170, P : Souche de référence ATCC 8041 *Lactobacillus pentosus*

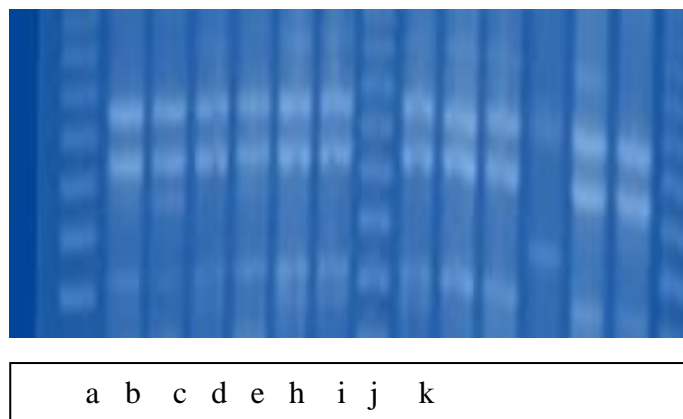


Figure 67 : profil du dendogramme *Lactobacillus plantarum subsp. plantarum* et gel d'électrophorèse des produits de la (GTG)₅-PCR des isolats. b : lb108, c : lb133, d : lb87, e : lb21, i : lb109, k : Souche de référence ATCC 14917 *Lactobacillus plantarum subsp. Plantarum*

VIII .6. Etude de l'activité antibactérienne des miels et des lactobacilles isolés à partir

des miels contre des souches pathogènes

VII.6.1. Antibiogramme des souches bactériennes indicatrices

L'antibiogramme des souches bactériennes responsables de mammite subclinique bovine a été réalisé en sélectionnant sept antibiotiques utilisés dans le traitement des mamites et en

suivant les recommandations de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), document édité avec la collaboration de l'OMS, 6^{ème} édition (Réseau Algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques). Les résultats présentés dans le [tableau \(17\)](#) indiquent que *Klebsiella pneumoniae* représente une résistance à tous les antibiotiques testés sauf à (SXT), *Enterobacter sp* sensible à seulement deux antibiotiques (SXT, AMC), *Staphylococcus simulans* et *xylosus* sont sensibles à (BCT, SXT, AMC, AMP). [Sigh et al. \(2016\)](#) a signalé la résistance des bactéries isolées du lait mamiteux à Cefotaxime, Ampicillin-sulbactam, Cefixime et Ceftriaxone. [Harini et Sumathi \(2011\)](#) ont démontré la résistance des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus sp*, *Klebsiella sp*, *Bacillus sp*) isolées à partir des laits des vaches laitières atteintes de mammite subclinique en Inde résistantes à Colistine, Néomycine, Streptomycine, Penicilline et Tétracycline. Une étude récente menée par [Bolte et al. \(2020\)](#) a rapporté que certains isolats de mammite bovine ont développé une résistance aux antibiotiques fréquemment utilisés en nord de l'Allemagne.

Tableau 17: sensibilité des souches indicatrices aux antibiotiques

Références des antibiotiques testés	Bactéries pathogènes indicatrices			
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
BCT	R	R	S	S
SXT	S	S	S	S
P	R	R	R	R
AMC	R	S	S	S
S	R	R	R	R
AMP	R	R	S	S
OX	R	R	R	R

BCT: Bacitracine, SXT: Trimetoprim+Sulfaméthoxazole, P: Penicilline, AMC: Amoxicilline Acid Clavulanic S: Streptomycine, AMP; Ampicilline, OX: Oxacilline, S: sensible, R: résistante.

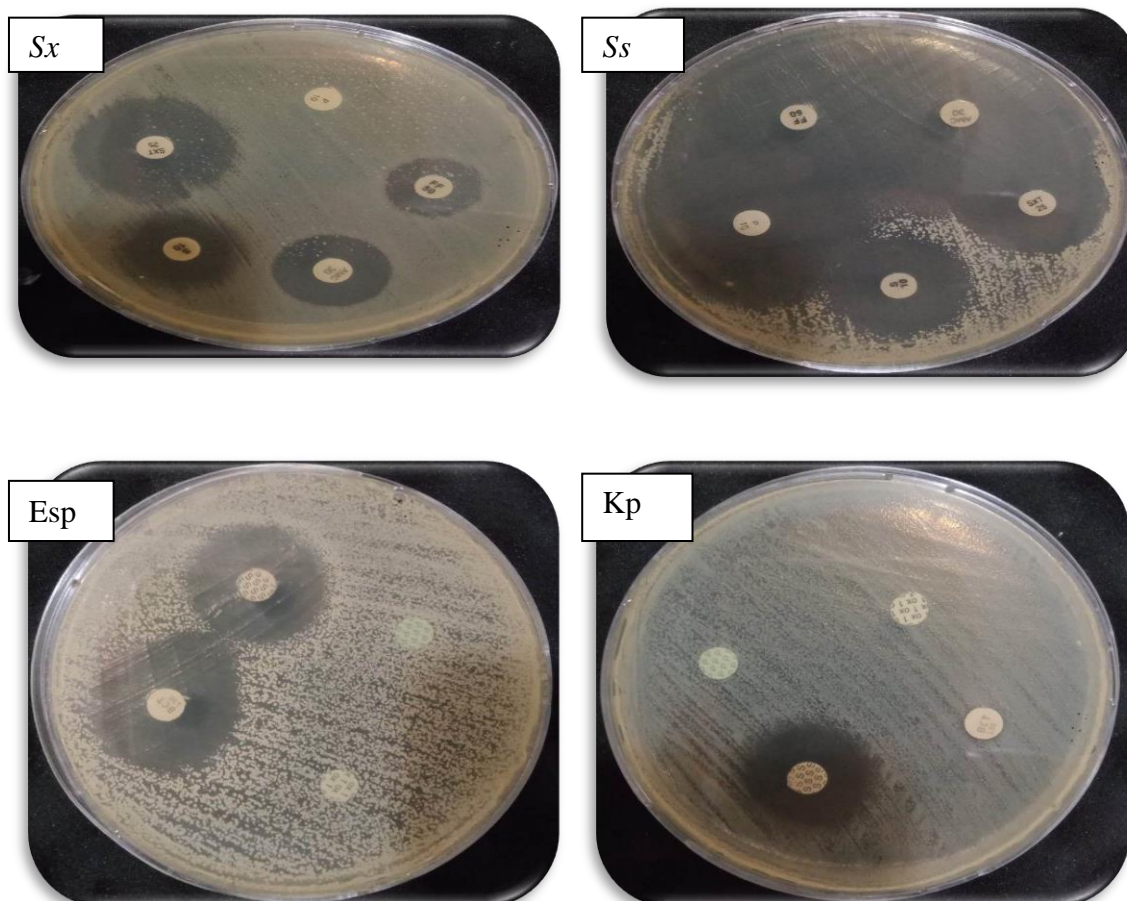


Figure 68 : antibiogramme des souches pathogènes : *Sx* : *Staphylococcus xylosus*, *Ss* : *Staphylococcus simulans*, *E sp* : *Enterobacter sp*, *Kp* : *Klebsiella pneumoniae*

VIII. 6.2. activité antibactérienne de la culture des lactobacilles (méthode de double couche) :

L'effet antibactérien des 11 *lactobacillus* a été évalué par la méthode de double couche. Les zones d'inhibition ont été mesurées en mm à l'aide de pied à coulisse.

Les résultats illustrés dans le [tableau \(18\)](#) et [la figure 69](#) montrent que toutes les souches indicatrices sont sensibles à l'action inhibitrice des lactobacilles dont les zones d'inhibition varient entre $5 \pm 0,05$ mm correspond à lb87 isolé de l'échantillon E14 à $21,5 \pm 2,12$ mm correspond à lb170 isolé de l'échantillon E35 pour *K pneumoniae*, de $8 \pm 2,83$ mm correspond à lb234 isolé de l'échantillon E31 à $19,5 \pm 2,12$ mm correspond à lb170 isolé de l'échantillon E35 pour *Enterobacter sp*, de $6 \pm 0,01$ mm correspond à lb87 isolé de l'échantillon E14 à $14,5 \pm 0,71$ mm correspond à lb234 isolé de l'échantillon E31 pour *S simulans* et de $5 \pm 0,02$ mm correspond à lb133 isolé de l'échantillon E12 à $14 \pm 1,41$ mm correspond à lb21 isolé de l'échantillon E20 pour *S xylosus*.

Cependant la moyenne de la zone d'inhibition la plus élevée a été observée à *Enterobacter sp* suivit par *Klebsiella pneumoniae*, *S simulans* et *S xylosus*, permettant nous de conclure que les cultures bactériennes sont plus efficaces contre les bactéries à Gram négatif que les bactéries à Gram positif.

Tableau 18: diamètres des zones d'inhibition par méthode de double couche.

Miel	Isolat de lactobacille	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)			
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Staph. simulans</i>	<i>Staph.xylosus</i>
E1	lb75	13±1,41	15±1,41	11,5±2,12	11±0,01
E2	lb108	10,5±0,71	13±1,41	6,5±2,12	9,5±0,71
E12	lb133	13,5±0,71	19±1,41	10±0,71	10±1,41
E14	lb87	5±0,05	8±2,83	6±0,01	5±0,02
E20	lb21	18,5±2,12	18±2,83	12±2,83	14±1,41
E23	lb38	8±1,41	14±2,83	11±1,41	10,5±0,71
E31	lb234	11,5±0,71	8,5±0,71	14,5±0,71	11,5±2,12
E31	lb109	5,5±0,71	13±1,41	6,5±2,12	9,5±0,71
E35	lb174	10±0,05	15±1,41	13,5±2,12	10,5±0,71
E35	lb170	21,5±2,12	19,5±2,12	8±2,83	11±1,41
E35	lb175	14±1,41	13,5±0,71	13,5±0,71	12,5±0,71

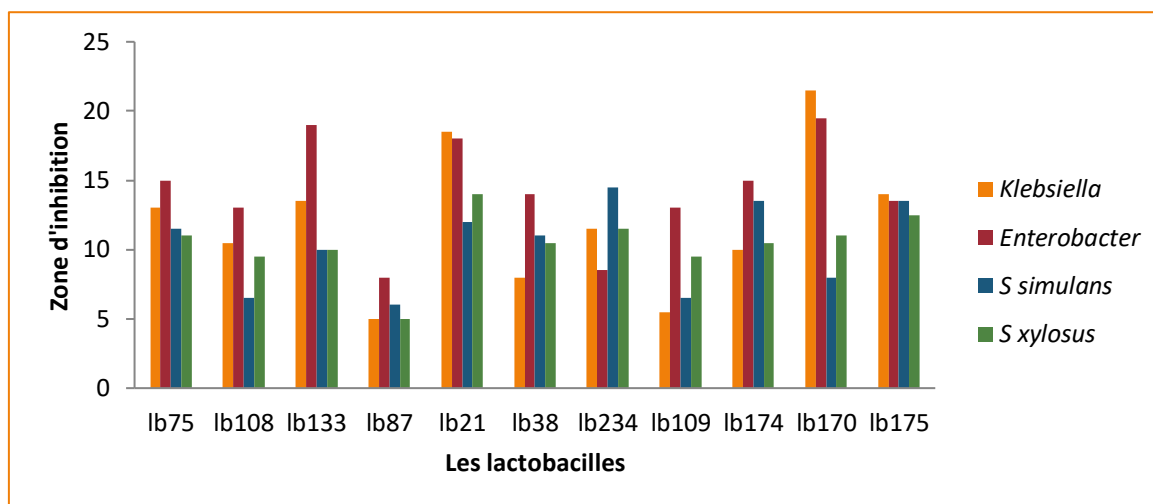


Figure 69: activité antibactérienne des cultures bactériennes des lactobacilles par méthode de double couche.

VIII.6.3. Activité antibactérienne des surnageants des cultures bactériennes

La méthode de diffusion sur gélose par utilisation des puits a été réalisée avec les surnageants des cultures des lactobacilles ciblées. Selon les résultats illustrés dans le [tableau 19](#) et la [figure 70](#), on a constaté que seulement six surnageants ont un effet antibactérien contre les souches indicatrices. Les valeurs des diamètres d'inhibition les plus élevés ont été notées dans *Enterobacter sp* et *K pneumoniae* respectivement $10,5\pm 0,71$ et $10\pm 1,41$ mm pour lb38 isolé de l'échantillon E23. Tandis que, dans les souches de staphylocoque la valeur la plus élevée est de $7,5\pm 0,71$ mm pour lb170 isolée de l'échantillon E35.

Tableau 19 : diamètres des zones d'inhibitions par méthode de surnageant

Miel	Isolats des lactobacilles	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)			
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Entérobacter sp</i>	<i>Satph simulans</i>	<i>Staph xylosus</i>
E1	lb75	0	0	0	0
E2	lb108	$7\pm 1,41$	$8.5\pm 0,71$	$6\pm 0,71$	$6.5\pm 0,71$
E12	lb133	0	0	0	0
E14	lb87	0	0	0	0
E20	lb21	$9\pm 0,71$	$8.5\pm 0,71$	$7\pm 0,71$	$6\pm 0,71$
E23	lb38	$10\pm 1,41$	$10.5\pm 0,71$	$6\pm 0,71$	$8.5\pm 0,71$
E31	lb234	$6\pm 0,01$	$6.5\pm 0,71$	$5.5\pm 0,01$	$6\pm 1,71$
E31	lb109	0	0	0	0
E35	lb174	$8.5\pm 1,41$	$9\pm 0,71$	$6.5\pm 0,71$	$5.5\pm 0,71$
E35	lb170	$8\pm 0,71$	$10\pm 0,71$	$7.5\pm 0,71$	$7.5\pm 0,71$
E35	lb175	0	0	0	0

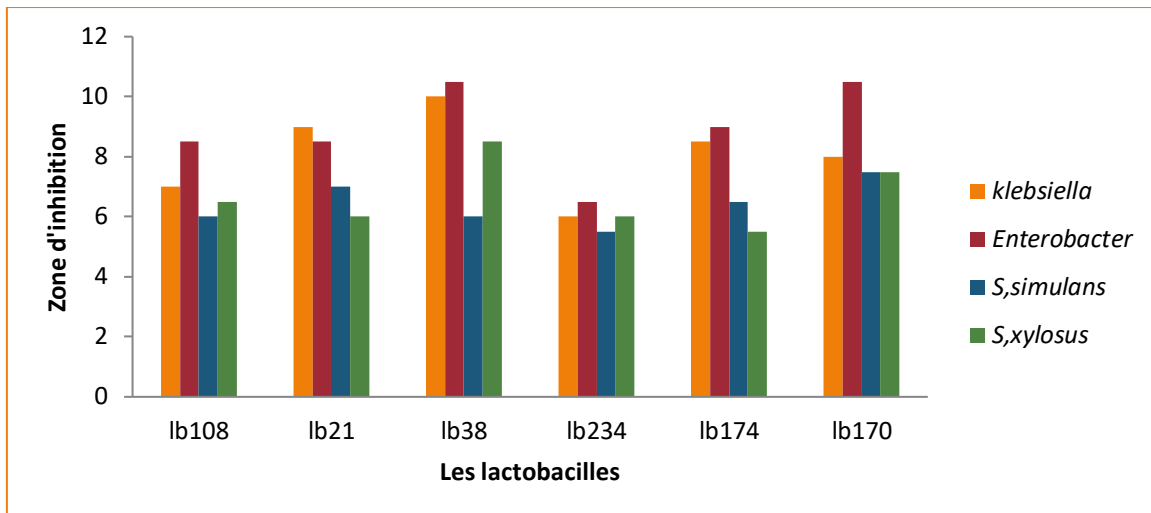


Figure 70 : activité antibactériennes des cultures bactériennes par méthode de surnageant.

Les résultats de l'activité antibactérienne des cultures des lactobacilles montrent que la valeur la plus élevée a été observée avec lb170 issu de l'échantillon E35 ($21,5 \pm 2,12$ mm) contre *Klebsiella pneumoniae* et lb133 issu de l'échantillon E12 ($19 \pm 1,41$ mm) contre *Enterobacter sp* tandis que les moindres valeurs ont été observées avec lb87 issu de l'échantillon E14 contre

S. xylosus ($5 \pm 0,02$ mm) et *S. simulans* ($6 \pm 0,01$ mm). Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Piccart *et al.* (2016) qui a rapporté que 13 isolats des bactéries lactiques dont *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* détectés dans le miel ont un effet antibactérien *in vitro* contre les souches bactériennes responsables de mammite bovine. Geetha *et al.* (2015) ont démontré l'efficacité des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés contre des souches bactériennes pathogènes responsables de mammite bovine. Lashani *et al.* (2018) a montré que les miels Iraniens peuvent être une source des différentes souches de *Lactobacillus* tels que *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus paracasei*, ainsi leur effet antibactérien a été prouvé contre *Staphylococcus aureus*. Ugras *et al.* (2017) a signalé que *Lactobacillus Kunkeei* isolé de l'estomac des abeilles inhibe la multiplication de *Escherichia coli* ATCC 35218, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Sandi *et al.* (2016) ont montré l'effet antimicrobien des *Lactobacillus kunkeei* (Fhon2, Yubipro, lahm) isolés de tractus digestif de l'abeille contre des souches pathogènes tels que *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA. L'effet antibactérien des *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* détectés

dans les miels algériens a été étudié récemment par [Homrani et al. \(2018\)](#) contre des souches bactériennes à Gram négatif (*Ecoli* et *Pseudomonas aeurogenosa*).

A fin de déterminer les mécanismes d'action inhibitrice des études antérieures ont été menées dans ce sens, les bactéries lactiques originaires du tube digestif de l'abeille sont capables de produire des composés antibactériens à large spectre contre *Serratia marcescens*, *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline, *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *S. aureus* et *Bacillus subtilis*. De plus, les bactéries lactiques possèdent une activité antioxydante induit à l'adhérence des cellules épithéliales en cas de plaie ([Niode et al., 2019](#)). L'effet inhibiteur que possèdent les *Lactobacillus* isolés à partir des miels frais est à l'origine de production par ces *Lactobacillus* des composés bioactifs tels que l'acide lactique, acide d'acétate, acide formique, peroxyde d'hydrogène, éthanol, enzymes, benzoate, peptides antimicrobiens (AMP), et composés volatils ; ces composés agissent en synergie comme des antimicrobiens à large spectre contre multiple agents pathogènes ([Olofsson et al, 2016](#)).

Selon les mêmes auteurs, l'acide lactique, l'acide formique et l'acide acétique produits par les lactobacilles réduisent le pH ce qui provoque une intolérance au développement de germe de *Pseudomonas aeruginosa*. Ils suggèrent que ces composés contribuent aux propriétés antibactériennes des miels et les métabolites des bactéries lactiques ne disparaissent pas avec le temps. [Bulter et al. \(2013\)](#) montrent que 13 espèces de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* isolés des miels frais de *Apis mellifera* produisent une grande quantité de protéines et peptides qui peuvent avoir une fonction antimicrobienne (bactéricine, lysozyme, enzymes).

Les résultats de l'effet antibactérien du surnageant contre les souches indicatrices montrent que ces dernières sont sensibles à l'action inhibitrice du surnageant des cultures de Ib108, Ib21, Ib38, Ib234, Ib174, Ib170. [Lashani et al. \(2020\)](#) ont démontré que l'effet inhibiteur de surnageant des cultures de *Lactobacillus plantarum*, *rhamnosus*, *paracasei*, *Kunkeei*, *fermentum*, *acidophilus* isolés à partir des miels iraniens contre les souches pathogènes :

B cereus (D14), *S enteritidis* (F17), *EPEC* (E2348/69), *E coli* (O157H7EDL 933), *S flexneri* (ATCC 12022), *S aureus* (ATCC 25923), *L monocytogene* (PTCC 1295). [Aween et al. \(2012\)](#) ont démontré que le surnageant de culture de *Lactobacillus acidophilus* isolé à partir des miels Malaisiens contient des composés antimicrobiens stables à la chaleur, différent pH et protéinase contre des souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques : *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Staphylococcus epidermis* (ATCC12228) et *Bacillus*

subtilis (ATCC21332). Les mêmes auteurs ajoutent que la présence de telle bactérie lactique dans le miel pourrait être un des critères à prendre en considération dans le choix du miel pour des applications pharmaceutiques, des soins de santé et de produits alimentaires.

D'après [Diepers *et al.* \(2016\)](#) ont montré le potentiel inhibiteur des bactéries lactiques isolées à partir des produits laitiers en utilisant le surnageant de *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus paracaei* contre six agents pathogènes de mammites bovines en Allemagne (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *Streptococcus uberis*, *agalactiae* et *Escherichia coli*. 170), ainsi l'effet adhésif *in vitro* de ces lactobacilles à l'épithélium du canal de trayon, ont suggéré que ces bactéries lactiques peuvent être utilisées comme probiotiques pour traiter et prévenir les mammites bovines.

L'absence d'un halo d'inhibition des autres *Lactobacillus* (lb75, lb133, lb87, lb109, lb175) peut s'expliquer par l'insuffisante quantité des agents antimicrobiens ou mauvaise diffusion dans la gélose. La formation des halos de différents diamètres est en fonction de la quantité des composés antimicrobiens qui agissent en synergie.

La présence d'un halo inhibition ne signifie pas forcément la production de bactériocine, ([Klaenhammer, 1993](#)). Les bactéries lactiques sont connues par la production des acides organiques dans le milieu, on peut aussi reconnaître que ces bactéries produisent des substances antimicrobiennes par le peroxyde d'hydrogène ([Barefoot et Klanenhammer, 1984](#)). La production d'acides organiques par les bactéries lactiques homofermentaires se traduit uniquement par la production d'acide lactique tandis que les hétérofermentaires produisent l'acide lactique, formique, acétique, d'éthanol, dioxyde de carbone ([Liu *et al.*, 2003](#)), ce qui conduit à l'acidification du milieu en inhibant la multiplication d'un large spectre de bactérie pathogène. Le peroxyde d'hydrogène est connu comme un majeur agent de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques en particulier les lactobacilles, il agit par oxydation des lipides membranaires et la destruction des protéines cellulaires ([Zalan *et al.*, 2005](#)). Il existe d'autres agents identifiés comme antimicrobiens tels que le diacétyl qui a une action inhibitrice accentuée en milieu acide, les bactéries à Gram négative sont plus sensibles que les bactéries à Gram positif. [Mathot *et al.*, \(1996\)](#) et [Alexsson *et al.* \(1989\)](#), ont découvert l'action inhibitrice d'un autre agent antimicrobien, la reuterine substance sécrétée par *Lactobacillus reuteri*, elle a un large spectre d'activité.

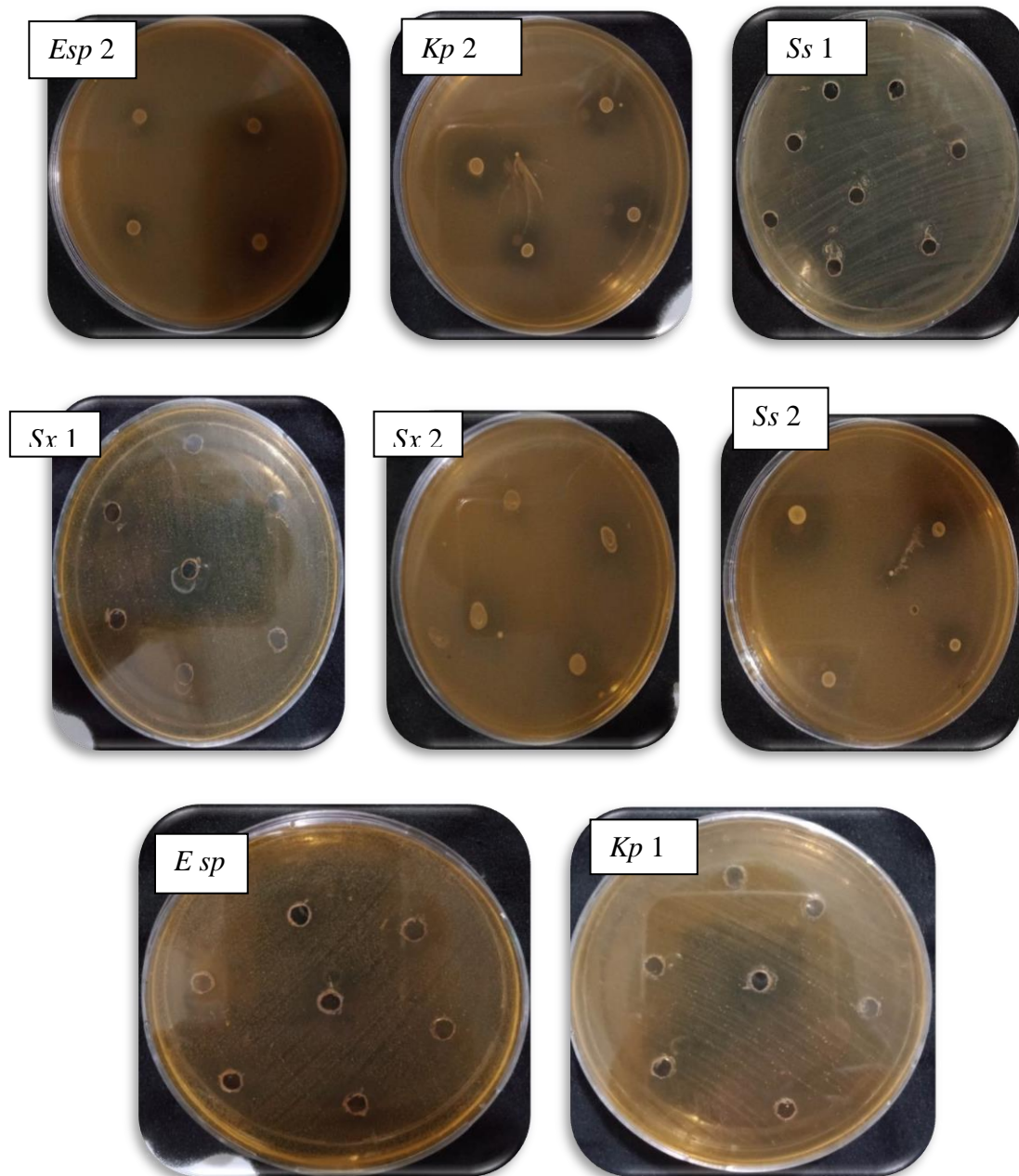


Figure 71: activité antibactérienne des lactobacilles contre les souches bactériennes pathogènes. *E sp* : *Enterobacter sp*, *Kp* : *Klebsiella pneumoniae*, *Sx* : *Staphylococcus xylosus*, *Ss* : *Staphylococcus simulans*, 1 : méthode des disques, 2 : méthode des surnageants.

La mammite subclinique bovine est une maladie d'origine infectieuse qui touche la glande mammaire chez la vache laitière (Gomes *et* Henriques, 2015). Elle constitue la majeure pathologie dans l'élevage bovin, touche 50% des vaches laitières (1 vache/2 au cours de sa carrière) et 25% des quartiers, entraîne des pertes économiques énormes dans la production laitière par fois même la réforme de la vache atteinte à cause de destruction complète du son

parenchyme mammaire (Romero *et al.*, 2018). Le traitement des mammites est à base de l'antibiothérapie qui entraîne par conséquent des pertes financières dans la transformation laitière (industrie fromagère), le coût des antibiotiques est élevé, l'émergence de l'antibiorésistance, donc le traitement alternatif par des composés bioactifs doit être nécessaire (Cheng *et al.*, 2020 et Diepers *et al.*, 2016).

Le miel est connu par ses propriétés antiseptiques, cicatrisantes, et antibactériennes qui peuvent agir sur les lésions inflammatoires d'origine infectieuse comme la mammite subclinique. Récemment une étude préliminaire indique l'efficacité du miel comme un traitement alternatif contre les souches pathogènes responsables de mammite subclinique bovine (Benhanifia *et al.*, 2019).

Il faut tenir que le miel est un produit naturel, disponible, moins coûteux et ne nécessite pas un délai d'attente comme les antibiotiques.

Nos résultats ont décrit l'activité antibactérienne que possède le miel de la région de Mostaganem contre des bactéries aussi résistantes. Or, la présence des lactobacilles dans ces miels avec un effet inhibiteur qui se manifeste lors de l'utilisation de surnageant ; c'est à dire des substances extra-cellulaires sécrétées par les lactobacilles, donc on peut déduire que les lactobacilles ajoutent des composés antimicrobiens aux miels en améliorant les effets antimicrobiens et thérapeutiques de ce dernier. Les résultats obtenus serviront comme une base pour une étude plus approfondie pour le traitement et la prévention des mammites subcliniques d'une manière plus durable à l'avenir.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent travail est une étude rétrospective et prospective sur les caractéristiques palynologiques, physico-chimiques, biologiques et microbiologiques des miels de la région de Mostaganem.

Le premier volet apporte des connaissances sur les pratiques d'élevage apicole et de gestion des ruchers à travers une enquête sur le terrain. Il se trouve que la majorité des apiculteurs sont de sexe masculin, l'ancienneté dans le domaine apicole est de moyenne de 14,70 ans dont 64% sont des professionnels, 72,5% des apiculteurs possèdent un agrément sanitaire d'élevage apicole fourni par l'inspection vétérinaire de la wilaya de Mostaganem, seulement 32% des apiculteurs participent aux séminaires et 52% aux salons d'expositions. Concernant le nourrissage 82% des apiculteurs appliquent le nourrissage par le sirop, 95% des apiculteurs font l'essaimage artificiel, la transhumance est exercée par 49,01% des apiculteurs interrogés. La varroase est un ennemi et cause des dégâts considérables. L'enquête a souligné que la totalité des apiculteurs produisent le miel, 46,84 % des apiculteurs produisent le pollen, la propolis, la gelée royale, la cire 27,96 % ; 21,6% ; 3,6% respectivement. La cherté des équipements apicoles, le manque de marché d'exportation, les pathologies, la sécheresse et l'inefficacité de subvention par le secteur agricole constituent les principales contraintes de la filière. Cette mise au point nous a permis de faire un diagnostic de la situation de l'apiculture dans la région de Mostaganem ; cependant la richesse de biodiversité ne reflète pas le schéma de production dont la technicité pourrait être améliorée.

Le deuxième volet se consacre sur l'étude méliissopalynologique des miels. L'analyse pollinique qualitative a révélé la présence de 29 miels polyfloraux et 46 miels monofloraux répartis en cinq (5) origines botaniques : *Eucalyptus* (n=19), *Citrus* (n=12), *Daucus carota* (n=7), *Genista t* (n=7), *Punica granatum* (n=1). Les pollens répertoriés dans les miels sont réparties en 20 familles botaniques et 39 espèces végétales dont trois représentent des espèces pollinifères, les familles les plus fréquentes dans les miels de la région de Mostaganem sont les *Fabaceae* et les *Astreaea* avec 7 taxons pour chacune suivis par les *Apiaceae*, *Myrtaceae*, *Oleaceae*, *Lythraceae*, *Boraginaceae*, *Papaveraceae*. L'analyse quantitative a montré une densité moyenne en grains de pollen dans les miels de $2,5 \times 10^4$ grains /g de miel, un pourcentage de 15% pour les miels pauvres en pollen, 42% pour les miels moyennement riches en pollen, 31% pour les miels riches en pollen, 7% pour les miels très riches en pollen et 5% sont extrêmement riches en pollen. L'étude palynologique des miels

participe à la mise en place d'une banque de données référentielles pour les différents miels de la région de Mostaganem où la diversité végétale et les conditions climatiques sont favorables pour la production de cette matière.

Sur le plan qualité, un troisième volet a été consacré de la caractérisation des miels sur le plan physicochimique. Les résultats obtenus ont été comparés avec les normes recommandées par le *Codex Alimentarius*. La valeur moyenne de l'humidité s'accorde avec la norme internationale, seulement cinq (5) sur 75 échantillons analysés présentent une teneur supérieure à la norme, ce qui indique la sensibilité de ces miels à la fermentation. Cinquante-deux échantillons ont des teneurs inférieures à 18%, conduisant à une longue durée de conservation. Le pH et la conductivité électrique sont utilisés pour différencier les miels de nectar à ceux de miellat. La valeur moyenne de pH et de conductivité électrique respectivement est de $3,65 \pm 0,19$; $0,552 \pm 0,21$ mS/cm, sont des valeurs qui s'accordent avec la norme internationale établie pour le miel de nectar. Dix sept (17) échantillons ont exprimé des valeurs inférieures à 3,5 pour le pH dont les échantillons ont tendance d'être plus efficaces contre la croissance des microorganismes. Onze (11) échantillons ont présenté des valeurs de conductivité électrique supérieures à la norme, et qui peut être expliqué par la richesse en pollen et la couleur foncé des miels concernés, ce qui provoque une meilleure conductibilité électrique.

L'HMF est considéré comme un indice de surchauffage, sa valeur moyenne est de $16,14 \pm 9,61$ mg/kg, ce qui confirme que les miels ont été récoltés et conservés dans des bonnes conditions. Il a été constaté que les variations des paramètres suivants : humidité, pH, la conductivité électrique et la couleur sont en fonction de variation de l'origine florale et de la région de récolte. Le miel de *Punica granatum* est le plus sec tandis que les miels de *Genista* et de *Citrus* sont les plus humides. Les miels polyfloraux se présentent comme étant les plus acides, les plus clairs et les moins conductibles, alors que ceux d'*Eucalyptus* et de *Daucus carota* sont les plus foncé et les plus conductibles. Les miels de l'Est de Mostaganem sont les plus foncé suivis par les miels de l'Ouest et de Dahra, tandis que les miels de centre de Mostaganem sont les plus clairs.

Le dosage des sucres de huit échantillons de miel (4 échantillons de miel d'*Eucalyptus* et 4 échantillons de miel de *Daucus carota*) a montré que le fructose, le glucose, le maltose et le turanose sont détectés avec des moyennes des pourcentages suivants et respectivement: 39,15%, 31,28%, 1,77%, 1,67%. Le saccharose et le mélizitose sont présents respectivement avec des pourcentages de (<1,9%) et (<1,67%) dans les miels. La valeur moyenne des sucres

réducteurs est de 70,22%. Tous ces résultats de dosage des sucres sont conformes avec ceux recommandés par le *Codex Alimentarius* donc les miels analysés n'étaient pas falsifiés. Les variations des concentrations en sucres ne sont pas significatives par rapport à l'origine florale et l'origine géographique.

Dans le quatrième volet, les propriétés biologiques des miels ont été étudiées, le pouvoir de piégeage des radicaux libres a été estimé. Les moyennes des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux étaient dans l'ordre de $47,32 \pm 23,05$ EAG/100g et $9,34 \pm 4,63$ EQ/100g respectivement et les moyennes de l'activité antioxydante et IC_{50} étaient de $40,7 \pm 18,45\%$ et $18,37$ mg/ml respectivement. Il a été observé une différence significative entre la région et les teneurs en PT et FT, le Dahra et l'Est de Mostaganem présentent les valeurs les plus élevées de PT et FT, une faible valeur de l' IC_{50} signifie une meilleure activité antioxydante. L'activité antioxydante est significativement corrélée avec les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et la couleur, précisant que les composés phénoliques sont les meilleurs contributeurs de l'activité antioxydante.

Aussi, l'activité antibactérienne des miels étudiés a été évaluée contre des souches bactériennes responsables de mammite subclinique bovine, tous les miels possèdent un effet antibactérien contre : *S simulans*, *S xylosus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp.* Les souches à Gram positif sont plus sensibles par rapport aux souches à Gram négatif et les miels bruts expriment des activités antibactériennes les plus fortes que les miels dilués. À la lumière de ces résultats il a été suggéré que des inhibines non peroxydes ont participé avec l'effet osmotique et le pH à l'activité antibactérienne.

Selon l'origine florale les souches de *S simulans* et *S xylosus* sont sensibles aux miels de *Daucus carota*, le miel d'*Eucalyptus* est plus efficace contre la souche de *K pneumoniae*, tandis que les miels de *Punica granatum* et *Genista* semblent être les moins efficaces. La souche de *Enterobacter sp.* est sensible aux miels polyfloraux. Cette étude préliminaire confirme le potentiel antibactérien du miel *in vitro* contre les agents de la mammite subclinique bovine.

Le cinquième volet, vise à caractériser les miels microbiologiquement, dans le premier aspect concerne l'isolement et l'identification phénotypique et génotypique des lactobacilles à partir des miels crus ont fait l'objet du REP-PCR et le séquençage d'ADNr 16S a révélé la présence de *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* dans les miels.

Le deuxième aspect se consacre sur l'étude de l'effet antibactérien contre les souches bactériennes précédemment citées. Les résultats ont démontré que toutes les souches indicatrices sont sensibles à l'action inhibitrice des lactobacilles, la zone d'inhibition la plus élevée est observé dans la souche de *Klebsiella pneumoniae* $21,5\pm 2,12$ mm correspond à lb170 isolé de l'échantillon E35 (*Daucus carota*), suivis par $19,5\pm 2,12$ mm correspond à lb170 isolé de l'échantillon E35 dans la souche *Enterobacter sp*, les plus faibles valeurs sont observés dans lb87 isolé de l'échantillon E14 (*Daucus carota*) contre *K pneumoniae* et *S xylosus* avec des valeurs $5\pm 0,05$ et $5\pm 0,02$ mm.

Six sur onze surnageant présentent des activités antibactériennes, les valeurs des diamètres d'inhibition les plus élevés ont été enregistrés dans *Enterobacter sp* et *K pneumoniae* respectivement $10,5\pm 0,71$ et $10\pm 1,41$ mm pour lb38 isolé de l'échantillon E23, dans les souches de staphylocoque la valeur la plus élevée est de $7,5\pm 0,71$ mm pour lb170 isolée de l'échantillon E35, les valeurs les plus faibles ont été notés dans les souches de staphylocoque $5,5$ mm pour lb174 isolé de l'échantillon E35 et lb234 isolé de l'échantillon E31 (polyfloral). L'effet antibactérien du miel est favorisé par un écosystème bactérien représenté principalement par les lactobacilles qui ont un fort pouvoir antibactérien contre les souches à Gram négatif et qui sont les plus résistantes aux antibiotiques. Le miel et lactobacilles constituent un traitement alternatif prometteur de mammite subclinique bovine.

Des approches méthodologiques ont pu être utilisées pour la valorisation des miels de la région de Mostaganem, notre étude pourra poursuivie par :

- Des études similaires à la présente doivent être répétées régulièrement, pour mettre à jour les données sur l'appellation des miels.
- Un inventaire botanique sur les sites de production pour une identification précise de pollen et la confirmation de l'origine botanique et géographique.
- La labélisation des miels de la région de Mostaganem.
- la méthode d'analyse RMN doit être adoptée pour confirmer la caractérisation physicochimique et botanique.
- la détermination des principes actifs antibactériens des miels et des lactobacilles.
- Elargir l'effet antibactérien des miels et des lactobacilles par rapport aux nombre des bactéries pathogènes.

Conclusion

- une étude préliminaire sur préparation intramammaire de miel avec le surnageant des cultures de lactobacilles pour le traitement *in situ* de mammite subclinique bovine.

Références bibliographiques

Les références bibliographiques

Abdulrhman, M., El Barby, N.S., Ahmed Amine,D., Saeid Ebrahim,R.(2012). Honey and mixture of honey, beeswax, and olive oil-propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis :a randomized controlled pilot study. *Pediatr Hematol Oncol.*29(3):285-92.

Abee, T. (1995). Pore-forming bacteriocins of Gram+ bacteria and self-protection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, 129, 1-9.

Abselami, A., Tahani, A., Sindic, M., Fauconnier M.L., Bruneau, E., Elbachiri, A. (2018). Physicochemical Properties of some Honeys Produced from Different Flora of Eastern Morocco. *Journal of Materials and Environmental Sciences.* V9, Iss 3, P. 879-886.

Abubakar, M. B., Abdullah, W. Z., Sulaiman, S. A., and Suen, A. B. (2012). A review of molecular mechanisms of the anti-leukemic effects of phenolic compounds in honey. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 15054–15073. doi: 10.3390/ijms131115054.

Abuharfell B., Al-oran R., Abo-shehada M. (1999).the effect of bee honey on the proliferative activity of human band t lymphocyte and the activity of phagocytes. *Food Agric Immunol*, 11:169-77.

Accorti, M., Piazza, M.G., Persano, Oddo. L. (1987). La conductivité électrique et le contenu en cendre du miel, *Apiacta* 22, 19–20.

Adams, C. J., Boulton, C. H., Deadman, B. J., Farr, J. M., Grainger, M. N. (2008). Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr. Res.* 343, 651–659.

Adenekan, M. O., Amusa, N. A., Lawal, A. O., Okpeze, V. E. (2010). Physico-chemical and microbiological properties of honey samples obtained from Ibadan. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 2, 100–10.

Ajlouni, S., Sujirapinyokul, P. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chem* ;119(3):1000-5.

Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., Al-Belushi, S. 2018. Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon* 4 : e00874.

Al, M.L., Daniel, D., Moise A., Bobis, O., Laslo L. and Bogdanov S. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*,112: 863-867.

Al somai, N., Coley, K., Molan, P.C., Hancock, B.M. (1994). Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the antibacterial activity of Manuka honey. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 87 (1), 9-12.

Alevia, M., Rasines, S., Cantero, L., Sancho, M.T., Fernández-Muiño, M.A., Osés, S.M. (2021). Chemical Extraction and Gastrointestinal Digestion of Honey: Influence on Its Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activities. *Foods*, 10, 1412.

Alexis Desmoulière. (2013). Le miel : origine et composition actualités pharmaceutiques, n 531.

Al-Farsi, M., Al-Belushi, S., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., Al-Rusheidi, M., Al-Alawi, A. (2018). Quality evaluation of Omani honey. *Food chemistry*. (262), 162-167.

Aljadi, A. M. and Yusoff, K. M. (2003). Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties. *Turkish J. Med. Sci.* 33, 229–236.

Aljadi, A. M., Kamaruddin, M. Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518.

Aljohar. H.I, Aljohar. I. H, Maher. M.H, Albaqami. J, Al-Mehaizie. M, Orfali. R, Alrubia. S. (2018). Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market: An important aspect in the authentication process and quality assessment. *Saudi Pharmaceutical Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.04.013>.

AL-Mamary, M., Al-Meeri, A., Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.*22, 1041–1047.

Alqarni. A. S, Owayss.A. A, Mahmoud.A. A. (2012). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.11.013>.

Alqarni, A.S. (2011). Beekeeping in Saudi Arabia: Current and Future (in Arabic), first ed., Saudi Society for Agricultural Sciences, King Saud Univ., Riyadh, 40, No. 21.

Alvarez- Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Vidaland, A., Battino M. (2009). Methodological aspects about determination of phenolic compounds and In vitro evaluation of antioxidant capacity in the honey. *Curr-Anal. Chem*, 5:293–302.

Alvarez- Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, Enrico Bertoli, A., Battino M. (2010). Apport du miel à la nutrition et à la santé humaine: un bilan. *Revue Méditerranéenne de Nutrition et Métabolisme*3 (1):15-23.

Al-Waili, N. S. (2004). Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. *J Med Food*;7:210–222.

Al-Waili, N., Al Ghamdi, A., Ansari, M.J., Al-Attal, Y., Al-Mubarak, A., Salom, K. (2013). Differences in composition of honey samples and their impact on the antimicrobial activities against drug multiresistant bacteria and pathogenic fungi. *Archives of Medicinal Research*. 44(4):307–16.

Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of maillard reaction products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(2), 109–111.

Amri, A., 2015. Contribution à l'étude approfondie de quelques miels produits en Algérie: Aspect physico-chimique et botanique. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, 170p.

Anderson, K.E., Carroll, M.J., Sheehan, T., Mott, B.M., Maes, P. and Corby-Harris, V. (2014). Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Mol Ecol* 23, 5904–5917.

Anderson, K.E., Sheehan, T.H., Mott, B.M., Maes, P., Snyder, L., Schwan, M.R., Walton, A., Jones, B.M. (2013). Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 8, 1–16.

Annamaria, R., Eugenio, P., Angela, G., Rocco, G.I., AbuSayem, T. Z.S.M., Mario, V. (2012). Genotypic diversity of stress response in *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus pentosus*. *International Journal of Food Microbiology*. V157 :Issue 2, 2 Pages 278-285.

AOAC, (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. Microchemical Determination of nitrogen. Micro-Kjeldahl method. Ref. 960.52. Association of Official Analytical Chemists. USA.

Aras, Ö. (2006). Üzüm Ve Üzüm Ürünlerinin Toplam Karbonhidrat, Protein, Mineral Madde ve Fenolik Bilesik İçeriklerinin Belirlenmesi.

Arvanitoyannis. I.S, Chalhoub. C, Gotsiou. P. kEfalas. P.L.S. (2005). Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (Multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 45: 193–203.

Asama, T., Arima, T.H., Gomi, T., Keishi, T., Tani, H., Kimura, Y., Tatefuji, T. and Hashimoto, K. (2015). *Lactobacillus kunkeei* YB38 from honeybee products enhances IgA production in healthy adults. *J Appl Microbiol* 119, 818–826.

Aschalew, N., Eyobel, M., Alemayehu, A. (2020). Physicochemical Analysis and Determination of the Levels of Some Heavy Metals in Honey Samples Collected from Three

District Area of East Gojjam Zone of Amhara Region, Ethiopia. *J AgriSci Food Res*, Vol. 11 Iss. 4 No: 279. Association of Official Analytical Chemists, 45(3), 548–551.

Audisio, M.C. (2017). Gram-positive bacteria with probiotic potential for the *Apis mellifera* L. honey bee: the experience in the Northwest of Argentina. *Probiotics Antimicrob Proteins* 9, 22–31.

Audisio, M.C. and Benitez-Ahrendts, M.R. (2011). *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut, exhibited a beneficial effect on honeybee colonies. *Benef Microbes* 2, 29–34.

Audisio, M.C. and Sabate, D.C. (2015). Effect of *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 on different parameters of honeybee colonies and bacterial populations of the bee gut. *Benef Microbes* 6, 687–695.

Aween, M.M., Hassan, Z., Muhialdin, B.J., Eljamel, Y.A., Al-Mabrok, A.S.W. and Lani, M.N. (2012). Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in Malaysia against selected multiple antibiotic resistant (MAR) gram-positive bacteria. *J Food Sci* 77, 364–371

Axelsson, L.T., Chung, T.C., Dobrogosz, W.Z., Lendgren, S. (1989). Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. *Micro. Eco. Health Dis.*, 2: 131-136.

Azonwadé, E. F., Armand, P., Bertin, G., Victorien, D., Haziz, D., Durand, D.M., Esther, D., Baba-Moussa, L. (2017). Chemical Screening and Antibacterial Activity of Honey Produced in Benin. *Indian Journal of Science and Technology*. Vol 10 (28).

Baghel, P.S., Shukla, S., Mathur, R.K., Randa, R. (2009). A comparative study to evaluate the effect of honey dressing and silver sulfadiazine dressing on wound healing in burn patients. *Indian J plast Surg.* 42(2) :176-81.

Bakchiche, B., Habati, M., Benmebarek, A., Gherib, A. (2018). Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locaux (Algérie). *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6 (1):118-123.

Balkanska, R., Stefanova, K., Stoikova-Grigorova, R., Gerginova, D., Simova, S., Atanassov, I. (2023). Assessment of the botanical origin of Bulgarian honey samples using melissopalynological, DNA barcoding and NMR analyses. *journal home page: botanicaserbica.bio.bg.ac.rs.* 47 (1): 75–85.

Baltac, C., Candan, S., Manuela, B., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M.B., Albertini, M.C., Piatti, E. (2006). Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem.* 97, 217–222.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* 533, 185–191.

Bang, L. M., Bunting, C., and Molan, P. (2003). The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *J. Altern. Complement Med.* 9, 267–273.

Barefoot, S.F., Kleanhammer, T.R. (1984). Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, lactacin b. *Antimicrobial. Agents chemother.* 26: 328-334.

Batista, B.L., Da Silva, L.R.S., Rocha, B.A., Rodrigues, J.L., Berretta-Silva, A.A., Bonates, T.O., Barbosa, F. (2012). Multi-element determination in Brazilian honey samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and estimation of geographic origin with data mining techniques. *Food Res. Int.* 49 (1), 209–215.

Baudrand H et al. (2009). Pneumopathie communautaire abcédée à *Klebsiella pneumoniae*. *Revue des Maladies Respiratoires.* 26 (7) : 773-778.

Bedad, F. C., Rafed, M. E. (2021). Evaluation de l'activité apicole dans La région de Bordj Bounaama. Thèse de Master. Université de Tissemsilt.

Belaid, M. (1999). Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification .*Mem. Mag.Agr.INA.* El Harrach.

Belay, A., Haki, G.D., Birringer, M., Borck, H., Addi, A., Baye, K., Melaku, S. (2017). Rheology and botanical origin of Ethiopian monofloral honey. *LWT-Food Sci. Technol.* 75, 393–401.

Belhaj, O., Oumato, J., Zrira, S. (2015). Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev.Mar.Sci.Agron.Vét.* 3 (3):71-75.

Benaziza-Bouchema, D., Schweitzer, P. (2010). Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. *Cah. Agric.* 19(6) : 1-7

Benhanifia, M. B., Boukraâ, L., Hammoudi, S. M., Sulaiman, S. A., Manivannan, L. (2011). Recent patents on topical application of honey in wound and burn management. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov;* 5(1):81-6.

Benhanifia, M., Ayad, A., Mohamed, W. (2019). Intramammary honey preparation for treatment of subclinical bovine mastitis: a preliminary study. *Org. Agr,* 10(2020) :1-8.

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

Bergman, A., Yanai J., Weiss, J., Bell D., David, M.P. (1983). Acceleration of wound healing by topical application of honey An animal model. *AmJ Surg.* 145 (37) : 4-6.

Bernard E. Vaissière, Abeilles, pollinisation et pesticides. (2002). Copyright Académie d'Agriculture de France. Séance du 16 février 2005. See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/265752070>

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem.* 105, 822–828.

Bogdanov, S., Bieri, K., Kilchmann, V., Gallmann, P. (2005). Miels monofloraux Suisses. *ALP Forum*, 23 : 1-55.

Bogdanov, S. (1997). Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen, *Agrarforschung* 4, 427–430.

Bogdanov, S. (1999). Stockage, Cristallisation et Liquéfaction du miel. Centre Suisse des recherches apicoles. Station de recherche Laitière, Liebefeld, CH-3003 Berne. p5.

Bogdanov, S. (2011). Elaboration and Harvest of Honey. In Bogdanov, S. *The Book of Honey.* Bee Product Science, 7 p.

Bogdanov, S. (2011). Elaboration and harvest of honey. *The Honey Book*, 8-14.

Bogdanov, S., Blumer P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre Suisse de recherches apicoles 8p.

Bogdanov, S., Gallmann, P. (2008). Authenticity of Honey and Other Bee Products State of the Art. *Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Bern (Switzerland).*

Bogdanov, S., Imdorf, A., Charrière, J.D., Fluri, P., Kilchenmann. (2003). Qualité des produits apicoles et sources de contamination. Centre suisse de recherches apicoles. 12P.

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 27, 677–689.

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health :a review. *J.AM.Coll Nutr ;27(6) :677-89.*

Bogdanov, S., Martin, P., Lullman, C., Borneck, R., Morlot, M., Heritier J., Vorwol, G., Russmann, H., Persano-Oddo, L., Sabatini A. G., Marcazzan, G. L., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A. and Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of the European Honey commission. *Apidologie (extra issue)*, 1-59.

Bogdanov, S., Ruoff, K., Persno-Oddo, L. (2004). Physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys : a review. *Apidologie.* 35 : 4-17.

Bolte, J., Zhang, Y., Wentz, N., Krömker, V. (2020). In vitro susceptibility of mastitis pathogens isolated from clinical mastitis cases on northern German dairy farms. *Veterinary sciences*, 7(1) : 10-16.

Bonte, F., Desmoulière, A. (2013). Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*. 52(531) : 18-21.

Borrelli, R. C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., Fogliano, V. (2002). Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6527–6533.

Boudiar, I., Bouacha, M., Besnaci, S., Kouch, M., Abdi, A., Schweitzer, P. (2022). high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (hpaec–pad) and physicochemical analysis of honey: evaluation of the composition and the quality. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 23 (3), pp. 217 – 229.

Boukraà, L., Sulaiman, S. A. (2010). Honey use in burn management :potentials and limitations .*Forsch Komplement med.*17(2) :74-80.

Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arab J Chem*11(2):265-74.

Bozin, B., Mimica-Duric N., Samojlik, I., Goran, A. et Igić R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum*L. Alliaceae). *Food Chem* ; 111:925-929.

Bradman, N. (2005). Apiculture et moyens d'existences durables . *Fiat Paris* .Rome.P :27-28.

Brandenburg, A. (2009). The sweetest thing: advances in nectar research. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 486–490.

Bruneau, E. (1998). Étude des miellées. *Abeilles & Cie*, 64 : 16-18.

Bruneau, E. (2002). Les produits de la ruche, m : Le traité Rustca de l'apiculture. *Rustics* ed. Paris.

Budge, G.E., Adams, I., Thwaites, R., Pietravalle, S., Drew, G.C., Hurst, G.D.D., Tomkies, V., Boonham, N. (2016). Identifying bacterial predictors of honey bee health. *J Invertebr Pathol* 141, 41–44.

Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Bohmer, B.W., Fábio, C.C., Da Silva, W.P., Zanusso, J. T., Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 333–340

Burdon, R. H. (1995). Superoxyde and hydrogen peroxyde in relation to mammalian cell proliferation. *Free Radical Biologie and Medecine*. 18(4) :775-94

Butler E, Alsterfjord M, Olofsson TC, Karlsson C, Malmstrom J, Vasquez A. (2013). Proteins of novel lactic acid bacteria from *Apis mellifera mellifera*: an insight into the production of known extra-cellular pro-teins during microbial stress. *BMC Microbiol*;13:235.

Butler, E., R. F. Oien, C. Lindholm, T. C. Olofsson, B. Nilson, and A. Vásquez. (2014). A pilot study investigating lactic acid bacterial symbionts from the honeybee in inhibiting human chronic wound pathogens. *Int. Wound J.* <http://dx.doi.org/10.1111/iwj.12360>.

Cane, J.H., Tepedino, V.J. (2017). Gauging the Effect of Honey Bee Pollen Collection on Native Bee Communities: *Apis* pollen depletion and native bees. *Conservation Letters* 10, 205–210. <https://doi.org/10.1111/conl.12263>

Cardozo, L. F. M. F., Pedruzzi, L.M., Stenvinkel, P., Stockler-Pinto, M.B., Daleprane, J.B., M, L. J., Mafrá, D. (2013). Nutritional strategies to modulate inflammation and oxidative stress pathways via activation of the master antioxidant switch Nrf2. *Biochimie* 1525–1533.

Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., Gonzalez-Vinas, M. A., Perez-Coello, M. S. (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme, and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*, 112, 1022–1030.

Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Moreno, G., Mato, I. (2006). An attempt to establish reliable « Best before » dates for honeys originating in both continental and oceanic climates. *Apiacta*, 41, 86-98.

Cavia, M.M., Fernández-Muiño, M.A., Gómez-Alonso, E., Montes-Pérez, M.J., Huidobro, J.F., Sancho, M.T. (2002). Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78(2), 157-161.

Cenet, M., Bozdogan, A., Sezer, G., Acar, L., Ulukanli, Z. (2017). Antimicrobial activities, pollen diversity and physicochemical properties of natural honey from Southeastern Anatolia of Turkey. *Adv. Life Sci.* 4(2): 47-54.

Cengiz, M.M.; Tosun, M., Topal, M. (2018). Determination of the physicochemical properties and ¹³C/¹²C isotope ratios of some honeys from the northeast Anatolia region of Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 39-44.

Chaikham, P., Kemsawasd, V., Apichartsrangkoon, A. (2016). Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. *Food Bioscience*, 15, 19–26.

Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G. L., Ferrazzi, P. (2016). Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. *Arab J Chem* 9 [S946-54].

Chataway, H.D. (1932). The determination of moisture in honey. *The Canadian Journal of Research*. 6(5) : 532-547.

Chefrour, A., Tahar, A. (2009). Origine botanique des miels des régions semi arides (Algérie).http://www.beekeeping.com/articles/fr/miels_alegriens.pdf .

Cheng, W.N., Han, S.G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australas J Anim Sci*, 33(11):1699-1713.

Chettoum, A., Feknous, n., Boumendjel, M., Mekhancha, D.E., Boudida, Y., Sedari, Anissa Berredjem, A., Ati, H, Zaidi, K., Boumendjel, A., Messarah, M. (2023). Biological, physicochemical and antibacterial properties of pure honey harvested at the municipality of Seraïdi (Annaba, north east of Algeria). *Food Sci. Technol, Campinas*, 43, e41022.

Chirife, J., Zamora, M. C., Motto, A. (2006). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 287–292.

Chirsanova, A., Capcanari, T., Boistean, A. (2021). Palynological, physico-chemical and biologically active substances profile in some types of honey in the republic of moldova. *Journal of Engineering Science Vol. XXVIII, no. 3, pp. 175 – 186.*

Cholet Orianne. (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. INRA de Paris-Grignon, Thèse de doctorat en sciences des aliments. 193 p.

Claude Gadbin. (1979). L'intérêt de l'acétolyse en méliissopalynologie. *Apidologie*, Springer Verlag, 10 (1), pp.23-28. fahal-00890478f.

Clémence, H. (2005). Le miel: de la source à la thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques*. 2005. fahal01733105f.

Clément, H. (2015). Le guide des miels : 50 miels à découvrir. Fleurus.

Codex Alimentarius. (2001). normes pour miel, adopté en 1981, révisé en 1987, 2001, modifié en 2019. *International food standards .FAO.WHO.CXS(12-1981).*

Combarros-Fuertes, P., Valencia-Barrera, R.M., Estevinho, L.M., Dias, L.G., Castro, J.M., Tornadizo, M.E., Fresno, J.M. (2019). Spanish honeys with quality brand: A multivariate approach to physicochemical parameters, microbiological quality, and floral origin. In: *J. Apic. Res*, 58, pp. 92 – 103.

Corrieu, G., Luquet, F. M. (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Tec & Doc, p 849.

Crane, E. (1991). The plant resources of honeybee. *Apiacta* 26:57-64.

D, Montet al., R. C. Ray., N. Zakhia-Rozis. (2014). Lactic acid fermentation of vegetables and fruits in *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*, Eds., pp. 108–140, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA.

Da Costa Leite., J.M., Trugo, L.C., Costa, L.S.M., Quinteiro, L.M.C., Barth, O.M., Dutra, V.M.L., de Maria, C. A.B. (2000). Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, 70(1), 93-98

Da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323.

David, H., Carlos, A. U., Gomez-Cordoves C. (2011). Role of honey polyphenols in health. *Journal of Api Product and Api Medical Science*, 3 (4), 141 – 159.

Desmazeaud Michel. (1983). L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le Lait* .,63, 267-316.

Di Mascio, P., Murphy, M.E., Sies, H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 194S–200S.

Diepers, A.C., Kromker, V., Zinke, C.,Wente, N., Pan, L., Paulsen, K., Paduch, J-H.(2016). In vitro ability of lactic acid bacteria to inhibit mastitis-causing pathogens. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 5(1) : 84-92.

Diplock, A.T., Charuleux, J. L., Crozier-Willi, G., Kok, F.J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl, W., Viña-Ribes, J. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br. J. Nutr.* 80, S77–S112.

Dongock, N. D., Tchoumboue, J., Pinta, J. Y., &Zango, P. (2008). Caractéristiques polliniques des plantes mellifères de la zone soudano-guinéenne d'altitude de l'ouest Cameroun. *Tropicultura*, 26(3), 150-154.

Dortu, C., Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1), 143-154.

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

Draiaia, R., Chefrour, A., Dainese, N., Borin, A., Manzinello, C., Gallina, A., Mutinelli, F. (2015). Physicochemical parameters and antibiotics residuals in Algerian honey. *African Journal of Biotechnology* Vol. 14(14), pp. 1242-125.

Dušková, M., Karpíšková, R. (2017). Antibacterial activity of honey. *maso-international.cz*.

Dustmann, J. H. (1979). Antibacterial effect of honey. *Apiacta* 17, 7-11.

Eleazu, C. O., Iroaganachi, M., Okoronkwo, J. (2013). Determination of the physico-chemical composition, microbial quality and free radical scavaging activities of some commercially sold honey samples in Abia, Nigeria; 'The effect of varying colour'. *International Journal of Biomedical*.4(1):32-41.

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

Endo, A. and Salminen, S. (2013). Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acid bacteria. *Syst Appl Microbiol* 36, 444–448.

Erdtman, G. (1935). Investigation of honey pollen. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 29 (1), 79-80.

Erdtman, G. (1936). Neue pollenanalytische Untersuchungsmethoden. *Ber. Geobot. Forsch. Inst. Rubel*, 1935.

Erdtman, G. (1943). An introduction to pollen analysis. *Verdoorn, new ser. Pl. Sci. Books*. 12. Waltham, Mass.

Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy. *Stockholm, Almquist et Wiksell*. 539 p.

Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54 (4), 561-564.

Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., and Wahab, M. S. (2012). Honey—a novel antidiabetic agent. *Int. J. Biol. Sci.* 8, 913–934. doi: 10.7150/ijbs.3697.

Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S. (2011). Oligoscharides might contribute to the antidiabetic effect of honey : a review of the literature. *Molecules* ;28 (17) :248-66.

Escriche, I., Kadar, M., Juan-Borrás, M., Domenech, E. (2011). Using flavonoids, phenolic compound and headspace volatile profile for botanical authentication of lemon and orange honeys. *Food Res. Int.* 44 (5), 1504–1513.

Escriche, I., Visquert, M., Carot, J. M., Domenech, E., Fito, P. (2008). Effect of honey thermal conditions on hydroxymethylfurfural content prior to pasteurization. *Food SciTechnol Int* ;14(5 suppl):29-35.

Escuredo, O., Miguez, M., Fernández-Gonzalez, M., Seijo, M.C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138, 851–856.

Escuredo, O.P. (2012). Origen botánico y composición nutricional de la miel producida en Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo. 387p

Faegri, K. (1956). Recent trends in Palynology. *Bot. Rev.* 22:639-664

Fanny, B. (2015). Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature .*Médecine humaine et pathologie*. dumas-01293955.

FAO, WHO. (2008). Health and nutritional properties of probiotics in food, including powder milk with live lactic acid bacteria. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf. (Accessed; 22 November 2009).

FAO/WHO. (2006). Probiotics in Food. <https://doi.org/10.1201/9781420009613.ch16>.

Farmer, J. J., Boatwright, K. D., Janda, J. M. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology* (9th ed., pp. 649-669).

Feizabadi, F., Sharifan, A., Tajabadi, N. (2020). Isolation and identification of lactic acid bacteria from stored *Apis mellifera* honey. *Journal of Apicultural Research*, **60**(3): 421-426.

Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J. C.M., Estevinho, L.M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4), 1438–1443

Flores, M.S.R., Escuredo, O., Seijo, M.C. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chemistry*, 166, 101–1060.

Forsgren, E., Olofsson, T.C., Vasquez, A., Fries, I. (2010). Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus* larvae in honeybee larvae. *Apidologie* 41: 99-108.

François-Xavier Dechaume-Moncharmont. (2003). Butinage collectif chez l'abeille *Apis mellifera* L. : étude théorique et expérimentale. Sciences du Vivant [q-bio]. Français. fftel-02833992f.

Frédéric, Schubnel., Robert, Hummel., Maurice, Feltin. (2019). Des abeilles et des chiffres Syndicat des apiculteurs de Thann et environs, Septembre 2019.

French, V.M., Cooper, R.A., Molan, P.C. (2005). The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 228–231.

Frankel S, Robinson G. E, Berenbaum M. R. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research.* 37(1):27–31.

Frola, I. D., Pellegrino, M. S., Espeche, M.C., Giraud, J. A., Nader-Macias, M. E. F., Bogni, I.C.(2010). Effects of intramammary inoculation of *Lactobacillus perolens* CRL1724 in lactating cows' udders. *Journal of Dairy Research.*, 79 84–92.

Galvez, A., Abriouel, H ., Ben Omer, N., lucas, R. (2011). Food Applications and Regulation In: Drider D., et Rebuffat S. (eds). *Prokaryotic Antimicrobial peptides: From Genes to Applications.* springerVerlag. 253-390.

Gašić, U.M., Natić, M.M., Mišić, D.M., Lušić, D.V., Milojković-Opsenica, D.M., Tešić, Ž.L., Lušić, D. (2015). Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis* L. honey. *J. Food Compos. Anal.* 44, 128–138.

Geetha, R., Sathian , CT., Prasad, V., Gleeja, VL. (2015). Efficacy of purified antimicrobial peptides from lactic acid bacteria against bovine mastitis pathogens. *Asian Journal of Dairy and Food Research,* 34(4) : 259-264.

Genier, G. (1966). Le pollen des Ericaceae dans les miels français. *Les Annales de l'Abeille,* 9(4), 271-321.

Gérard Briane et Jean-Luc-Cabrol. (1986). l'abeille dans le géosystème : essai de cartographie des ressources mellifères, *Revue géographique des pyrénées et du sud-ouest.* tome 57, Fasc.3,PP 363-373.Toulouse.

Gevers, D., Huys. G., Swings, J. (2001). Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *J.FEMS Microbiol Lett.* 2001 Nov 27;205(1):31-6. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10921.x

Gheldof, N., Wang, H., Engeseth, N. (2002). Identification et quantification de composés antioxydants de miels provenant de diverses sources florales. *Journal de la chimie agricole et alimentaire* ; 50 : 5870-5877.

Gheziel, C., Belalia S., Hadda, O., Saidi, D., Kheroua, O., Kaddouri, H. (2019). Effet immunomodulateur de *Lactobacillus plantarum* dans un modèle murin d'allergie au lait bovin. *Revue française d'allergologie*.59 : 3, page 304.

Ghorab, A., RodríguezFlores, M.S., Nakib, R., Escuredo, O., Haderbache, L., Bekdouche, F., Seijo, M.C. (2021). Sensorial, Melissopalynological and Physico-Chemical Characteristics of Honey from Babors Kabylia's Region (Algeria). *Foods*,10, 225. <https://doi.org/10.3390/foods10020225>

Ghramh, A. H., Khan, K.A., Ahmed, Z., Ansari, M. J. (2020). Quality evaluation of Saudi honey harvested from the Asir province by using high-performance liquid chromatography (HPLC) *Journal saoudien des sciences biologiques*.Tome 27, Numéro 8, Pages 2097-2105.

Gilliam, M. (1997). Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiol Lett*, 155:1 LP–10 LP.

Gomes, F., Henriques, M. (2015) .Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches. *Curr Microbiol*. 72(4): 377-382.

Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L., Rodrigues, P., Estevinho, L. (2010). Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: A comprehensive study. *Food Chem, Toxicol*. 48: 544 - 548.

Gonnet, M. (1982). le miel, composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture. p 1, 18.

Gonnet, M. (1986). Miel de tournesol. *Revue Française d'Apiculture* ; 464 : 60-62.

Gonzalez, R.N., Cullor, S.J., Jasper, E.D., Farver, B.T., Bushnell, B.R., Oliver, N.M. (1989). Prevention of Clinical Coliform Mastitis in Dairy Cows by a Mutant *Escherichia coli* Vaccine. *Can J Vet Res* 53: 301-305.

Gorjanović, S. Ž., Alvarez-Suarez, J. M., Novaković, M. M., Pastor, F. T.,Pezo, L., Battino, M., & Sužnjević, D. Ž. (2013). Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(1), 13–18.

Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C., Yavuz, O. (2007). Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum* L.) syrup. *Food Chem*. 105: 1119-1125.

Halbritter, H., Ulrich, S., Grimsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., et Frosch-Radivo, A. (2018). Illustrated pollen terminology. Springer.

Harini, H., Sumathi, B.R. (2011). Screening of bovine milk samples for sub-clinical mastitis and antibiogram of bacterial isolates. *Veterinary World*, 2011, Vol.4(8):358-359.

Hasali, N. H. M., Zamri, AI., Lani, MN., Mubarak, A., Suhaili, Z. (2015). Identification of lactic acid bacteria from Meliponine honey and their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 9,1-7

Herrero, B., Valencia-Barrera, R. M., Martin, R. S., Pando, V. (2002). Characterization of Honeys by Melissopalynology and Statistical Analysis. *Canadian Journal of Plant Science*, 82: 75-82.

Homrani, M., Dalache, F., Bouzouina, M., Nemiche, S., Homrani, A. (2019). Antibacterial activities of Algerian raw honeys and isolated *Lactobacillus* against gram-negative bacteria. *Advances BioResearch*, 10(1):31-39.

Homrani, M., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M.S., Fatiha, D., Mohammed, B., Homrani, A., Seijo. M.C. (2020). Botanical Origin, Pollen Profile, and Physicochemical Properties of Algerian Honey from Different Bioclimatic Areas. *Foods*, 9, 938.

Homrani Mounia. (2020). Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. Thèse de doctorat. Université de Mostaganem. Page (130).

Howse, S. (2017). What we have learned about Giant Willow Aphid honeydew honey. *The New Zealand Beekeeper*, 25(4), 15-17.

Hsueh, P., Chen, W., Luh, K. (2005). Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991–2003 at a university hospital in Taiwan. *Intl J Antimicrob Agents* 26:463–72.

Hughenoltz, J., Kleerebezem, M. (1999). Metabolic engineering of lactic acid bacteria: overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 10(5), 492-497.

Huidobro, J. F., Sanchez, M. P., Muniategui, S., and Sancho, M. T. (2005). Precise method for the measurement of catalase activity in honey. *J. AOAC Int.* 88, 800–804.

Imtara, H., Elamine, Y., Lyoussi, B. (2018). Physicochemical characterization and antioxidant activity of Palestinian honey samples. *Food science and nutrition.* 1-10.

Irina, D., Georgiia, G., Livia, P., Alina, M. E., Rodica, S. (2010). The antioxydant activity of selected Romanian honeys. *Food Tech*; 34(2) : 77-83.

Isidorov, V.A., Bagan, R., Bakier, S., swiecicka, I. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herb honeys. *Food. Chem.*, 171: 84–88.

Isla, M.I., Zampini, I.C., Ordonez, R.M., Cuello, S., Juarez, B.C., Sayago, J.E., Moreno, M. I.N., Alberto, M.R., Vera, N. R., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Ciocchini, F., Maldonado, L. M. (2009). Effect of seasonal variations and collection form on antioxidant activity of propolis from San Juan, Argentina. *J. Med. Food* 12, 1334–1342.

Ismail, A. M., Owayss, A. A., Mohanny, K. M., Salem, R. A. (2013). Evaluation of pollen collected by honeybee, *Apis mellifera* L. colonies at Fayoum Governorate, Egypt. Part 1 : Botanical origin", *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 12 (2) : 129-135.

Jaganathan, S. K., and Mandal, M. (2009). Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review. *J. Biomed. Biotechnol.* 2009:830616. doi: 10.1155/ 2009/830616.

Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. (2005). Food poisoning caused by gram-positive sporeforming bacteria. *Mod Food Microbiol*, Boston, MA: Springer US, pp. 567–590. doi:10.1007/0-387-23413-6_24.

Jean-Prost P., Medori PA. (2005). Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher : Editions Tec & Doc. Paris - 7e édition revue et complétée, par Yves Le Conte, 698 p.

Jean-Prost, P., Le Conte Y. (2005). Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher. 7^{ème} édition. TEC & DOC Lavoisier Ed. 2005, 697 p.

Jones, J.C. (2004). Honey bees est thermoregulation : diversity promotes stability. *Science* (80) 305 : 402–404.

Juszczak, L., Socha, R., Rożnowski, J., Fortuna, T., Nalepka, K. (2009). Propriétés physicochimiques et paramètres de qualité des miels d'herbes. *Chimie alimentaire*, 113, pages 538 à 542.

Kadri, S.M., Zaluski, R., de Oliveira Orsi, R. (2017). Nutritional and mineral contents of honey extracted by centrifugation and pressed processes. *Food Chem.* 218, 237–241.

Kalabova, K., Borkovcova, I., Smutna, M., Vecerek, V. (2003). Hydroxymethylfurfural in Czech honeys. *Czechoslovak Journal of Animal Science*, 48, 551–557.

Kaškonienė, V., Venskutonis, R., Ceksteryte, V. (2010). Composition glucidique et conductivité électrique des miels de différentes origines de Lituanie, *LWT*43(5):801-807.

Kavanagh, S., Gunnoo, J., Passos, M.T., Stout, J.C., Whitea, B. (2019). Physicochemical properties and phenolic content of honey from different floral origins and from rural versus urban landscapes. *Food Chemistry* 272, 66–75.

Kayode, J., Oyeyemi, S. D. (2014). Physico-chemical investigation of honey samples from bee farmers in Ekiti State, Southwest Nigeria. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2(January), 246–249.

Kelsey, N.A., Wilkins, H.M., Linseman, D.A. (2010). Nutraceutical antioxidants as novel neuroprotective agents. *Molecules*.

Khalil, I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, A., Islam, N., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*.17 (9), 11199-11215.

Khalil, M.I., Alam, N., Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2011). Phenolic acid composition and antioxidant properties of Malaysian honeys. *Journal of Food Science*, 76(6), C921-C928

King, L.A., Popoff, M. R, Mazuet, C., Epsie, E., Vaillant, V., de Valk, H. (2010). Le botulisme infantile en France, 1991-2009, *Archives de pédiatrie* , 17 :1288-92.

Kivima, E., Tanilas, K., Martverk, K., Rosenvald, S., Timberg, L., Laos, K. (2021). The Composition, Physicochemical Properties, Antioxidant Activity, and Sensory Properties of Estonian Honeys. *Foods*.10, 511.

Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Logan Buck B., Azcarate-Peril, M. A. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiol. Rev.*, 29, 393-409.

Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 12(1-3): 39-85.

Kleinhenz, M. D., Ydstie, J.A ., Gorden, P. (2019). Cas clinique : Gestion de la mammite à *Klebsiella* spp dans une ferme laitière. *Le praticien bovin*, vol. 53(1), 19-26.

Kňazovická, V., Mederiová, B., Haščík, P., Trnková, M., Kačániová. (2015). Quality evaluation of unifloral and multifloral honeys from slovakia and other countries. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 4(3): 82-86.

Koca, N., Karadeniz, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Derg*, 32–37.

Koenraad, Van. Hoorde., Peter, Vandamme., Geert, Huys. (2008). Molecular identification and typing of lactic acid bacteria associated with the production of two artisanal raw milk cheeses. *Dairy Science & Technology* volume 88, pages445–455.

Kucuk. M. K, Kolayl. S, Karaoglu. S, Ulusoy. E, Baltac. C, Candan.F, (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*. 100, 526–534.

Kwakman P. H. S., Zaat S. A. J. (2012). Critical Review Antibacterial Components of Honey IUBMB Life, 64(1): 48–553.

Kwakman, P. H. S., Te Velde, A. A., de Boer, L., Speijer, D., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., et al. (2010). How honey kills bacteria. FASEB J. 24, 2576–2582.

Laallam, H. (2018). Etude méliissopalynologique, physicochimique et antibactérienne de quelques échantillons de miels du Sud algérien, Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Université de Ouargla, 111 pages.

Larue, A. A. C., Raguso, R. A., Junker, R. R. (2016). Experimental manipulation of floral scent bouquets restructures flower-visitor interactions in the field. Journal of Animal Ecology 85, 396– 408.

Lashani, E., Davoodabadi, A., Soltan Dallal, M. M. (2020). Some probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from honey and their antimicrobial activity against foodborne pathogens. Veterinary Research Forum, 11 (2) : 121 – 126

Lashani, E., Davoodabadi, A., Soltandallal, M. M. (2018). Antimicrobial Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Paracasei* Isolated from honey against *Staphylococcus Aureus*. Journal of Babol University of Medical Science, 20(3) :44-49

Lau, Y. S., Tian, X. Y., Huang, Y., Murugan, D., Achike, F. I., Mustafa, M. R. (2013). Boldine protects endothelial function in hyperglycemia-induced oxidative stress through an antioxidant mechanism. Biochem. Pharmacol. 85, 367–375.

Liu J.R., Ye Y.L., Lin T.Y., Wang Y.W., Peng C.C. (2013). Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. Food Chem ;13 :146-174.

Liu, N., Wang, J., Deng, Q., Gu, K. and Wang, J. (2018). Detoxification of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria and hydrated sodium calcium aluminosilicate in broiler chickens. Livest Sci 208, 28–32.

Liu, S. (2003). Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. Int. J. Food Microbiol. 83(2): 115-131.

Louveaux, J. (1968). Analyse pollinique des miels. In Traité de biologie de l'abeille. Tome 3. Masson, Paris, pp 325-362

Louveaux J., Abed L. (1984). Les miels d'Afrique du Nord et leur spectre pollinique. Apidologie 15, (2) :145-157.

Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1970). Les méthodes de la méliissopalynologie. Commission internationale de la botanique apicole de l'U.I.S.B. Apidologie . 1970, 1(2), 211-227.

Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. Int. Comm. Bee Bot of I.U.B.S. Bee World, 59(4), 139-157.

Louveaux, J. (1968). Composition propriété et technologie des miels, in traité biologique de l'abeille. Tome 3.Ed. Masson de Cie, Paris. PP 324-361.

Louveaux, J. (1980). Les abeilles et leurs élevages. Ed. OPIDA. 215p.

Louveaux, J. (1985). Les miels d'Afrique du nord et leur spectre pollinique. Apidologie., PP:160-170.

Louveaux, J., Anna Maurizio, G. Vorwohl. (1970). Commission internationale de botanique apicole DE L'U.I.S.B. : Les méthodes de la méliko-palynologie. Apidologie, Springer Verlag, 1 (2), pp.211-227. fahal-00890289f.

Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1970). Méthodes de mélikopalynologie. Bee World. 51(3) : 125-138.

Louveaux, J. (1959). La technologie du miel (1). Les Annales de l'Abeille, INRA Editions, 2 (4), pp.343-354. fahal-00890128f.

Machado, A.M., Miguel, M.G., Vilas-Boas, M., Figueiredo, A.C. (2020). Honey volatiles as a fingerprint for botanical origin. A review on their occurrence on monofloral honeys. Molecules 25 (2), 374.

Maggi, M., Negri, P., Plischuk, S., Szawarski, N., De Piano, F., De Feudis, L., Eguaras, M. and Audisio, C. (2013). Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. Vet Microbiol 167, 474–483.

Majtanova,N., Cernak,M., Majtanb, J. (2016). Honey: A Natural Remedy for Eye Diseases. Forsch Komplementmed;23:1–6.

Makhloufi, C. (2011). Melissopalynologie et etude des elements bioactifs des miels algeriens, thèse de doctorat.

Makhloufi, C., Ait Abderrahim, L., Taibi, K. (2021). Characterization of Some Algerian Honeys Belonging to Different Botanical Origins Based on their Physicochemical Properties Iran J Sci Technol Trans Sci, 45:189–199.

Makhloufi, C., Kerkvliet, J. D., D'albore, G. R., Choukri, A., & Samar, R. (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physicochemical methods. Apidologie, 41(5), 509-521.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remezy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols : food and bioavailability. Journal American of Clinical Nutrition ;79(5) : 727-747

Manda Andrianahoatra Rolland. (2015). Analyse pollinique des différents miels commercialisés à Madagascar, thèse de doctorat, Université d'Antananarivo.

Mandal, S., DebMandal, M., Pal, N.K., Saha, K. (2010). Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella enteric* serovar *Thypi*. *Asian Pac J Trop Med* 3:961–64

Margaon, R., Topal, E., Balkanska, R., Yücel, B., Oravec, T., Cornea-Cipcigan, M., Vodnar, D.C. (2021). Monofloral Honeys as a Potential Source of Natural Antioxidants, Minerals and Medicine. *Antioxidants*, 10, 1023. <https://doi.org/10.3390/antiox10071023>.

Marghitas, L.Al., Dezmirean, D., Adela, M., Otilia, B., Laura, L., Bogdanov, B. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry* 112 : 863–867.

Martin, Heil. (2011). Nectar: generation, regulation and ecological functions, *Trends in Plant Science*, April 2011, Vol. 16, No. 4.

Mathot, A.G., Beliard, E., Thnault, D. (1996). Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques In *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaires*. Bourgeois C.M., Larpent J-P. Tome 2, Tec & Doc, Lavoisier, pp: 432-450.

Mattila, H.R., Rios, D., Walker-Sperling, V.E., Roeselers, G. and Newton, I.L.G. (2012). Characterization of the active microbiotas associated with honey bees reveals healthier and broader communities when colonies are genetically diverse. *PLoS ONE* 7, 1–11.

Maurizio, A., louveaux, J. (1965). Pollens de plantes mellifères d'Europe. Union. Groupements. Apic.Fr, Paris.

Maurizio, A. (1939). Microscopy of honey: crane e, ed, honey, comprehensive survey.london.heinemann. p 240-257.

Maurizio, A. (1975). Microscopy of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (Ed. E. Crane).Heinemann, London, pp. 240–57.

Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G., and Henle, T. (2008). Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol. Nutr. Food Res.* 52, 483–489

Mbogning, E., Tchoumboe, J., Damesse, F., Sobze, M. S., Canini, A. (2011). Caractéristiques physicochimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun. *Tropicultura*, 29: 168-175.

McFrederick, Q.S., Wcislo, W.T., Taylor, D.R., Ishak, H.D., Dowd, S.E. and Mueller, U.G. (2012). Environment or kin: Whence do bees obtain acidophilic bacteria? *Mol Ecol* 21, 1754–1768.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. (2005). Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571–577.

Mehdi, Y. (2016). Caractérisation physicochimique, palynologique et effets antibactérien, antioxydant et immunomodulateur des miels de la région de Ouset d'Algérie. thèse de doctorat, univ Sidi Bel Abbès, p117.

Mehdi, Y., Mebrek, S., Djebarka, S., Aissaoui, Y., Benahmed, K., Benali, I.A., Benali, A., Sbelbraouet, S. (2016). Characterization of Algerian Honey from Tiaret Region and Immunoassay Study of Its Immunomodulatory Effect in BALB/c Mice. *Journal of Food Research*; Vol. 5, No. 1

Mekious, S., Houmani, Z., Bruneau, E., Masseaux, C., Guillet, A., Hance, T. (2015). Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 19(3), 221-231.

Mekonnen, S. H., Workneh, Bayleyegn, M., Moges, K.A., Tadele. (2005). Antimicrobial susceptibility profiles of mastitis isolates from cows in three major Ethiopian dairies. *Revue Méd. Vét.*, 156, 7, 391-394.

Melin, E. (2011). Botanique apicole. . Ecole d'Apiculture de la Région wallonne. 19 p.

Mellin, E. (2002). Aperçu de la flore mellifère de Belgique et des régions voisines. Botanique apicole. Gembloux

Michener, C. D. (2000). The bees of the world. John Hopkins Univ. Press, Baltimore, Maryland, USA. 913 pp.

Moammed, E. A. M., Ali, A. S., Mohammad, Y. A., Serag Eldin, I. E., Mohammed, A.A., Sadeq, K. A., Mohamed H. A. S., Hamed, A. G., Akram I., Ali M. A., Amal A. A. M., Wed Mohammed A. A. (2020). Acacia honey from different altitudes: total phenols and flavonoids, laser-induced fluorescence (LIF) spectra, and anticancer activity. *Journal of International Medical Research* 48(8) 1–12.

Mohamed, M. A., Zaiton, H., Belal, J. M., Yossra, A. E., Asma, S. W. A., M. N. L. (2012). Antibacterial Activity of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysia against Selected Multiple Antibiotic Resistant (MAR) Gram-Positive Bacteria. *Journal of Food Science*. Vol. 77, Nr. 7.

Mohan, A., Quek, S.Y., Gutierrez-Maddox, N., Gao, Y., Shu, Q. (2017). Effect of honey in improving the gut microbial balance. *Food Quality and Safety*, 1(2), 107–115.

Mohanna, N.E. (1989). An important source of nectar and pollen during the dearth period in Egypt. *Alex. J. Agric. Res.* 34, 173–182.

Mohr, K. I., Tebbe, C. C. (2006). Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. *Environ Microbiol*, 8:258–272. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00893.x.

Molan, P. C. (2001). Potential of honey in the treatment of wounds and burn. *Am J Clin Dermatol.* ; 2(1):13-19.

Molan, P.C. (1997). The antibacterial activity of honey. *Symposium Tel Aviv*, 27-37.

Molan, P.E. (1998). A brief review of the use of honey as a clinical dressing. *Aust J Wound Manage*, (6), 148-58.

Moniruzzaman, M., Khalil, M.I., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem. Cent. J.*, 7: 138.

Montenegro, G., Pena, R. C. & Pizarro, R. (2010). Multivariate Analysis of Pollen Frequency of the Native Species *Escallonia pulverulenta* (Saxifragaceae) in Chilcan Honeys. *Rivista Brazilian Botany*, 33(4): 615-630.

Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L. M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*. 9 (5) : 1096-1101.

Morse, R. A. (1986). The antibiotic properties of honey. *Pan Pacific Entomologist* 62, 37-370.

Mounia, H., Dalache, F., Bouzouina, M., Nemmiche, S., Homrani, A. (2018). Antibacterial activity of Lactobacilli detected in Algerian raw honeys against gram-negative bacteria. *SAJEB*, 3(8).

Muck, R.E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Rev Bras Zootec* 39, 183–191.

Muhialdin, B. J., Hassan, Z., Sadon, S.K., Zulkifli, N.A., Azfar, A. A. (2011). Effect of Ph and heat treatment on antifungal activity of *Lactobacillus fermentum* Te007, *Lactobacillus pentosus* G004 and *Pediococcus pentosaceus* Te010. *Innov Romanian Food Biotechnol* 8:41–53.

Mussatto, S. I., Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 587-597.

Naidu, A.S., Bidlack, W. R., Clemens, R.A. (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* 39:13–26.

Nair, S., Meddah, B., Aoues A. (2013). Melissopalynological characterization of north Algerian honeys. *Foods*, 2 : 83-89.

Nakib, R., Ghorab, A., Ouelhadj, A., Rodríguez-Flores, S., Escuredo, O., Bensouici, C., Seijo-Coello, C. (2021). Chemometric evaluation of antioxidant activity and α -amylase inhibition of selected monofloral honeys from Algeria, *Journal of Apicultural Research*, DOI: 10.1080/00218839.2021.2005871

Nathalie, J. (2003). Etude de la dispersion atmosphérique du pollen de maïs. Contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA P-G).

Ngalimat, M.S., Zaliha, R. N., Raja, A. R., Yuso, M. T., Syahir, A., Hamzah, A., Zawawi, N., Sabri, S. (2020). A Review on the Association of Bacteria with Stingless Bees (Suatu Ulasan tentang Perkaitan Bakteria dengan Kelulut). *Sains Malaysiana* 49(8): 1853-1863.

Nolan, V. C., Harisson, J., Jonathan, A. G. (2019). Dissecting the Antimicrobial Composition of Honey. *Antibiotics*. 8, 251.

Noohi, N., Ebrahimipour, G., Rohani, M., Talebi, M. and Pourshafie, M. R. (2016). Evaluation of potential probiotic characteristics and antibacterial effects of strains of *Pediococcus* species isolated from broiler chickens. *Br Poult Sci* 57, 317–323.

Norhafiza, M. L., Baharudin, A., Rosdan, S. (2013). The effect of tualang honey in enhancing post tonsillectomy healing process. An open labelled prospective clinical trial. *Int J of Pediatr Otorhinolaryngol.* 77 :457-61.

Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., Ola, I. O. (2007). Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci* ;7:159–165.

Olga Escuredo., Irina Dobre. , María Fernández-González., M. Carmen Seijo. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry* 149: 84–90

Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, K., Kim, D., Li, X. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 100, 4587–4603.

Oliveira, D. D. J., Santos, D. R. D., Andrade, B. R., Nascimento, A. S. D., Silva, M. O. D., Mercês, C. D. C., Lucas, C. I. S., Silva, S. M. P. C. D., Carvalho, P. D. D., Silva, F. D. L., Estevinho, L. M., Carvalho, C. A. L. D. (2020). Botanical origin, microbiological quality and physicochemical composition of the *Melipona scutellaris* pot-pollen (“samburá”) from Bahia (Brazil) Region, *Journal of Apicultural Research*, DOI:10.1080/00218839.2020.1797271.

Olofsson, T.C., Alsterfjord, M., Nilson, B., Butler, E., Va'squez, A. (2014). *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64, 3109–3119

Olofsson, T.C., Vasquez, A. (2008). Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Curr Microbiol* ;57 :356-363.

Oroian, M., Amariei, S., Leahu, A., Gutt, G. (2015b). Multi-element composition of honey as a suitable tool for its authenticity analysis. *Polish J. Food Nutrit. Sci.* 65 (2), 93–100.

Oroian, M., Amariei, S., Rosu, A., Gutt, G. (2015a). Classification of unifloral honeys using multivariate analysis. *J. Essent. Oil Res.* 27 (6), 533–544.

Oroian, M., Paduret, S., Ropciuc, S. (2018). Honey adulteration detection: voltammetric e-tongue versus official methods for physicochemical parameter determination. *J. Sci. Food Agric.* 11, 4304–4311.

Oroian, M., Prisacaru, A., Hretcanu, E.C., Stroe, S.G., Leahu, A., Buculei, A. (2016). Heavy metals profile in honey as a potential indicator of botanical and geographical origin. *Int. J. Food Prop.* 19 (8), 1825–1836.

Oroian, M., Ropciuc, S. (2019). Romanian honey authentication using voltammetric electronic tongue Correlation of voltammetric data with physico-chemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronics in Agriculture* 157. 371–37.

Ortiz-Valbueana, A. (1991). Contribución a la denominación de origen de la miel de la Alcarria. Tesis Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas.

Osato, M., Reddy, S. G., Graham, D.Y. (1999). Osmotic effect of honey on growth and viability of *Helicobacter pylori*. *Digestive diseases and sciences*, (14), 462-4.

Otero, M. C., Nader-Macías, M. E. (2007). Lactobacillus adhesion to epithelial cells from bovine vagina. In: *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. (Ed. A MéndezVilas) pp. 749–757. Badajoz, Spain: Formatex

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*. 18(1) : 52-8.

Ouchemoukh, S., Schweitzer, P., Bachir Bey, M., Djoudad-Kadji, H., Louaileche, H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food Chemistry* 121, 561–568.

Özbalci, B., Boyaci, İ. H., Topcu, A., Kadilar, C., Tamer, U. (2013). Rapid analysis of sugars in honey by processing Raman spectrum using chemometric methods and artificial neural networks. *Food Chemistry*, 136(3/4), 1444-1452.

Percie du sert. P. (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie* 7 :75-82. Doi 10.1007/s10298-009-0375-x.

Pascual-Mate, A., Osés, S. M., Marcazzan, G. L., Gardini, S., Fernandez-Muino, M. A., Teresa Sancho, M. (2018). Sugar composition and sugar-related parameters of honeys from the northern Iberian Plateau, *Journal of Food Composition and Analysis*, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.08.005>.

Pasini, F., Gardini, S., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F. (2013). Buckwheat honeys: Screening of composition and properties. *Food Chemistry*, 141(3), 2802-2811.

Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I., Gambacorta, E. (2013). Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of southern Italy. *J. Life Sci.* 7(4) : 428–436.

Persano Oddo, L., Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets, *Apidologie* 35 (Suppl. 1), S38–S81.

Persano Oddo, L., Pulcini, P. (1999). A scientific note on the Phadebas method for honeys with low enzyme content, *Apidologie* 30, 347–348.

Persano-Oddo, L., Baldi, E., Accorti, M. (1990). Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie*. 21 : 17–24.

Philippe, J. M. (1994). *Le guide de l'apiculture*. Aix-en-Provence, Espagne.

Philippe Marchenay. (1988). *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*. 35 pp. 121-146

Piccart, K., Vásquez, A., Piepers, S., De Vlieghe, S., Olofsson, T.C. (2016). Short communication: Lactic acid bacteria from the honey bee inhibit the in vitro growth of mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, 99(4): 2940–2944.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr Clin. Métab.* 16, 233-239.

Pisano, M.B., Viale, S., Conti, S., Fadda, M.E., Deplano, M., Melis, M. P. Deiana M., Cosentino, S. (2014). Preliminary evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Sardinian dairy products. *Biomed Res. Int.* 286390, 1-9.

Ponnuchamy, R., Bonhomme, V., Prasad, S., Das, L., Patel, P., Gaucherel, C., Pragasam, A., Anupama, K. (2014). Honey Pollen: Using Melissopalynology to Understand Foraging Preferences of Bees in Tropical South India. *PLoS ONE*, 9(7): e101618. doi:10.1371/journal.pone.0101618.

Poormontaseri, M., Hosseinzadeh, S., Shekarforoush, S.S. (2014). Characterization of *Clostridium botulinum* spores and its toxin in honey. *Iran J Vet Res*,15:36–39.

Popek, S., Halagarda, M., Kurska, K. (2017). A new model to identify botanical origin of polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. *LWT-Food Sci. Technol.* 77, 482–487.

Prica, N., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S., Mihaljev, Ž., Kartalović, B., Babić, J., Savić, S. (2014). Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from Vojvodina region. *Archives of Veterinary Medicine*, 7 (2), 99-109.

Prodoliet, J., Hischenhuber, C. (1998). Food authentication by carbohydrate chromatography. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung A*, 207, 1–12.

Prost P, J. (2005). Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher. Lavoisier, France.

Psychomédia.(2012). Le miel efficace contre la toux, <http://www.psychomedia.qc.ca>

Punt, W., Blackmore, S. (1991). The Northwest European Pollen Flora. Ed. Elsevier, T VI, Amsterdam, The Netherlands, 275 pp.

Punt, W., Blackmore, S., Clarke, G.C.S. (1988). The Northwest European. Pollen Flora. Ed. Elsevier, T VI, Amsterdam, The Netherlands, 154 pp.

Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (1994). Glossary of pollen and spore terminology. LPP Foundation, UTRECHT, 1994. LPP Contributions séries 1, 72p

Rabiet, E. (1984). Plantes mellifères, plantes apicoles : Rapport entre les plantes et l'abeille domestique, Edition RABIET, 424p.

Rabiul, M. I., Pervin, T., Hossain, H., Saha, B., Hossain, S.J. (2017). Physicochemical and Antioxidant Properties of Honeys from the Sundarbans Mangrove Forest of Bangladesh *Prev. Nutr. Food Sci*;22(4):335-344.

- Ravazzi, J. (2007)** : l'abeille et l'apiculture. Ed. De Vecchi, P155.
- Raweh, H.S. A., Badjah-Hadj-Ahmed, A.Y., Iqbal, J., Alqarni, A. S. (2023).** Physicochemical Composition of Local and Imported Honeys Associated with Quality Standards. *Foods*.12, 2181.
- Ré, D. B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, Le Goff L., Had-Aissouni, L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implication sur la survie neuronale. *Ann.Fr. Anesth. Réanim.* 24, 502-509.
- Ricciardelli, D'Albore. G., Vorwohl, G. (1980).** Sortenhonige im Mittelmeergebiet, *Rivista Agricoltura Subtropicale e Tropicale.* 74, 89–118.
- Rigal, M. L. (2012).** Miel et gelée royale : utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie [Thèse d'exercice]. [France]. Université de Limoges. Faculté de médecine et de pharmacie.
- Rodgers, S. (2001).** Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 12, 276-284.
- Rodgers, S. (2003).** Potential applications of protective cultures in cook-chill catering. *Food Control*, 14(1), 35-42.
- Rodier, J. (1997).** L'analyse de l'eau, eau naturelle, eau résiduaire, eau de mer. 8^{ème} Ed. Dunod. France. 57-65pp.
- Rodríguez-Flores, M.S., Escuredo, O., Seijo, M.C. (2015).** Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chem.* 166 : 101–106.
- Romero, J., Benavides, E., Meza, C. (2018).** Assessing financial Impacts of subclinical mastitis on colombian dairy farms. *Front. Vet. Sci*, 5(273): 1-11.
- Rossant, A. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes .thèse de doctorat, Univ.limonges, 132p.
- Roth, L.A., Kwan, S., Sporn, P. (1986).** Use a disc assay to detect oxytetracycline residues of honey .*Journal of Food Protection* 49, 44-436.
- Rousseau, M., Tysset, C., Durand, C. (1969).** Presence of streptococci of the Lancefield D group in healthy working bees (*Apis mellifera* L.). Interpretation of their presence in alimentary bacteriology. *Bull Acad Vet Fr*, 42:173–186.
- Ruiz-Argueso, T., Rodriguez-Navarro, A. (1975).** Microbiology of ripening honey. *Appl Microbiol.* 30(6):893–896.

Rybak-Chmielewska, H., Szczesna, T., Was, E., Jaskiewicz, K., Teper, D. (2013). Caractéristiques des miels unifloraux polonais IV miel de miellat, principalement *Abies Alba* L. *J Apic Sci.* 57: 51–59.

Sakač, M.B., Jovanov, P.T., Marić, A.Z., Pezo, L.L., Kevrešan, Z.S., Novaković, A.R., Nedeljković, N. M. (2018). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia), *Food Chemistry*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.149>.

Sandi, N. A., Salasia, S. I. O. (2016). Alternative, antibiotics source from symbiont of lactic acid bacteria inside stomach of honeybees (*Apis mellifera* and *Apis dorsata*) against multiresistant antibiotics pathogenic bacteria, *Res J. Microbiol.*11 (2-3), 93-100. DOI: <https://doi.org/10.3923/jm.2016.93.100>.

Saxena, S., Gautam, S., Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food. Chem.*, 118: 391–397.

Schade, J. E., Marsh, G.L., Eckert, J. E. (1958). Diastase activity and hydroxy-methyl-furfural in honey and their usefulness in detecting heat alteration. *Food Res.* 23(5) : 446-463.

Schepartz, A. I., Subers, M. H. (1964). The glucose oxidase of honey. I. Purification and some general properties of the enzyme. *Biochim. Biophys. Acta* 85, 228–237.

Schweitzer, P. (2004). Le monde des miellats. *Revue l'abeille de France*, (908), 4p.

Scripcă, L. A., Amariei, S. (2021). The Use of Ultrasound for Preventing Honey Crystallization. *Foods*.10, 773.

Scripcă, L.A, Norocel, L., Amariei, S. 2019. Comparison of Physicochemical, Microbiological Properties and Bioactive Compounds Content of Grassland Honey and other Floral Origin Honeys. *Molecules*. 24, 2932.PP 1-17

Se, K.W., Ibrahim, R. K. R., Wahab, R. A., Ghoshal, S. K. (2018). Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66,46-54.

Sebti, H., Dahmani, R. (2019). Evaluation de l'activité apicole dans la région sud de la wilaya de Bouira Thèse de Master. Université de Bouira.

Selles, S. M. A., Bellik, Y., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., Ait Amrane, A., Si Mohamed Hammoudi, S. M., Boukrâa, L. (2018). Physicochemical and antioxidant properties of algerian honeys and their antibacterial potency against three strains of *E. coli*. *Polish journal of natural sciences*. Vol 33(2): 285–300.

She, S., Chen, L., Song, H., Lin, G., Li, Y., Zhou, J., Liu, C. (2019). Discrimination of geographical origins of Chinese acacia honey using complex 13C/12C, oligosaccharides and polyphenols. In: *Food Chemistry*, 272, pp. 580 - 585.

Silva, N., Costa, G. M. (2001). An outbreak of acute bovine mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae* in a dairy herd. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53 (4).

Simenel, R., Adam, A., Crousilles, A., Amzil, L., Aumeeruddy-Thomas, Y. (2015). La domestication de l'abeille par le territoire : 1 Culture Techniques. 279-258.

Sinacori, M., Francesca, N., Alfonzo, A., Cruciata, M., Sannino, C., Settanni, L. (2014). Cultivable microorganisms associated with honeys of different geographical and botanical origin. *Food Microbiol*, 38:284–294. doi:10.1016/j.fm.2013.07.013.

Singh, V. K., Kumar, A., Yadav, S. K. (2016). Antimicrobial susceptibility profiling of milk samples from bovine clinical mastitis. *International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases*, 2(2): 52-55.

Smanalieva, J., Senge, B. (2009). Analytical and rheological investigations into selected unifloral German honey. *European Food Research and Technology*, 229(1), 107-113.

Sobrino-Gregorio, L., Vilanova, S., Prohens, J., Escriche, I. (2019). Detection of honey adulteration by conventional and real-time PCR. *Food Control* 95, 57–62.

Sopow, S. L., Jones, T., McIvor, I., McLean, J. A., Pawson, S. M. (2017). Potential impacts of *Tuberolachnus salignus* (Giant Willow Aphid) in New Zealand and options for control. *Agricultural and Forest Entomology*, 19(3), 225-234.

Soria, A.C., Martínez-Castro, I., Sanz, J. (2008). Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. *Food Res. Int.* 41 (8), 838–848.

Sousa, J. M., de Souza, E., Marques, G., Meireles, B., Cordeiro, Â., Gullónd, B., Pintado, M.M., Magnani, M. (2016). Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by *Meliponini* in the Brazilian semiarid region. *Food Research International*, 84, 61–68.

Stiles, M. E., Holzapfel, W. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, 36(1), 1-29.

Sudhanshu, S., Behera, R. C. R., Nevijo Zdolec. (2018). *Lactobacillus plantarum* with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented. *Foods BioMed Research International* Volume, Article ID 9361614, 18 pages.

Szabó, R.T., Mézes, M., Szalai, T., Zajácz, E., Kovács-Weber, M. (2016). Colour identification of honey and methodical development of its instrumental measuring. In: Columella J. Agric. Environ. Sci, 3, pp. 29 – 36.

Syed Yaacob, S.N., Abdul Wahab, R., Huyop, F., Lani, M.N., Mohamad Zin, N. (2020). Morphological alterations in Gram-positive and Gram-negative bacteria exposed to minimal inhibitory and bactericidal concentration of raw Malaysian stingless bee honey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 34(1): 575-586.

Taha, E. A. (2015). The impact of feeding certain pollen substitutes on maintaining the strength and productivity of honeybee colonies (*Apis mellifera* L.). *Bull. Ent. Soc. Egypt, Econ. Ser.* 41, 63–7.

Tenore, G. C., Ritieni, A., Campiglia, P., Novellino, E. (2012). Nutraceutical potential of monofloral honeys produced by the Sicilian black honeybees (*Apis mellifera* ssp. *sicula*). *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 1955–1961.

Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their Physicochemical characteristics and mineral contents. *Food chemistry*. 88.537-542.

Tonks, A. J., Dudley, E., Porter, N. G., Parton, J., Brazier, J., Smith, E. L., Tonks, A. (2007). A 5.8-kDa component of manuka honey stimulates immune cells via TLR4. *Journal of leukocyte biology*, 82(5) :1147-55.

Trisan Copley Smith. (2018). Types d'abeilles et leurs caractéristiques. *Articles apicoles*.

Tuksithaa, L., Chenb, Y.L.S., Chena, Y. I., Wongc, K. Y., Penga, C.C. (2018). Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). *Journal d'entomologie Asie-Pacifique*. 21(2), 563-570.

Ugras, S. (2017). Isolation, identification and characterization of probiotic properties of bacterium from the honey stomachs of Yigilca honeybees in Turkey. *turkisch journal of entomology* 41, 253-261.

Unal, N., Cinar, O. D. (2012). Détection d'entérotoxine staphylococcique, de gènes résistants à la méthicilline et de leucocidine Panton-Valentine dans des staphylocoques à coagulase négative isolés de vaches et de brebis atteintes de mammite subclinique. *Trop Anim Health Prod*.

Union européen. (2002). Directive 2001/110/ce du conseil du 20 décembre 2001 relative au miel *Journal officiel des Communautés européennes* 12.1.2002. L 10/48 FR.

Valdés, B., Díez, M. J., Fernández, I. (1987). Atlas polínico de Andalucía Occidental. Instituto de Desarrollo Regional. Universidad de Sevilla, España, 450pp.

Valdés-Silverio, L. A., Iturralde, G., García-Tenesaca, M., Paredes-Moreta, J., Narváez-Narváez, D. A., Rojas-Carrillo, M., Tejera, E., Beltrán-Ayala, P., Giampieri, F., Alvarez-Suarez, M. J. (2018). Physicochemical parameters, chemical composition, antioxidant capacity, microbial contamination and antimicrobial activity of Eucalyptus honey from the Andean region of Ecuador, *Journal of Apicultural Research*. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1426349>

Van, C. M. (1966). Pollen et spores. Pollen et phylogénie les bréviaxe. *Muséum national d'histoire naturelle*. Vol. 8,1 : 57-73.

Van der Weyden, E.A. (2003). The use of honey for the treatment of two patients with pressure ulcers. *Br J Community Nurs*. 8(12), 14-20.

Vanhanen, L. P., Emmertz, A., Savage, G. P. (2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chemistry* 128,1, 236-240.

Vasquez, A., Forsgren, E., Fries, I., Paxton, R.J., Flaberg, E., Szekely, L. and Olofsson, T.C. (2012). Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. *PLoS ONE* 7, 1–9.

Vasquez, A., Olofsson, T.C., Sammataro, D.A. (2009). Scientific note on the lactic acid bacterial flora in honeybees in the USA- A comparaison with bees from Sweden. *Apidologie* ; 40 :26-28.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., Debevere, J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 96(2), 149-164.

Victorita, B., Al Marghitas, L., Stanciu, O., Laslo, L., Dezmirean, D., Bobis, O. (2008).

Analyse chromatographique liquide haute performance des sucres du miellat de Transylvanie *Bulletin UASVM Sciences Animales et Biotechnologies* , 65 (1–2, pp. 229 – 232.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez J. A. (2008). Functionnal properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci* ;73(9) :117-24.

Vorwohl, G. (1967). The microscopic analysis of honey, a comparison of its methods with those of the other branches of palynology. *Rev. Paleobot. Palynol.*, 3 (1-4), 287-290.

Wahba, N. M., El Nisr, N. A., Sayed, S. M., Abd Ellah, M. R, Abd El-Hafeez, M. M., Aamer, A. A. (2011). Intramammary honey infusion: a new trend in the management of bovine subclinical mastitis. *J Anim Vet Adv* 10(20):2740–2744.

Wahizatul, A. A, Nur, S. Z., Roziah G. (2015). Melissopalynology and foraging activity of stingless bees, *Lepidotrigona terminata* (Hymenoptera : Apidae) from an apiary in Besut, Terngganu , *Journal of Sustainability Science and Management* Volume 10 Number 1: 27-35.

Walsh, M. C., Gardiner, G. E., Hart, O. M., Lawlor, P.G., Daly, M., Lynch, B. (2008). Predominance of a bacteriocin-producing *Lactobacillus salivarius* component of a five-strain probiotic in the porcine ileum and effects on host immune phenotype. *FEMS Microbiology Ecology* 64 317–327.

Walter, H. L., Prathibha, V., Vincent, E. (1983). Airborne and allergenic pollen of North America. Johns Hopkins Series University Press, Universidad de Michigan, USA, 288 pp.

Wester, P., Lunau, K. (2017). Plant–Pollinator Communication, in: *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp. 225–257. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.10.004>

White, J. W. (1962). Determination of acidity, nitrogen and ash in honey. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 45(3), 548–551.

White, J. W., Jr., Subers, M. H. (1963). Studies on honey inhibine. 2. A chemical assay. *J. Apicult. Res.* 2, 93–100.

White, J.W. (1962). Composition of American honey. *Techno. Bull.* p.1261.

White, J.W. (1979). Spectrophotometric Method for Hydroxymethylfurfural in Honey. *J. Ass. Off. Anal. Chem* 62, 509.

White, J.W., Subers, M. H., Schepart, A. I. (1963). The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its Origin in a honey glucoseoxidase system. *Biochim. Biophys. Acta.* ; 73:57-70.

Wilczyn, A. (2014). Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT – Food Sci. Technol.* 57, 767–774.

Winkler, O. (1955). Beitrag zum Nachweis und zur Bestimmung von Hydroximethylfurfural in Honig und Kunsthonig. *Z Lebensm. Unters Forsch.* 102(3) : 160-167.

Woese, C.R. (1987). Bacterial evolution. *Micrbiol Rev.*51 :221-271.

Yaghoobi, N., Al-Waili, N., Ghayour-Mobarhan, M. (2008). Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. *ScientificWorldJournal.* 2008; 8: 463-9.

Yao, L., Jiang, Y., Singanusong, R., D’Arcy, B., Datta, N., Caffin, N., et al. (2004). Flavonoid in Australian *Malaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Research International*, 37(2), 166–174.

Yaoa, L., Jiang, Y., Singanusong, R., Datta, N., Raymont, K. (2005). Phenolic acids in Australian Melaleuca, Guioa, Lophostemon, Baksia and Helianthus honeys and their potential for floral authentication. *Food Res. Int.* 38, 651–658.

Zalan. Z, Barath. A, Halasz. A. (2005). Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of Lactobacillus strains. *Food Technol. Biotech.*, 43(3): 219-225.

Zander, E. (1935, 1937, 1941, 1949, 1951). Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig. I. Reichsfachgruppe Imker, Berlin, II, III, V, Liedloff Loth Michaelis, Leipzig, IV, Ehrenwirth, Munchen.

Zander, E. (1935). Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig, Band I: Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig mit besonderer Berücksichtigung des deutschen Trachtgebietes, Verlag der Reichsfachgruppe Imker e.V., Berlin.

Zerrouk, S. (2014). Analyse Pollinique et Physico-chimique de quelques échantillons de miel du centre Algérien. Thèse de Doctorat, Univ Annaba ,183p.

Zerrouk, S., Carmen Seijo, M., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M.S. (2017). Characterization of Ziziphus lotus (jujube) honey produced in Algeria, *Journal of Apicultural Research*, DOI: 10.1080/00218839.2017.1399663.

Ziane, H., Brikat, M. (2020). Enquete sur la situation de la filière apicole en Algérie, cas de la wilaya de M'sila. Thèse de Master. Université de M'sila.

