

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Domaine : SNV  
Filière : Sciences Agronomiques  
Spécialité : Production et Biotechnologie Animales  
**THÈSE**

Présentée pour l'obtention du Diplôme de

Doctorat 3<sup>ème</sup> Cycle LMD

Par

Mlle HOMRANI Mounia

Intitulé



**Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et  
propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes  
origines florales**

Soutenue publiquement le : 16/01/2020

Devant le jury composé de :

|                    |             |                          |                       |
|--------------------|-------------|--------------------------|-----------------------|
| LOTMANI Brahim     | Professeur  | Université de Mostaganem | Président             |
| DALACHE Fatiha     | Professeure | Université de Mostaganem | Directrice de thèse   |
| BOUZOUINA Mohammed | MCA         | Université de Mostaganem | Co-directeur de thèse |
| BOUDEROUA Kaddour  | Professeur  | Université de Mostaganem | Examineur             |
| HASSAINE Omar      | MCA         | Université d'Oran        | Examineur             |

**Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA)  
2019-2020**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Domaine : SNV

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Production et Biotechnologie Animales

## THÈSE

Présentée pour l'obtention du Diplôme de  
Doctorat 3<sup>ème</sup> Cycle LMD

Par

Mlle HOMRANI Mounia

Thème

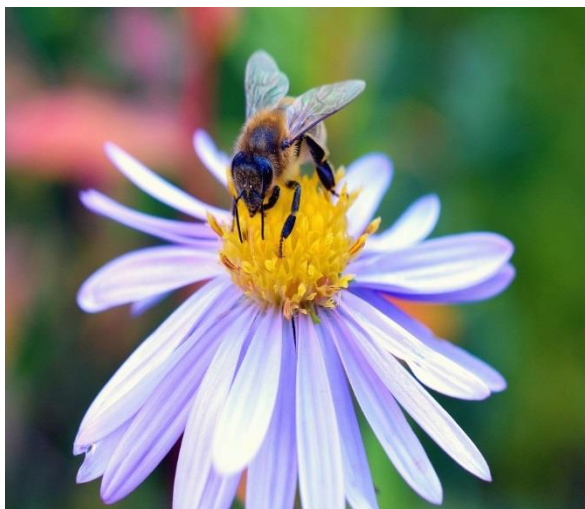


**Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et  
propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes  
origines florales**

Soutenue publiquement le : 16/01/2020

Devant le jury composé de :

|                    |             |                          |                       |
|--------------------|-------------|--------------------------|-----------------------|
| LOTMANI Brahim     | Professeur  | Université de Mostaganem | Président             |
| DALACHE Fatiha     | Professeure | Université de Mostaganem | Directrice de thèse   |
| BOUZOUINA Mohammed | MCA         | Université de Mostaganem | Co-directeur de thèse |
| BOUDEROUA Kaddour  | Professeur  | Université de Mostaganem | Examineur             |
| HASSAINE Omar      | MCA         | Université d'Oran        | Examineur             |



**« Nous voyons l'abeille se poser  
sur toutes les plantes et tirer de  
chacune le meilleur »**

(Isocrate orateur attique grec : 436-338 av-  
Jc.)

**« Si l'abeille disparaissait de la surface du  
globe, il ne resterait plus que quatre ans à  
l'homme. Plus d'abeilles, plus de  
pollinisation, plus de plantes, plus  
d'animaux, plus d'homme.**

*Albert Einstein* physicien théoricien. : 1879 - 1955



**« Une maison ou il y a du soleil et  
du miel ne connaîtra jamais la  
maladie »**

Apiculteur algérien.

**Le savant qui ne met pas en pratique son  
savoir est une abeille qui ne donne pas de miel**

*Proverbe Persan*

# Sommaire

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Remerciements.....                                                                        |    |
| Liste des tableaux .....                                                                  |    |
| Liste des figures .....                                                                   |    |
| Liste des Annexes .....                                                                   |    |
| Liste des abréviations .....                                                              |    |
| Résumé.....                                                                               |    |
| Introduction.....                                                                         | 1  |
| <b>Partie I : Revue bibliographique</b>                                                   |    |
| <i>Chapitre I. Généralités sur le miel</i> .....                                          | 6  |
| I.1. Définition .....                                                                     | 6  |
| I.2. Origine du miel .....                                                                | 6  |
| I.3. Production du miel.....                                                              | 9  |
| I.4. Le miel en chiffres .....                                                            | 11 |
| <i>Chapitre II : Caractérisation pollinique des miels</i> .....                           | 14 |
| II.1. Pollen.....                                                                         | 14 |
| II.1.1. Définition.....                                                                   | 14 |
| II.1.2. Structure d'un grain de pollen et sa fonction.....                                | 14 |
| II.1.3. Identification du pollen.....                                                     | 15 |
| II.1.4. Origine des pollens dans le miel.....                                             | 16 |
| II.2. Plantes mellifères.....                                                             | 17 |
| II.3. Différents types de miel selon leurs origines botaniques .....                      | 20 |
| II.4. Analyse pollinique des miels.....                                                   | 21 |
| II.4.1. L'analyse pollinique qualitative .....                                            | 22 |
| II.4.2. Analyse pollinique quantitative.....                                              | 23 |
| II.5. Inconvénient de la méliissopalynologie.....                                         | 23 |
| II.6. Méthodes utilisées en méliissopalynologie .....                                     | 23 |
| II.6.1. La méthode classique .....                                                        | 23 |
| II.6.2. La méthode de l'Acétolyse.....                                                    | 24 |
| II.7. Les appellations d'origine et produits du terroir (labélisation).....               | 24 |
| <i>Chapitre III. Caractérisation physicochimique des miels</i> .....                      | 26 |
| III.1. Composition chimique du miel .....                                                 | 26 |
| III.2. Propriétés physicochimiques des miels.....                                         | 28 |
| III.3. Qualité du miel .....                                                              | 29 |
| III.3.1. Contrôles de qualité des miels.....                                              | 29 |
| III.3.2. Altération du miel .....                                                         | 33 |
| III.3.2.1. La cristallisation .....                                                       | 34 |
| III.3.2.2. Fermentation .....                                                             | 35 |
| III.3.2.3. Autres transformations.....                                                    | 35 |
| Chapitre IV. Propriétés nutritionnelles et biologiques du miel .....                      | 36 |
| IV. 1. Propriétés nutritionnelles du miel .....                                           | 36 |
| IV.2. Propriétés biologiques du miel.....                                                 | 36 |
| IV.2.1. Propriétés antibactériennes .....                                                 | 36 |
| IV.2.2. Activité antioxydante .....                                                       | 38 |
| IV.2.3. Activité anti-inflammatoire et Immunomodulatrice .....                            | 39 |
| IV.3. Différence entre le miel utilisé à des fins médicales et le miel commercialisé..... | 41 |
| IV.4. Usages externes du miel.....                                                        | 42 |
| IV.5. Usages internes .....                                                               | 43 |
| IV.6. Miel spécifique.....                                                                | 43 |
| <i>Chapitre V. Les bactéries lactiques du</i> .....                                       | 45 |
| V.1. Flore microbienne du miel .....                                                      | 45 |
| V.2. Bactéries lactiques et miel.....                                                     | 46 |
| V.2.1. Généralités sur les bactéries lactiques .....                                      | 46 |



|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| V.2.2. Intérêts des bactéries lactiques .....                                                                         | 47 |
| V.2.3. Origine et rôle des bactéries lactiques dans le miel .....                                                     | 48 |
| <b>Partie II : Etude expérimentale</b>                                                                                |    |
| chapitre I. Objectifs .....                                                                                           | 52 |
| Chapitre II. Présentation de la zone d'étude .....                                                                    | 55 |
| Chapitre III. Matériel et Méthodes .....                                                                              | 57 |
| III.1. Matériel .....                                                                                                 | 57 |
| III.1.1. Miels .....                                                                                                  | 57 |
| III.1.2. Souches bactériennes et cellules humaines utilisées .....                                                    | 59 |
| III.1.3. Milieux de culture .....                                                                                     | 59 |
| III.2. Méthodes .....                                                                                                 | 59 |
| III.2.1. Etude pollinique des miels (Mélissopalynologie) .....                                                        | 59 |
| III.2.1.1. Analyse quantitative .....                                                                                 | 60 |
| III.2.1.2. Analyse qualitative .....                                                                                  | 61 |
| III.2.2. Etude des caractéristiques physicochimiques des miels .....                                                  | 62 |
| III.2.2.1. Taux d'humidité (Teneur en eau) .....                                                                      | 62 |
| III.2.2.2. Conductivité électrique .....                                                                              | 62 |
| III.2.2.3. pH .....                                                                                                   | 62 |
| III.2.2.4. Teneur en hydrométhyl-fulfural (HMF) .....                                                                 | 62 |
| III.2.2.5. Indice diastasique .....                                                                                   | 63 |
| III.2.2.6. Détermination de la couleur .....                                                                          | 64 |
| III.2.2.7. Dosage des sucres .....                                                                                    | 65 |
| III.2.2.8. Dosage de polyphénols totaux .....                                                                         | 66 |
| III.2.2.9. Dosage des flavonoïdes .....                                                                               | 67 |
| III.2.3. Etude des caractéristiques biologiques des miels .....                                                       | 67 |
| III.2.3.1. Activité Antioxydante .....                                                                                | 67 |
| III.2.3.2. Activité antibactérienne .....                                                                             | 68 |
| III.2.3.2.1. Préparation de l'inoculum .....                                                                          | 68 |
| III.2.3.2.3. Méthodes d'évaluation du pouvoir antibactérien .....                                                     | 69 |
| III.2.3.3. Effet anti-adhésion des miels .....                                                                        | 69 |
| III.2.3.3.1. Souche bactérienne testée .....                                                                          | 70 |
| III.2.3.3.2. Culture cellulaire .....                                                                                 | 70 |
| III.2.3.3.3. Test d'inhibition de l'adhésion .....                                                                    | 70 |
| <b>III.2.4. Identification et étude de l'activité antibactérienne de Lactobacilles isolés à partir de miels</b> ..... | 70 |
| <b>III.2.4.1. Préparation de la solution de miel</b> .....                                                            | 71 |
| III.2.4.2. Isolement des lactobacilles à partir de miel .....                                                         | 71 |
| III.2.4.3. Pré-identification (screening) .....                                                                       | 71 |
| III.2.4.3.1. Analyse macroscopique .....                                                                              | 72 |
| III.2.4.3.2. Test de catalase .....                                                                                   | 72 |
| III.2.4.3.3. Coloration de Gram .....                                                                                 | 72 |
| III.2.4.3.4. Purification et conservation des isolats .....                                                           | 72 |
| III.2.4.4. Identification des isolats au niveau de l'espèce .....                                                     | 72 |
| III.2.4.4.1. Identification de l'espèce par MALD-ITOF-MS .....                                                        | 73 |
| III.2.4.4.2. Identification de l'espèce par la Biologie moléculaire (amplification et séquençage de l'ADNr 16S) ..... | 73 |
| III.2.4.4.3. Etude du pouvoir antibactérien des lactobacilles .....                                                   | 75 |
| III.2.4.4.3.1. Méthode de double couche .....                                                                         | 75 |
| III.2.4.4.3.2. Méthode des puits .....                                                                                | 76 |
| Chapitre IV. Résultats et Discussion .....                                                                            | 20 |
| IV.1 Analyse pollinique .....                                                                                         | 78 |
| IV.1.1. Analyse pollinique quantitative .....                                                                         | 78 |
| IV.1.2. Analyse pollinique qualitative .....                                                                          | 80 |

|                                                                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| IV.1.2.1. Nombre des formes polliniques et leurs densités relatives par échantillon .....                       | 82  |
| IV.1.2.2. Diversité taxonomique spécifique .....                                                                | 82  |
| IV.1.2.3. Spectre de fréquence des types polliniques des miels analysés .....                                   | 83  |
| IV.1.2.4. Spectre de fréquence des familles botaniques des miels analysés .....                                 | 85  |
| IV.1.2.5. Spectre pollinique des miels selon, les étages bioclimatiques de leurs zones de production.....       | 87  |
| IV.1.2.6. Origine botanique et typicité des miels algériens .....                                               | 88  |
| IV.2. Caractérisation physicochimique des miels algériens.....                                                  | 102 |
| IV.2.1. Taux d'humidité (H°).....                                                                               | 102 |
| IV.2.2. pH.....                                                                                                 | 104 |
| IV.2.3. Conductivité électrique (CE, en mS/cm) .....                                                            | 106 |
| IV.2.4. Teneur en Hydroxyméthyl-fulfural.....                                                                   | 107 |
| IV.2.5. Indice diastasique.....                                                                                 | 109 |
| IV.2.6. Dosage des sucres .....                                                                                 | 110 |
| IV.2.7. Détermination de la couleur.....                                                                        | 118 |
| IV.2.7.1. Système Pfund .....                                                                                   | 118 |
| IV.2.7. 2. Système CIE LAB .....                                                                                | 121 |
| IV.3. Identification de lactobacilles isolés à partir de miels frais Algériens .....                            | 125 |
| IV.3.1. Isolement des lactobacilles .....                                                                       | 125 |
| IV.3.1.1. Screening des bactéries du genre <i>lactobacillus</i> .....                                           | 125 |
| IV.3.1.2. Aspect macroscopique des isolats.....                                                                 | 127 |
| IV.3.2. Nombre de lactobacilles isolés du miel selon leurs origines et selon le milieu d'isolement utilisé..... | 130 |
| IV.3.3. Identification des lactobacilles au niveau de l'espèce.....                                             | 132 |
| IV.3.3.1. Identification par MALDI-TOF.....                                                                     | 132 |
| IV.3.3.2. Identification génotypique .....                                                                      | 134 |
| IV.4. Etude des propriétés biologiques .....                                                                    | 138 |
| IV.4.1. Quantification des composés phénoliques et étude de l'activité antioxydante .....                       | 138 |
| IV.4.2. Etude de l'effet antibactérien des miels et de lactobacilles isolés à partir du miel .....              | 148 |
| IV.4.2.1. Profil de sensibilité de bactéries pathogènes et/ou d'altération aux antibiotiques.....               | 148 |
| IV.4.2.2. Test de l'activité antibactérienne des miels contre des bactéries pathogènes et/ou d'altération ..... | 150 |
| IV.4.2.3. Pouvoir antibactérien des lactobacilles isolées à partir des miels.....                               | 159 |
| IV.4.2.3.1. Pouvoir antibactérien de la culture bactérienne .....                                               | 159 |
| IV.4.2.3.2. Pouvoir antibactérien des surnageants natifs .....                                                  | 160 |
| IV.4.3. Etude de l'effet Anti-Adhésion des miels Algériens.....                                                 | 165 |
| Conclusion .....                                                                                                | 171 |
| Références bibliographiques.....                                                                                | 176 |
| Annexes.....                                                                                                    | 211 |
| Productions scientifiques.....                                                                                  |     |

## *Remerciements*

Ce travail, n'aurait pas pu voir le jour sans de nombreuses personnes que je voudrais remercier.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à ma Directrice de thèse la Pre. DALACHE Fatiha pour m'avoir donné l'occasion de réaliser ce travail sous sa direction, pour son amabilité, ses précieuses orientations, ses conseils avisés et ses corrections combien bien utiles.

A mon Co-directeur de thèse Dr BOUZOUINA Mohammed pour son soutien continu et pour avoir cru en moi, même dans les moments les plus difficiles. Je ne trouverai jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que je lui porte pour tous ses précieux conseils, et ses encouragements.

A Monsieur LOTMANI Brahim Professeur à l'Université de Mostaganem de m'avoir fait l'honneur de présider le jury

Je suis particulièrement reconnaissant aux membres du jury :

Le Professeur BOUDEROUA Kaddour, Directeur à L'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Mostaganem,

Monsieur HASSAIN Omar MCA à l'Université d'Oran d'avoir accepté de juger mon travail, évaluer et examiner cette thèse

Je remercie Pr. HOMRANI Abdelkader, Directeur du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale, sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour ses conseils avisés et son aide précieuse.

Je voudrais également adresser de profonds remerciements et toute ma gratitude à Mme SEJO M. Carmen, Professeure à l'Université de Vigo en Espagne pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Je ne trouverai jamais les mots les plus appropriés pour exprimer la reconnaissance que je lui porte pour le temps précieux qu'elle m'a réservé afin de partager avec moi ses précieuses connaissances scientifiques qui ont été très instructives pour moi et déterminantes pour l'aboutissement de mon projet de thèse.

Je remercie infiniment, RODRÍGUEZ-FLORES M. Shantal post doctorante de l'Université de Vigo pour le temps précieux qu'elle m'a réservé pour m'initier aux méthodes d'analyse de laboratoire. Mon passage parmi vous a été, avant tout une grande expérience sur le plan humain. Merci pour votre convivialité et votre gentillesse innée.

Au Directeur du Laboratoire « M2ISH » de l'Université de Clermont Ferrand (France), Pr BARNICHE Nicolas, pour avoir accepté que je travaille au sein de son laboratoire pour la partie sur l'adhésion cellulaire et les analyses protéomiques, j'adresse mes sincères remerciements.

Je remercie également Mme BAEUNE Patricia, Directrice du Laboratoire Michaud « France », d'avoir accepté de m'effectuer certaines analyses par la technique de la RMN gracieusement

Je remercie Mr KERKOUUD Mohamed (DIAG-GEN, Angers, France) pour m'avoir donné l'opportunité d'effectuer l'identification de mes bactéries par les méthodes de Biologie moléculaire (PCR, Séquençage).

Je tiens à remercier vivement M. Giles RATIA, Directeur d'Apiservices (France) et ancien Président d'APIMONDIA et LYOUSSE Badiaa, Professeure à l'Université de Fès (Maroc) pour leurs encouragements et leurs conseils.

Je remercie M HAMZAOUI Mohamed, Président de l'ANAP et M. CHENANE Nasreddine Chef de Département de l'ITELV pour leur aide et la mise à notre disposition de la documentation sans oublier Dr BOUCHAREB Abdelmadjid, Apiculteur Professionnel et enseignant à l'Université de Blida.

Je tiens à remercier particulièrement Pr BENHASSAINE Hachemi de l'Université de Sidi Bel Abbès, Pr BENYOUCEF Abdelaziz de l'Université de Guelma, Dr AISSAOUI Chadli de l'Université d'El Tarf, et Dr TEFIANI Choukri de l'Université de Tlemcen pour leur aide dans la collecte des échantillons de miel à travers les différentes régions d'Algérie.

Je remercie les enseignants chercheurs de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie qui ont contribué à ma formation et/ou à la réalisation de la thèse par leur contribution et leur implication dans les parties statistiques et méthodologiques en particulier : Pr HADDAD Ahmed, M. DAHLOUM Elhaouari, BENABDELMOUMENE Djillali, M. CHOUIEB Mohamed,

Je n'oublie pas les membres du Laboratoire LSTPA pour l'aide morale et matérielle en particulier, M. BACHIR BOUIADJRA Benabdellah.

Ma gratitude va aussi à l'ensemble des ingénieurs et techniciens de laboratoires pour m'avoir initié aux méthodes d'analyses et pour m'avoir facilité l'accès dans leur laboratoire respectif pour réaliser mon thème d'étude particulièrement : M. BENHARAT Noureddine, M. BOUKHALFA Mohamed, Mme.KETROUCI Nadia, M. AMRANE Mohamed, M. BENBOUZIANE Djillali, AZZOUZ Redouane, BENGUENAB Rachida et Rachida

Je remercie particulièrement Mr SOUANE Abdelkader pour son aide, sa disponibilité et son dévouement pour mettre à ma disposition tout ce qui était possible pour mener à bien mes travaux de recherche.

Je n'oublie pas de remercier les doctorantes et les doctorants du laboratoire des sciences et techniques de productions animales de Hassi-Mamèche Mostaganem de la promotion 2014, BOUTARFA Asma, BENKRIZI Nawel, BELLABESS Mohammed, DAHOU Abdelkader El Amine, KETROUCI Leyla, MEGHOUFEL Naima, ZELMAT Nadia, SEDDAOUI Ismail, SASSI El-hachmi,, avec qui j'ai passé la plupart de mes journées durant ces cinq dernières années, au sein du laboratoire « LSTPA » et avec qui j'ai partagé des moments inoubliables, parfois fois difficiles, mais le plus souvent agréable, merci à vous.

J'adresse ma plus profonde gratitude à tous les apiculteurs pour avoir partagé avec moi leur passion pour l'apiculture, de m'avoir fait découvrir le monde des abeilles, et de m'avoir aidé, parfois gracieusement, à obtenir mes échantillons de miels,

Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de cette thèse de doctorat et que je n'ai pu citer.

A vous tous, un grand Merci

*H. Mounia*

## Liste des tableaux

| <b>N° Tableau</b>                   | <b>Titre</b>                                                                                                                              | <b>Page</b> |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <i>Partie revue bibliographique</i> |                                                                                                                                           |             |
| <b>Tableau 01</b>                   | Caractéristiques des importations de miel par pays                                                                                        | <b>13</b>   |
| <b>Tableau 02</b>                   | Les différences entre miel de nectar et miel de miellat                                                                                   | <b>21</b>   |
| <b>Tableau 03</b>                   | Teneurs en sucre des miels                                                                                                                | <b>27</b>   |
| <b>Tableau 04</b>                   | Recommandations et exigences internationales des critères de qualité du miel                                                              | <b>33</b>   |
| <b>Tableau 05</b>                   | Propriétés et indications thérapeutiques plus spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux                                      | <b>44</b>   |
| <i>Partie étude expérimentale</i>   |                                                                                                                                           |             |
| <b>Tableau 06</b>                   | Fiche de renseignements des miels étudiés.                                                                                                | <b>57</b>   |
| <b>Tableau 07</b>                   | Classification de Maurizio (1975)                                                                                                         | <b>60</b>   |
| <b>Tableau 08</b>                   | Echelle (mm Pfund) établie par l'USDA, pour la détermination de la couleur.                                                               | <b>64</b>   |
| <b>Tableau 09</b>                   | Volumes des composants de la solution mix utilisée pour l'amplification de l'ADNr 16s                                                     | <b>74</b>   |
| <b>Tableau 10</b>                   | Résultats des analyses polliniques quantitatives                                                                                          | <b>78</b>   |
| <b>Tableau 11</b>                   | Fréquence de distribution des taxons dans le miel                                                                                         | <b>83</b>   |
| <b>Tableau 12</b>                   | <i>Richesse des familles en taxons (types polliniques)</i>                                                                                | <b>86</b>   |
| <b>Tableau 13</b>                   | <i>Authenticité de l'origines botanique des miels analysés</i>                                                                            | <b>90</b>   |
| <b>Tableau 14</b>                   | Nombre de lactobacilles isolés à partir des Miels de différentes origines                                                                 | <b>131</b>  |
| <b>Tableau 15</b>                   | Résultats de l'identification des isolats par MALFI-TOF                                                                                   | <b>133</b>  |
| <b>Tableau 16</b>                   | Corrélations entre la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, activité antioxydante et la couleur des miels                     | <b>147</b>  |
| <b>Tableau 17</b>                   | Résultats de l'antibiogramme                                                                                                              | <b>148</b>  |
| <b>Tableau 18</b>                   | Les diamètres des zones d'inhibitions des souches pathogènes par les lactobacilles                                                        | <b>159</b>  |
| <b>Tableau 19</b>                   | Les diamètres des zones d'inhibition des surnageants de culture bactérienne des isolats de lactobacilles vis-à-vis des souches pathogènes | <b>160</b>  |



## Liste des figures

| N°                                      | Titre                                                                                                                         | Page |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Partie I : Revue bibliographique</b> |                                                                                                                               |      |
| <b>Figure 01</b>                        | Abeille mèlifère                                                                                                              | 06   |
| <b>Figure 02</b>                        | Un psylle secretant du miellat                                                                                                | 08   |
| <b>Figure 03</b>                        | Puceron vert secretant du miellat                                                                                             | 08   |
| <b>Figure 04</b>                        | Abeille cuellant du miellat                                                                                                   | 09   |
| <b>Figure 05</b>                        | Abeille cueillant du Nectar                                                                                                   | 09   |
| <b>Figure 06</b>                        | La trophallaxie Des abeilles.                                                                                                 | 09   |
| <b>Figure 07</b>                        | Enfumage des abeilles                                                                                                         | 10   |
| <b>Figure 08</b>                        | Désoperculation des cadres                                                                                                    | 10   |
| <b>Figure 09</b>                        | Extraction du miel                                                                                                            | 10   |
| <b>Figure 10</b>                        | Les principaux pays producteurs de miels à l'échelle Internationale                                                           | 11   |
| <b>Figure 11</b>                        | Evolution de la production du miel en Algérie entre 2000 et 2018                                                              | 12   |
| <b>Figure 12</b>                        | Carte représentant la répartition de la production de miel en Algérie, en tonnes par wilaya.                                  | 12   |
| <b>Figure 13</b>                        | Structure du grain de pollen                                                                                                  | 15   |
| <b>Figure 14</b>                        | Les différentes formes des gains de pollen                                                                                    | 16   |
| <b>Figure 15</b>                        | Ornementation du pollen                                                                                                       | 16   |
| <b>Figure 16</b>                        | Représentation schématique des différents types polliniques d'Angiospermes d'après le nombre et la disposition des ouvertures | 17   |
| <b>Figure 17</b>                        | Plantes mellifères présentes en Algérie et leurs intérêt apicoles                                                             | 19   |
| <b>Figure 18</b>                        | Logo appellation d'origine protégé                                                                                            | 25   |
| <b>Figure 19</b>                        | Logo indication d'origine protégé                                                                                             | 25   |
| <b>Figure 20</b>                        | Source primaire de microorganismes dans le miel                                                                               | 46   |
| <b>Figure 21</b>                        | Utilisation et fonction des bactéries lactiques                                                                               | 48   |
| <b>Partie II : Etude expérimentale</b>  |                                                                                                                               |      |
| <b>Figure 22</b>                        | Schéma général des analyses effectuées                                                                                        | 52   |
| <b>Figure 23</b>                        | Origines géographiques des miels étudiées.                                                                                    | 55   |
| <b>Figure 24</b>                        | Répartition de l'Algérie, selon les étages bioclimatiques.                                                                    | 55   |
| <b>Figure 25</b>                        | Schéma des coordonnées colorimétriques                                                                                        | 65   |
| <b>Figure 26</b>                        | Classe de richesse en pollen des miels étudiées                                                                               | 79   |
| <b>Figure 27</b>                        | Fréquences et densités relatives des principaux pollens                                                                       | 81   |
| <b>Figure 28</b>                        | Les différentes classes de formes polliniques des miels analysés                                                              | 82   |
| <b>Figure 29</b>                        | Spectre de fréquence des familles végétales en % des échantillons de miels                                                    | 84   |
| <b>Figure 30</b>                        | <i>Spectre pollinique des miels d'Eucalyptus</i>                                                                              | 92   |
| <b>Figure 31</b>                        | <i>Pollen d'Eucalyptus (400X)</i>                                                                                             | 92   |
| <b>Figure 32</b>                        | <i>Spectre pollinique des miels d'agrumes</i>                                                                                 | 93   |
| <b>Figure 33</b>                        | <i>Pollen de citrus (100X0)</i>                                                                                               | 93   |
| <b>Figure 34</b>                        | <i>Spectre pollinique du miel de Fenouil sauvage</i>                                                                          | 94   |
| <b>Figure 35</b>                        | <i>Pollen de foeniculum vulgare (100X)</i>                                                                                    | 94   |
| <b>Figure 36</b>                        | <i>Spectre pollinique des miels de jujubier</i>                                                                               | 94   |
| <b>Figure 37</b>                        | <i>Pollen de Ziziphus lotus (400X)</i>                                                                                        | 94   |
| <b>Figure 38</b>                        | <i>Spectre pollinique du miel des Apiaceae</i>                                                                                | 95   |

|                        |                                                                                                                         |     |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 39</b>       | Spectre pollinique du miel de coriandre                                                                                 | 95  |
| <b>Figure 40</b>       | Pollen des <i>apiaceae</i>                                                                                              | 95  |
| <b>Figure 41</b>       | Spectre pollinique du miel de grenadier                                                                                 | 96  |
| <b>Figure 42</b>       | Pollen de <i>punica granatum</i>                                                                                        | 96  |
| <b>Figure 43</b>       | Spectre pollinique du miel de colza                                                                                     | 97  |
| <b>Figure 44</b>       | Spectre pollinique du miel de bruyère                                                                                   | 97  |
| <b>Figure 45</b>       | Pollen de <i>brassica napus</i> (400X)                                                                                  | 97  |
| <b>Figure 46</b>       | Pollen de <i>erica arborea</i> (400X)                                                                                   | 97  |
| <b>Figure 47</b>       | Spectre pollinique du miel de <i>Capparis</i>                                                                           | 97  |
| <b>Figure 48</b>       | Pollen de <i>capparis</i> (400X)                                                                                        | 97  |
| <b>Figure 49</b>       | Spectres polliniques de certains miels monofloraux                                                                      | 99  |
| <b>Figure 50 (1) :</b> | Aspect microscopique des différents pollens trouvés dans les miels algériens                                            | 100 |
| <b>Figure 50 (2)</b>   | Aspect microscopique des différents pollens trouvés dans les miels algériens                                            | 100 |
| <b>Figure 51</b>       | Teneurs en eau des miels, selon leurs zones de production                                                               | 104 |
| <b>Figure 52</b>       | Teneurs en eau des miels, selon leurs origines botaniques                                                               | 104 |
| <b>Figure 53</b>       | Variation du pH de l'ensemble des miels analysés                                                                        | 104 |
| <b>Figure 54</b>       | pH des miels issus du nectar                                                                                            | 105 |
| <b>Figure 55</b>       | Variation de la Conductivité électrique des miels analysés                                                              | 107 |
| <b>Figure 56</b>       | Conductivité électrique des miels issus du nectar                                                                       | 107 |
| <b>Figure 57</b>       | Le taux de HMF des miels analysés                                                                                       | 108 |
| <b>Figure 58</b>       | Répartition des miels, selon leurs teneurs en HMF                                                                       | 108 |
| <b>Figure 59</b>       | Variation de l'indice diastasique des miels analysés                                                                    | 110 |
| <b>Figure 60</b>       | Indices diastasiques des miels, selon leurs origines botaniques                                                         | 110 |
| <b>Figure 61</b>       | Variation de la teneur en sucres réducteurs des miels Analysés                                                          | 112 |
| <b>Figure 62</b>       | Variation de la teneur en monosaccharides des miels analysés                                                            | 113 |
| <b>Figure 63</b>       | cristalisation des miels, selon leurs teneurs en glucose                                                                | 113 |
| <b>Figure 64</b>       | Teneurs en monosaccharides des miels algériens selon leurs origines                                                     | 113 |
| <b>Figure 65</b>       | Vitesse de cristallisation des miels algériens, selon le rapport F/G et G/E                                             | 114 |
| <b>Figure 66</b>       | Variation de la teneur en saccharose des miels analysés                                                                 | 115 |
| <b>Figure 67</b>       | Variation de la teneurs en disaccharides des miels analysés.                                                            | 117 |
| <b>Figure 68</b>       | Teneurs en disaccharides des miels monofloraux                                                                          | 117 |
| <b>Figure 69</b>       | Variation de la teneur en Raffinose des miels analysés                                                                  | 118 |
| <b>Figure 70</b>       | Variation de la Couleur des miels analysés                                                                              | 119 |
| <b>Figure 71</b>       | Répartition des miels, selon leurs couleurs                                                                             | 120 |
| <b>Figure 72</b>       | Aspect visuel de la couleur des miels Algériens analysés                                                                | 120 |
| <b>Figure 73</b>       | Couleurs des miels monofloraux                                                                                          | 121 |
| <b>Figure 74</b>       | Couleurs des miels polyfloraux, selon leurs origines géographiques                                                      | 121 |
| <b>Figure 75</b>       | variation de la couleur des miels analysés (CIE Lab)                                                                    | 123 |
| <b>Figure 76</b>       | Représentation graphique tridimensionnelle de la couleur des miels à l'échelle CIE Lab, selon leurs Zones de production | 123 |
| <b>Figure 77</b>       | Représentation graphique tridimensionnelle de la couleur des miels à l'échelle CIELab, selon leurs origines botaniques  | 124 |
| <b>Figure 78</b>       | Aspect macroscopique des colonies isolées à partir de miels frais sur différents milieux de culture.                    | 125 |
| <b>Figure 79</b>       | Répartition en pourcent des bactéries isolées à partir de miels frais                                                   | 126 |

|                   |                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 80</b>  | Répartition en % des bactéries lactiques isolées à partir de miels algériens                                                                                                          | 127 |
| <b>Figure 81</b>  | Aspect microscopique après coloration de Gram de bactéries lactique isolée de miel (grossissement 100X).                                                                              | 127 |
| <b>Figure 82</b>  | Aspect macroscopique de colonies de lactobacillus sur milieu MRS incubée à 37°C / 48h.                                                                                                | 128 |
| <b>Figure 83</b>  | Nombre de lactobacilles détectés selon leurs milieux d'isolement                                                                                                                      | 132 |
| <b>Figure 84</b>  | Électrophorèse des amplicons                                                                                                                                                          | 134 |
| <b>Figure 85</b>  | Analyse phylogénétique de lactobacillus isolées de miels                                                                                                                              | 137 |
| <b>Figure 86</b>  | Variation de la teneur en PT des miels analysés selon leurs origines botaniques                                                                                                       | 140 |
| <b>Figure 87</b>  | Teneurs en PT des miels, selon leurs zones de production                                                                                                                              | 140 |
| <b>Figure 88</b>  | Teneurs en PT des miels monofloraux                                                                                                                                                   | 140 |
| <b>Figure 89</b>  | Teneurs en PT des miels                                                                                                                                                               | 140 |
| <b>Figure 90</b>  | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique                                                                                                                                               | 141 |
| <b>Figure 91</b>  | Variation de la teneur en FT des miels analysés selon leurs origines botaniques                                                                                                       | 143 |
| <b>Figure 92</b>  | Teneurs en FT des miels selon leurs zones de production                                                                                                                               | 143 |
| <b>Figure 93</b>  | Teneurs en FT des miels monofloraux                                                                                                                                                   | 143 |
| <b>Figure 94</b>  | Teneurs en FT des miels polyfloraux                                                                                                                                                   | 143 |
| <b>Figure 95</b>  | Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes                                                                                                                   | 142 |
| <b>Figure 96</b>  | Variation du pouvoir antioxydant des miels analysés                                                                                                                                   | 145 |
| <b>Figure 97</b>  | Pouvoir antioxydant des miels de différentes origines florales                                                                                                                        | 145 |
| <b>Figure 98</b>  | Variation du IC50 des miels analysés                                                                                                                                                  | 146 |
| <b>Figure 99</b>  | IC50 des miels de différentes origines botaniques                                                                                                                                     | 146 |
| <b>Figure 100</b> | Antibiogramme des différentes souches pathogènes.                                                                                                                                     | 149 |
| <b>Figure 101</b> | Résultats des tests de sensibilité des souches indicatrices aux miels en milieux gélosés                                                                                              | 150 |
| <b>Figure 102</b> | Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre <i>P. aeruginosa</i>                                                                         | 152 |
| <b>Figure 103</b> | Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre <i>E.coli</i>                                                                                | 153 |
| <b>Figure 104</b> | Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre <i>S.aureus</i> .                                                                            | 153 |
| <b>Figure 105</b> | Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre <i>S. typhi</i>                                                                              | 153 |
| <b>Figure 106</b> | Effet des miels sur la croissance des souches indicatrices par l'utilisation des différentes méthodes                                                                                 | 153 |
| <b>Figure 107</b> | Activité antibactérienne des cultures bactériennes de lactobacillus vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des spots.                                       | 158 |
| <b>Figure 108</b> | Résultats de l'activité antibactérienne des surnageants de culture bactériens des isolats de lactobacille vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des puits. | 159 |
| <b>Figure 109</b> | Effet des surnageants de cultures de lactobacilles sur la croissance des bactéries à Gram négatif.                                                                                    | 160 |
| <b>Figure 110</b> | Résultats de l'activité anti-adhésive des miels algériens en fonction de leurs régions de récoltes                                                                                    | 164 |

## *Liste des annexes*

|                   |                                                                                                   |            |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Annexe. 01</b> | Spectre pollinique des miels algériens.                                                           | <b>212</b> |
| <b>Annexe. 02</b> | Analyse pollinique qualitative des miels, selon leur zone de production                           | <b>216</b> |
| <b>Annexe. 03</b> | Table de CHATAWAY (1935).                                                                         | <b>219</b> |
| <b>Annexe. 04</b> | Résultats de l'études des paramètres physicochimiques des miels Algériens                         | <b>220</b> |
| <b>Annexe. 05</b> | Résultats du dosage des sucres par RMN                                                            | <b>222</b> |
| <b>Annexe. 06</b> | Résultats de l'identification moléculaire des souches isolées à partir de miel                    | <b>224</b> |
| <b>Annexe .07</b> | Résultats de l'étude de l'activité antioxydante des miels algériens                               | <b>227</b> |
| <b>Annexe. 08</b> | Chromatogramme obtenu pour les séquences du gène 16S rDNA de différentes souches de lactobacilles | <b>229</b> |
| <b>Annexe. 09</b> | Profils des spectres de MALDI-TOF/MS de différentes souches de lactobacilles.                     | <b>230</b> |
| <b>Annexe. 10</b> | Résultat obtenu de l'identification par MALDI-TOF                                                 | <b>231</b> |

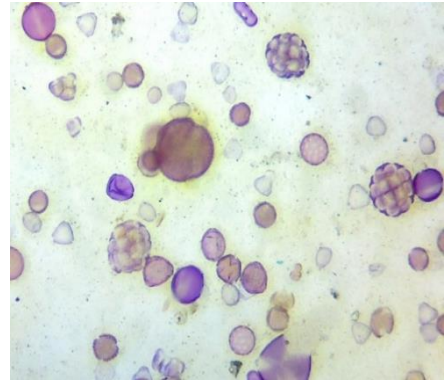
## Liste des principales abréviations

|                                                                                |                                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ADN</b> : Acide désoxyribonucléique                                         | <b>MALDI-TOF MS</b> : Spectrométrie de masse par « Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization –Time of Flight» |
| <b>AIEC</b> : Adhérente Invasive <i>E.coli</i>                                 | <b>MC</b> : Maladie de Crohn                                                                                    |
| <b>AOAC</b> : Association of Official Agricultural Chemists                    | <b>meq/kg</b> : milliéquivalents/kg                                                                             |
| <b>AOP</b> : Appellation d'Origine Protégée                                    | <b>MICI</b> : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin .                                                |
| <b>ARNr 16S</b> : sous-unité 16S de l'ARN ribosomal                            | <b>mS /cm</b> : millisiemens /centimètre                                                                        |
| <b>ATB</b> Antibiotique                                                        | <b>MRS</b> : Man Rogosa et Sharp                                                                                |
| <b>ATCC</b> : American Type Culture Collection                                 | <b>PBS</b> : Phosphate buffered saline                                                                          |
| <b>Aw</b> : Activité de l'eau                                                  | <b>PCR</b> : Polymerase Chain Reaction                                                                          |
| <b>BLAST</b> : Basical Local Alignment Search Tool                             | <b>pH</b> : Potentiel Hydrigène                                                                                 |
| <b>BLSE</b> : bêtalactamase à spectre élargi                                   | <b>ppm</b> : partie par million                                                                                 |
| <b>CE</b> : Conductivité électrique                                            | <b>RMN</b> : Résonance Magnétique Nucléaire                                                                     |
| <b>CHU</b> : Centre Hospitalier Universitaire                                  | <b>RPM</b> : Rotation Par Minute                                                                                |
| <b>dNTP</b> : Désoxyribonucléotide triphosphate                                | <b>SARM</b> : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, MRSA (anglais)                                  |
| <b>DTT</b> : Dithiothreitol                                                    | <b>SASM</b> : Staphylococcus aureus sensible à la méticilline, MSSA(anglais)                                    |
| <b>EC</b> : Electrical Conductivity (mS/cm)                                    | <b>SCFA</b> : acide gras à chaîne courte                                                                        |
| <b>EDTA</b> : acide éthylène diamine tétra acétique                            | <b>TBE</b> : Tris Borate EDTA                                                                                   |
| <b>FAOSTAT</b> : <i>Food and Agriculture Organization, Statistics Division</i> | <b>UE</b> : Union Européenne                                                                                    |
| <b>GC</b> : Guanine / Cytosine                                                 | <b>UFC</b> Unité Formant Colonie                                                                                |
| <b>GRAS</b> : Generally Recognized As Safe                                     | <b>UV</b> : Ultraviolet                                                                                         |
| <b>H°</b> : Taux d'humidité                                                    | <b>%</b> : Pourcentage                                                                                          |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : peroxyde d'hydrogène                       | <b>°C</b> : Degré Celsius                                                                                       |
| <b>HMF</b> : Hydroxyméthylfurfural                                             | <b>ssp.:</b> sous espèce                                                                                        |
| <b>HPLC</b> : chromatographie liquide à haute performance                      | <b>sp.:</b> espèce inconnue                                                                                     |
| <b>ID</b> : Indice Diastasique                                                 |                                                                                                                 |
| <b>IGP</b> : Indication Géographique Protégée                                  |                                                                                                                 |
| <b>IHC</b> : International Honey Commission                                    |                                                                                                                 |
| <b>IR</b> : indice de réfraction                                               |                                                                                                                 |
| <b>kGy</b> : Kilogray                                                          |                                                                                                                 |
| <b>ITELV</b> : Institut Technique des Élevages                                 |                                                                                                                 |
| <b>LAB</b> : Lactic Acid Bacteria                                              |                                                                                                                 |
| <b>Lb</b> : <i>Lactobacille</i>                                                |                                                                                                                 |

---

# Résumés

---



## Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation des caractéristiques méliissopalynologiques (qualitatives et quantitatives), physicochimiques (conductivité, pH, couleur, humidité, sucres, hydroxyméthyl-5-furfural, indice diastasique) et des propriétés biologiques de 63 échantillons de miels algériens crus et frais, collectés durant les années 2015 et 2016.

L'étude méliissopalynologique quantitative et qualitative a été réalisée par microscopie optique. L'activité antibactérienne a été évaluée selon la méthode de diffusion sur milieux gélosés. Les dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, ainsi que la détermination de l'activité antioxydante (DPPH) ont été évalués par spectrophotométrie. Le pouvoir anti-adhésion des miels sur les cellules épithéliales intestinales infectées par la souche bactérienne « AIEC » puis traitées avec une solution de miel a été réalisé *in vitro*. L'identification de *Lactobacillus* isolés des échantillons de miels ont été effectués selon les méthodes classique, protéomique et génotypiques ont été utilisées.

L'analyse pollinique révèle la présence de 20 miels multif floraux et 40 monof floraux, répartis en dix-sept (17) origines botaniques (*Eucalyptus*, *Citrus*, *Ziziphus lotus*, *Foeniculum vulgar*, *Punica granatum*, *Brassica napus t*, *Capparis*, *Apiacea*, *Erica arborea*, *Centaurea*, *Genista*, *Tamarix*, *Coriandrum sativum t*, *Hedysarum coronarium*, *Rosmarinus officinalis*, *Eriobotrya japonica*, *Melilotus t.*), où cent sept (107) taxons appartenant à 53 familles botaniques ont été inventoriés. Trois miels (03) ont été caractérisé comme miel de miellat. La densité moyenne en grains de pollen dans les miels est de  $1,93 \times 10^5$  grains /10 g de miel. Les analyses physicochimiques montrent que la majorité des miels étudiés sont d'une bonne qualité et correspondent aux normes internationales. La couleur varie du clair à foncé. Une corrélation variable a été observée entre les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et le pouvoir antioxydant. L'activité antibactérienne des miels a été confirmée. Par ailleurs certains miels montrent une capacité à inhiber l'adhésion d'une bactérie AIEC aux cellules épithéliales intestinales. Les espèces bactériennes *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* ont été détectées dans les miels. Ces dernières possèdent des propriétés antibactériennes.

Ainsi, les miels algériens présentent des particularités sur le plan pollinique, physicochimique, biologique et microbiologique qui méritent d'être explorées afin qu'ils soient catégorisés et valorisés, éventuellement, dans le cadre des indications géographiques protégées en tant que produits de terroirs.

Mots clés : Miel, Activité biologique, *Lactobacillus*, AIEC, Anti-adhésion, Physicochimie, Méliissopalynologie, Algérie



## Abstract

The present study aimed to evaluate Melissopalynological characteristics (qualitative and quantitative), physicochemical characteristics (Conductivity, pH, color, moisture, sugars, hydroxymethyl-5-furfural, diastase index) and biological properties of 63 raw and fresh Algerian honey samples, collected during years 2015 and 2016.

Quantitative and qualitative Melissopalynological study was performed by optical microscopy. Antibacterial activity was evaluated according to diffusion method on agar media. Total polyphenols and total flavonoids assay as well as determination of antioxidant activity (DPPH) were evaluated spectrophotometrically. Honey anti-adhesion on the epithelial intestinal cells infected with bacterial strain "AIEC" and treated with honey solution was performed *in vitro*. Identification of *Lactobacillus* isolated from honey samples was performed according to classical, proteomic and genotyping techniques were used to identify isolates.

Pollen analysis reveals the presence of 20 multifloral and 40 monofloral honeys, divided into seventeen (17) botanical origins (*Eucalyptus*, *Citrus*, *Zizyphus lotus*, *Foeniculum vulgar*, *Punica granatum*, *Brassica napus t.*, *Capparis*, *Apiacea*, *Erica*, *Centaurea*, *Genista*, *Tamarix*, *Coriandrum sativum*, *Hedysarum coronarium*, *Rosmarinus officinalis*, *Eriobotrya japonica*, *Melilotus t.*), and one hundred and six (106) taxa belonging to 53 botanical families. three honeys were characterized as honeydew honeys. Honeys pollen grains average density is  $1.93 \times 10^5$  grains/10 g of honey. Honeys physicochemical analyzes are of good quality and correspond to Codex Alimentarius standards. Color varies from light to dark. According to samples, a variable correlation was observed between polyphenols contents, flavonoids contents and antioxidant power. Antibacterial activity on bacteria growth was confirmed, especially against Grams positive bacteria. In addition, some honeys show an ability to inhibit the adhesion of an "AIEC" bacterium to intestinal epithelial cells. *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus pentosus*, with antibacterial properties, have been detected in Algerian honeys.

Algerian honeys have pollen, physicochemical, biological and microbiological characteristics deserve to be explored for them to be categorized and valorized, eventually, in the context of protected geographical indications as local products.

Key words: Honey, Bacteria, Biological activity, *Lactobacillus*, AIEC, Anti-adhesion, Physicochemistry, Melissopalynology, Algeria.

## ملخص

تناولت هذه الدراسة تقييم خصائص التحاليل الطلعية (النوعية و الكمية) و الفيزيا كيميائية (الموصلية، pH، اللون، الرطوبة، السكريات، HMF ، المؤشر الأنزيمي) و الخصائص البيولوجية ل 63 عينة من العسل الجزائري الخام و الطازج الذي تم جمعه خلال عامي 2015 و 2016 . أجريت دراسة التحليلات الطلعية الكمية و النوعية بواسطة المجهر الضوئي. تم تقييم نشاط مضاد الجراثيم وفقا لطريقة نشرها على وسط جليوزي. أما تقديرات البوليفينولات و الفلافونويدات و كذلك تحديد نشاط مضادات الاكسدة (DPPH).

قتمت بواسطة القياس الطيفي. تم كذلك اجراء دراسة مكافحة الألتصاقللخلايا الضاهرية المصابة بالسلالة البكتيرية « AIEC » المعوية،

ثم معالجتها بمحلول العسل مخبريا. تم التعرف على *Lactobacillus* المعزول من عينات العسل وفقا للطرق الكلاسيكية و الجزيئية.

أما للتحديد العزالات استخدمت تقنيات الطيف الكتلي و التتميط الجيني. كشف تحليل حبوب اللقاح عن وجود 23 نوع عسل متعدد النباتات و 40 أحادي الزهر، موزع على 17 أصل نباتي (*Eucalyptus*, *citrus*, *Zizyphus lotus*, *Foeniculumvulgare*, *Punicagranatum*, *Brassicacanapus T.*, *Capparis*, *Apiacea*, *Erica*, *Santoria*, *Genista*, *Tamarix*, *Criandrum sativum T.*, *Hedysarum coronarium*, *Rosmarinus officinalis*, *Eriobotrya japonica*, *Melilotus T.*)

أين تم حر 107 نوع تابع ل 53 فصيلة نباتية مختلفة. تبلغ كثافة حبوب اللقاح في العسل 93، 1  $10^5$  / 100 غرام من العسل. تبين التحليلات الفيزيوكيميائية أن العسل المدروس من النوعية الجيدة و يتوافق مع معايير الهيئة الغذائية. يختلف اللون من الفاتح الى القاتم.

وفقا للعينات، لوحظ وجود علاقة متبادلة بينمحتويات البوليفينول و الفلافونويدات مع نشاطها المضاد للاكسد. تأكدنشاط مضاد للجراثيم على نمو البكتيريا ، خاصة ضد بكتيريا من نوع  $Gram^+$ .

اضافة الى ذلك، تظهر بعض العينات قدرة العسل على منع التصاق بكتيريا AIEC بالخلايا الظهارية المعوية. تم اكتشاف نوعين من البكتيريا

*L. pentosum*, *Lactobacillus plantarum*. في محتوى العسل

. لهذه الأخيرة خصائص مضادة للجراثيم. يتميز اذا العسل الجزائري بميزات بليولوجيا و فيزييا كيميائية و بيولوجية و الميكروبيولوجية التي تستحق اكتشافها حتى يتمكن تصنيفها و تثمينها، ربما في مجال المؤشرات الجغرافية المحمية كمنتجات محلية.

**كلمات مفتاحية:** عسل، نشاط بيولوجي، بكتيريا، مضاد الالتصاق، خصائص فيزييا كيميائية، حبوب الطلع، الجزائر، بليولوج

---

# Introduction

---





## Introduction

Connu, depuis les temps les plus reculés, le miel est la substance naturelle sucrée, produite par les abeilles mellifiques à partir de nectar et/ou de miellat ([Doukani et al., 2014](#)). C'est l'une des denrées alimentaires les plus appréciées par l'homme en raison de ses saveurs, arômes et vertus énergétiques ([Belhaj et al., 2015](#)).

Il a été rapporté que le miel contient jusqu'à 200 substances, principalement des hydrates de carbone et de l'eau ([Achour et Khalil., 2014](#)). Il contient également des minéraux, des protéines, des acides aminés libres, des enzymes, des vitamines, des acides organiques, des flavonoïdes, des acides phénoliques et d'autres composés phytochimiques ([Louppis et al., 2017](#)). De la diversité des matières premières végétales et les transformations qu'elles subissent au sein de la colonie d'abeilles, il y a différents miels qui se distinguent par leur composition, directement dépendante du climat, des conditions environnementales et de la compétence des apiculteurs ([Gheldof et Engesth, 2002](#) ; [Küçük et al., 2007](#)).

Il y a 8000 ans, l'homme récoltait déjà cet élixir précieux des abeilles vivant à l'état sauvage en extrayant de leur nid des alvéoles remplies de miel, puis il a développé une apiculture rationalisée avec des ruches à cadres ([Marchenay et Berard, 2007](#)). Aujourd'hui, l'apiculture est considérée comme une activité agricole à part entière ([Jean-Prost, 1987](#)) et le miel est classé comme une production animale, bien qu'il diffère significativement des autres produits d'élevage.

En 2017, la production mondiale de miel était d'environ 1,9 million de tonnes ; la Chine étant le principal pays producteur suivi de la Turquie et de l'Iran ([FAOSTAT, 2018](#)). En Algérie, malgré une augmentation de la production à l'échelle nationale qui est passé de 4770 tonnes en 2010 à 7000 tonnes en 2018, elle reste néanmoins très faible par rapport au potentiel mellifère dont dispose le pays ([MADR, 2019](#)). Cette quantité demeure toujours insuffisante pour couvrir les besoins du consommateur algérien faisant ainsi, appel à l'importation massive en cette matière, ce qui a engendré une dépréciation des miels de terroir face à ceux importés. Globalement, depuis 2013, l'Algérie a importé 3600 tonnes de miel, (soit en moyenne 700 t/an) ([PAP-ENPARD-Algérie, 2019](#)). L'Espagne est le pays via lequel l'Algérie importe la majeure partie de son miel (84% des importations) comme rapporté par [PAP-ENPARD-Algérie \(2019\)](#). Il s'agit d'un miel à très bas prix. Officiellement, Il y a très peu d'importation de miel chinois en Algérie. Cependant, l'Espagne, comme la Belgique, est reconnue pour fonctionner comme une plateforme de redistribution des miels chinois ([PAP-ENPARD-Algérie, 2019](#)). Comme tout aliment, le miel est soumis à une réglementation internationale, qui a pour objectif de garantir



au consommateur un produit de bonne qualité et de le protéger contre les falsifications (Da Silva et al., 2016). Ainsi, des critères ont été spécifiés par Le Codex Alimentarius et la législation européenne concernant la commercialisation du miel.

Afin d'augmenter la valeur commerciale du miel, les apiculteurs lui attribuent généralement une dénomination particulière faisant référence aux spécificités liées à l'origine botanique et/ou géographique. Tel est le cas des miels monofloraux, qui proviennent principalement d'une seule origine botanique, étant perçus par les consommateurs comme un miel de haute qualité présentant des caractéristiques individuelles distinctes (Soares et al., 2015). L'analyse méliissopalynologique, qui est basée sur l'examen microscopique de la qualité et la quantité du pollen présent dans le miel est la méthode officielle, utilisée pour l'identification de l'origine botanique des miels (Di Rosa et al., 2018). En Algérie, en raison du nombre réduit de laboratoires d'analyses, agréés et de l'absence de législation nationale concernant la commercialisation du miel, les renseignements concernant les origines botaniques, correspondent généralement à des observations empiriquement effectuées par des apiculteurs sur le terrain sans aucune authentification ; ce qui peut être considéré comme une fraude sur le plan international (Bakchiche et al., 2018).

La connaissance des caractéristiques physico-chimiques des miels est également essentielle pour l'évaluation de sa bonne qualité et de son authenticité. Ainsi, certains paramètres tels que la conductivité électrique, la couleur, le dosage des sucres, participent à l'identification et la confirmation de l'origine florale d'un miel, tandis que d'autres : l'Hydroxy-Méthyl-Furfural (HMF), l'humidité, le pH et l'acidité, les enzymes (invertase et amylase) et les sucres déterminent sa qualité (état de fraîcheur) et sa stabilité dans le temps (Da Silva et al., 2016).

L'utilisation du miel en tant que médicament, remonte à la plus haute Antiquité, Hippocrate le conseillait contre de nombreuses pathologies, comme fortifiant (Bogdanov, 2016). Aujourd'hui, face à l'essor des médecines naturelles, le miel semble revenir sur le devant de la scène en raison de l'image qu'il véhicule comme produit sain, diététique et curatif (Miguel et al., 2017). Grâce à ses nombreux principes actifs (peroxyde d'hydrogène, lysozyme, pH, acides phénoliques, flavonoïdes etc....), le miel possède diverses propriétés biologiques dont les plus importantes sont l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antifongiques, gastro et hépato-protectrices (Anand et al., 2018). Le champ d'application du miel dans le domaine médical fait l'objet de plusieurs recherches. Récemment, son rôle dans le traitement des brûlures, des troubles gastro-intestinaux, des plaies infectées et chroniques, des ulcères de la peau et des affections oculaires a été mis en évidence (Anand et al., 2018). Dans



les pays développés, le miel semble être une alternative envisageable pour les traitements couteux (escarres, plaies postopératoires etc....) et devenus inefficaces comme la résistance aux antibiotiques (Mandal et Mandal, 2011). Pour les pays en voie de développement, ce produit naturel pourrait être une solution thérapeutique d'autant plus qu'il peut être produit de façon indépendante (Ahmed, 2014). La consommation de miel augmente les antioxydants plasmatiques qui protègent les cellules dans le sang, permettant ainsi de contrebalancer des processus pathologiques tels que le stress qui est responsable dans l'apparition de plusieurs troubles et maladies tel que le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Ouchemoukh, 2012 ; Anand et al., 2018).

En raison des différentes propriétés physicochimiques les micro-organismes ne peuvent pas croître dans le miel. Cependant, ce produit alimentaire n'est pas stérile. Les bactéries lactiques font parties des microorganismes bénéfiques et intéressantes qui y sont détectées. Des récentes recherches, ont démontré les propriétés antimicrobiennes de certains genres de bactéries lactiques principalement, des *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui ont été isolées de miels de différentes origines, (Lashani et al., 2018 ; Hasali et al., 2015 ; Piccart et al., 2016 ; Olofsson et al., 2016). Cependant, les recherches concernant les bactéries lactiques dans les miels algériens restent rares voire inexistantes. En raison de leurs capacités à produire des bactériocines ces bactéries présentent un intérêt substantiel en tant que médicaments naturels et nouveaux antimicrobiens (Prestinaci et al., 2015).

Dans cette optique, et dans le cadre de la valorisation des miels algériens, le présent travail est motivé par la curiosité scientifique afin de déterminer les caractéristiques polliniques (qualitative et quantitative) et physicochimiques (pH, conductivité, teneur en eau, dosage des sucres, Hydroxy Méthyl Furfural, indice diastasique, couleur), de miels collectés dans différentes régions d'Algérie. Dans un second volet, sont évaluées leurs propriétés biologiques (antibactérienne, antioxydante, anti-adhésion). Dans un troisième volet, afin de donner une originalité à notre étude, ont été isolés, des *Lactobacilles*, à partir de miels frais crus algériens et identifiés au niveau des espèces. L'activité antibactérienne de certaines d'entre eux a été testée.

Par son importance, ce travail contribue à l'enrichissement d'une banque de données fiables en vue d'établir des normes nationales et de rechercher les possibilités de faire de certains types de miels des produits de terroir ou une éventuelle labellisation selon des signes distinctifs. Cette expérimentation ouvre également une perspective intéressante dans le domaine médical qui suggère l'utilisation du miel comme alicament et des *Lactobacilles* isolés à partir de



ces miels comme probiotiques ou comme une alternative aux antibiotiques. Cette étude évalue également le possible rôle de ces bactéries dans le pouvoir antibactérien du miel.

La première partie est consacrée à la revue bibliographique qui comporte quatre chapitres et traite successivement des notions générales du miel, de la caractérisation méliissopalynologique et physicochimique, des propriétés biologiques et enfin des bactéries bénéfiques du miel.

La deuxième partie est consacré à l'étude expérimentale qui comporte quatre chapitres, le premier, traite des objectifs de notre projet de thèse, le deuxième présente la zone d'étude, le troisième, traite du matériel et des méthodes utilisés lors de cette étude, et le quatrième présente les résultats et leur discussion en rapport avec des données bibliographiques en Algérie et à travers le monde.



---

# Partie I

## Revue bibliographique

---





## Chapitre I. Généralités sur le miel

### I.1. Définition

Le miel est défini comme étant la substance naturelle sucrée produite par les abeilles mellifiques de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de plantes qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Elle peut être fluide, épaisse ou cristallisée (Blanc, 2010). Cette définition est extraite du Codex alimentarius. (2001).

Le mot « miel » ne peut être utilisé pour désigner des produits obtenus en nourrissant les abeilles avec du sucre industriel, pas plus qu'on ne peut en faire usage pour désigner des produits sucrés provenant d'insectes autres que l'abeille mellifique (Marchenay, 1988). Les miels produits par des espèces proches de l'abeille domestique telles qu'*Apis cerana*, *Apis dorsata* ou bien l'abeille *mélipone* (Fig. 01) seront obligatoirement identifiés autrement, leur composition étant très différente (Marchenay, 1988). Il est donc un produit 100% naturel ; l'homme n'intervient absolument pas dans sa fabrication. Le travail de l'apiculteur consiste à fournir aux abeilles des conditions favorables, puis à récolter le miel, à s'assurer qu'il soit de bonne qualité et qu'il se conserve correctement (Lequet, 2010).



**Figure 01 : Abeille mellifère**  
(Photo de Ken Walker publiée sur <http://www.padil.gov.au>)

### I.2. Origine du miel

Le miel provient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur et /ou du miellat récolté sur les plantes (Buba et al., 2013).



### **I.2.1. Le nectar**

C'est la ressource sucrée la plus régulière et la plus répandue. Il est produit par des organes spécifiques aux végétaux à fleurs dénommés nectaires ou glandes nectarifères. On en distingue deux types : les premiers, situés le plus souvent à la base des pétales au cœur de la fleur, sont appelés nectaires floraux. Quant aux autres, ils peuvent se trouver sur d'autres parties de la plante comme les bractées, les pétioles ou encore à la base de certaines feuilles comme celles du laurier, il s'agit alors de nectaires extra-floraux (Clement, 2011).

Le nectar est formé à partir de la sève de la plante au niveau des cellules des glandes nectarifères où siègent des transformations biochimiques complexes, conférant au précieux liquide une composition très variée. C'est une solution acide et sucrée destinée à attirer les insectes pollinisateurs tels que les abeilles, composé essentiellement d'eau (80%) et de sucres (20%) à des concentrations pouvant être variables, il peut de ce fait être plus ou moins visqueux. Les sucres principalement retrouvés sont le saccharose (miel de Rhododendron), le glucose (miel de Lierre) ou le fructose (miel d'Acacia), dépendant de l'origine florale (Darrigol, 2007). En outre, le nectar contient en quantité infime des acides organiques, des protéines (enzymes et acides aminés libres), des composés inorganiques, des vitamines et des pigments phénoliques issus des pollens et exprimant un arôme et une couleur propre à chaque espèce végétale. Ces substances attribueront au miel une véritable « carte d'identité » phytosociologique (Koechler, 2015).

La production nectarifère peut varier selon plusieurs facteurs dépendants d'une part de la fleur (taille, durée de floraison, structure de l'inflorescence), et d'autre part de l'environnement (température, humidité du sol, moment de la journée, situation géographique ou altitude et latitude). Dans des conditions optimales, une colonie peut récolter jusqu'à 5 kilogrammes de nectar par jour (Apimondia, 2001).

### **I.2.2. Le Miellat**

Par temps sec ou encore dans les zones où les fleurs sont rares voire inexistantes telles que les forêts de conifères, l'abeille va pouvoir se procurer par défaut de source hydrocarbonée habituelle, un substitut au nectar : le miellat.

Contrairement au nectar, le miellat n'est pas bénéfique pour l'abeille butineuse. En effet par sa composition particulièrement riche en éléments indigestes, cette substance n'a pas bonne réputation pour l'hivernage de la ruche (Schweitzer, 2004).



Le miellat est fabriqué à partir des excréments de certains insectes suceurs de sève laissées sur les végétaux (Gharbi, 2011). Ces insectes sont des hémiptères et des homoptères comme les pucerons, les cochenilles, les cigales et les psylles (Fig.02, Fig.03). Ces derniers possèdent des pièces buccales leur permettant de percer la surface des feuilles ou l'écorce des arbres afin d'en prélever la sève élaborée pour s'en nourrir (Koechler, 2015). Une fois absorbée, la sève passe dans l'estomac de l'insecte, chemine dans le tube digestif où les molécules de sucres sont ensuite fractionnées puis recombinaées. L'intestin va absorber approximativement 10% de ces sucres et l'excédent ressortira enfin par l'anus sous forme de petites gouttelettes de miellat que les abeilles pourront venir sucer directement sur le corps du puceron, sur les feuilles ou bien les aiguilles. Les plantes hôtes de ces producteurs de miellat sont le plus souvent des arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le chêne ou le mélèze (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

Le miellat est un liquide épais, sombre et visqueux composé de sucres plus complexes que le nectar, comme le mélézitose ou l'erlose. Cependant, le mélézitose peut représenter un réel danger s'il est présent en grande quantité dans les ruches car il peut durcir comme de la pierre. On y retrouve également plus d'acides organiques, de minéraux et d'azote, sa composition se rapproche donc d'avantage de celle de la sève végétale que de celle du nectar (UNAF, 2011).

La production de miellat peut être sujette à des variations assez importantes : elle dépend notamment des conditions météorologiques auxquelles les pucerons sont très sensibles, mais également des nombreux prédateurs naturels ciblant ces insectes suceurs : coccinelles, guêpes (Marchenay, 1988). Au contraire, certaines espèces de fourmis se nourrissent de miellat et vont jusqu'à élever des pucerons afin d'obtenir leurs excréments (Adam, 2011).



**Figure 02** : Un psylle sécrétant du miellat  
(photo de Claude pilon publiée sur <http://www.antomofaune.qc.ca>)



**Figure 03** : Puceron vert sécrétant du miellat  
photo de Bernard Chaubet publiée sur <http://www6.inra.fr>)

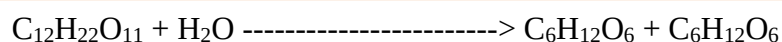


## I.3. Production du miel

### 1.3.1. Travail des abeilles

Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes (Alvarez, 2010). La distance de butinage d'une colonie dépend de la structure du paysage, de la saison et de la colonie elle-même (Buchmann et Shipman, 1991). La distance médiane de butinage est estimée entre 1,2 km (Steffan-Dewenter et Kuhn, 2003) et 6,1 km (Beekman et Ratnieks, 2000). Certains auteurs considèrent que la majorité des butineuses effectuent leurs récoltes dans un rayon de 2 km (Chauvin, 1968 ; Buchmann et Shipman, 1991).

L'élaboration du miel commence lorsque les abeilles butineuses recueillent le nectar et/ou le miellat (Fig.04, Fig.05), par aspiration avec leurs trompes et qu'elles l'emmagasinent dans le jabot en y ajoutant de la salive ce qui le rend fluide et surtout l'enrichit en enzyme (la gluco-invertase) qui transforme les polysaccharides en sucres simples.



De retour à la ruche, la butineuse transfère le nectar « prédigéré » à des abeilles ouvrières qui vont par trophallaxie compléter et achever la transformation commencée, avant d'aller dégorger ce liquide dans les alvéoles de cire disponibles. La trophallaxie correspond au transfert du nectar d'une abeille à une autre, de bouche en bouche, par régurgitations successives (Fig.6). Ainsi, au fil des échanges entre les abeilles, la composition de la miellée évolue ; sa teneur en eau s'abaisse tandis que sa concentration en sucres augmente, elle s'enrichit en substances salivaires, notamment des enzymes (invertase, diastase, glucose-oxydase). Les abeilles ventileuses créent un flux d'air afin de déshumidifier progressivement le futur miel. Lorsqu'il atteint la teneur en eau souhaitée, 17% en moyenne, pour environ 83% de sucres, les abeilles bouchent les alvéoles par un opercule de cire, afin qu'il soit protégé de l'humidité. Au terme de ces différentes étapes, une solution super-saturée en sucres est obtenue : le miel.



**Figure 04 :** Abeille cueillant du miellat



**Figure 05 :** Abeille cueillant du Nectar



**Figure 06 :** La trophallaxie Des abeilles. Photo publiée par <http://les-abeilles.e-monsite.com>





### 1.3.2. Travail de l'apiculteur

L'apiculteur récolte le miel qui a été fabriqué par les abeilles. Les différentes étapes de la récolte sont l'enfumage des abeilles (Fig.07), le décollage et brossage des cadres et le transport dans un véhicule étanche jusqu'à la miellerie.

Une fois arrivé à la miellerie, l'apiculteur procède à la désoperculation (Fig.08), qui consiste à enlever la pellicule de cire à l'aide d'un couteau à désoperculer en tranchant la couche de cire de bas en haut (Biri, 1986).

Ensuite vient, l'extraction (Fig.09), en utilisant une machine appelée extracteur qui fait sortir le miel des cadres. Il s'agit d'une cuve où l'on dispose quelques cadres désoperculés. Par la suite, une manivelle fait tourner les cadres et par le biais de la force centrifuge les gouttes de miel sont projetées sur les parois (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

A la sortie de l'extracteur, le miel contient des impuretés et est alors filtré. C'est une grille à double filtre qui va retirer diverses particules de propolis, de cire, d'opercules, de pattes d'abeilles ou de pollen. Une fois filtré, le miel doit encore reposer 4 à 5 jours à une température de 20 °C minimum pour faire remonter en écume l'ensemble des dernières impuretés. Cette écume est ensuite enlevée avant l'étape suivante. Enfin prêt, le miel peut être conditionné en pots avec des capsules qui assurent leur étanchéité et munis d'un étiquetage conforme avec toutes les mentions légales y afférentes.



**Figure 07 :** Enfumage des abeilles



**Figure 8 :** Désoperculation des cadres



**Figure 09 :** Extraction du miel



#### I.4. Le miel en chiffres

Actuellement, l'apiculture contribue aux moyens d'existence des populations dans presque tous les pays du monde, et joue un rôle primordial dans les revenus des populations rurales (Bradbear, 2010). Le premier pays producteur du miel, à l'échelle mondiale est la Chine (plus de 26% de la production mondiale soit 543.000 tonnes) suivi de l'Union Européenne (230.000 tonnes). Les autres principaux pays producteurs sont la Turquie, l'Argentine, l'Ukraine, la Russie, l'Inde, le Mexique, l'Iran et l'Ethiopie (FAOSTAT, 2018) (Fig. 10).



**Figure 10** : Les principaux pays producteurs de miel à l'échelle mondiale (FAOSTAT, 2018)

T : Tonne

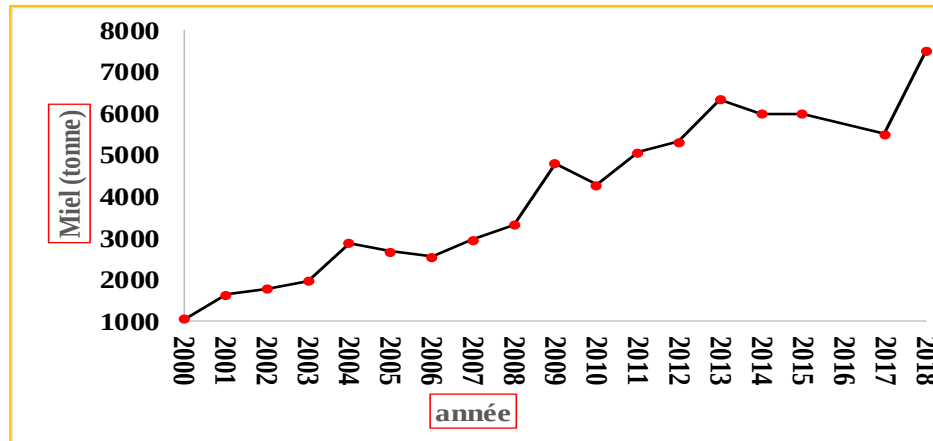
En Algérie, l'Apiculture est largement pratiquée dans les régions montagneuses à population élevée, dans les plaines littorales, dans les plaines intérieures, dans les vallées des grands oueds, ainsi que dans le Sahara (Nair, 2014) (Fig.11, Fig. 12). Malgré une augmentation de la production nationale du miel qui est passé de 4.770 en 2010 à 7.000 tonnes en 2018 (MADR, 2019), elle reste néanmoins très faible par rapport au potentiel mellifère dont dispose le pays. En effet, l'Algérie possède une variété écologique permettant aux abeilles de trouver des conditions optimales pour travailler et produire du miel tout au long de l'année et de différentes variétés selon la saison de récolte. Ce taux de production demeure également insuffisant pour couvrir les besoins du consommateur algérien faisant ainsi, appel à l'importation massive en cette matière.

Globalement, depuis 2013, l'Algérie a importé 3.600 tonnes de miel, (soit en moyenne 700 t/an) ce qui représente, sur la production pendant cette période un taux habituel de 9 à 11%, avec une exception à 16% en 2016, ce qui a dû fortement influencer le marché car c'est l'année à plus forte production enregistrée récemment en Algérie (PAP-ENPARD-Algérie, 2019). L'Espagne est le pays via lequel l'Algérie importe la majeure partie de son miel (84% des importations). Il s'agit d'un miel à très bas prix. L'Allemagne et dans une bien moindre mesure

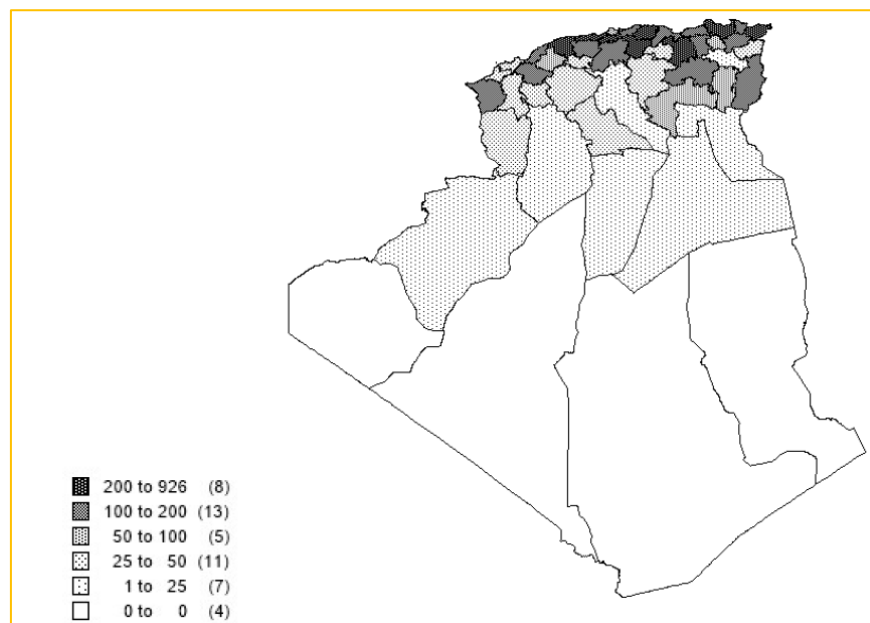




la France, le Canada, la Bulgarie, la nouvelle Zélande qui fournissent assez régulièrement du miel sur le marché. Officiellement, Il y a très peu d'importation de miel chinois en Algérie. Cependant, l'Espagne, comme la Belgique, est reconnue pour fonctionner comme une plateforme de redistribution des miels chinois (PAP-ENPARD-Algérie, 2019).



**Figure 11 :** Evolution de la production du miel en Algérie entre 2000 et 2018 (ITELV, 2018 ; Ministère de l'Agriculture, 2019)



**Figure 12 :** Carte représentant la répartition de la production de miel en Algérie, en tonnes par wilaya. (PAP-ENPARD-Algérie, 2019)

L'Algérien consomme environ 200 à 300 g/an/habitant. Ces niveaux de consommation restent très faibles par rapport à d'autre pays tel que la France (600 g/an/ habitant), donnant au miel une part insignifiante du régime alimentaire comparé à tous les bienfaits qu'il en attend. Cette faible consommation est en partie due au prix du miel qui varie de 1200 DA/kg (miels difficiles à vendre, clairs ou cristallisés) à plus de 6000 DA/kg (jubar) et qui est considéré



comme élevée par rapport au pouvoir d'achat des algériens. Le consommateur algérien considère le miel comme médicament, ses préférences se portent sur les miels foncés, liquides, emballés dans des bocaux en verre, mais il est dans la confusion totale quant au circuit commercial de celui-ci ; de ce fait, il se procure ses miels par les circuits informels et par des rapports de confiance ou se tourne vers les miels d'importation présents dans les commerces, sans être sûr de la qualité de ces produits.

Les exportations des miels algériens restent très faibles (Tab.01). En 2018 une exportation vers la Suisse a représenté l'essentiel des ventes. Cependant, la seule opération qui semble avoir profité au miel d'Algérie le destinait aux Émirats Arabes Unis avec une valorisation de 44 \$/kg.

**Tableau 01** : Caractéristiques des exportations de miel par pays (PAP-ENPARD-Algérie, 2019)

| PAYS                 | ANNEE | QTE (kg) | VALEUR (Da) | Valeur (\$) | Valorisation \$/kg |
|----------------------|-------|----------|-------------|-------------|--------------------|
| ARABIE SEoudITE      | 2 013 | 126      | 128 693     | 1 621       | 13                 |
| EMIRAT S ARABES UNIS | 2 013 | 546      | 1 890 666   | 23 820      | 44                 |
| SUISSE               | 2 013 | 12       | 7 387       | 93          | 8                  |
| ETAS UNIS D'AMERIQUE | 2 015 | 29       | 6 265       | 62          | 2                  |
| ARABIE SEoudITE      | 2 017 | 710      | 89 990      | 811         | 1                  |
| LIBAN                | 2 017 | 25       | 21 960      | 198         | 8                  |
| MALASIE              | 2 017 | 137      | 44 847      | 404         | 3                  |
| CAMEROUN             | 2 018 | 53       | 57 072      | 497         | 9                  |
| MALASIE              | 2 018 | 26       | 10 896      | 95          | 4                  |
| SENEGAL              | 2 018 | 2 850    | 1 805 647   | 15 713      | 6                  |
| SUISSE               | 2 018 | 12 449   | 8 064 082   | 70 176      | 6                  |

La commercialisation des miels en Algérie se fait de plusieurs façon (En direct auprès d'un apiculteur reconnu, foires organisées localement, magasins d'apiculteurs, bien pourvus dans une diversité de miels, via un intermédiaire, de nombreuses personnes essaient de passer par un intermédiaire de confiance pour accéder à un apiculteur réputé , via des réseaux de vente bien organisés par certains gros apiculteurs, auprès des coopératives, via des circuits de petits commerçants qui vendent selon un flux régulier, mais assez faible, via les herboristes). Le réseau des grandes surfaces propose surtout des miels d'importation. Certains apiculteurs réalisent quelques analyses pour disposer d'un document prouvant la véracité de leur miel au moment de la vente.



## **Chapitre II : Caractérisation pollinique des miels**

### **II.1. Pollen**

#### **II.1.1. Définition**

Le pollen est l'élément sexuel mâle des plantes phanérogames ou plantes dont les organes de fructification portent des fleurs au cours d'une saison et à un moment donné de leur développement et se reproduisant par graines (Clément, 2009).

Pour la fécondation, le grain de pollen est déposé par des agents extérieurs comme le vent et les insectes sur le stigmate du pistil ou organe femelle et il émet alors un tube pollinique qui va aller jusqu'à l'ovule. L'abeille, grand agent de cette pollinisation, en passant de fleur en fleur, dépose des grains de pollen sur le pistil d'une autre fleur (Clément, 2011).

La récolte du pollen par l'abeille ouvrière qui va de fleur en fleur butiner le nectar, permet la fécondation des organes femelles des fleurs grâce à l'adaptation spécifique de ses pattes postérieures (Jean-Prost et Le Conte, 2005). En effet, l'abeille utilise la brosse à pollen située sur la face interne du métatarse pour récupérer le pollen dispersé sur son corps, puis le pousse et le tasse dans la corbeille à pollen située sur la face externe du tibia de la patte opposée. Un poil unique dans la corbeille sert de mât qui maintient la pelote de pollen. Une pelote pèse environ 6 milligrammes et l'abeille en transporte deux. Dans la ruche, le pollen est placé dans des alvéoles, avec la tête, par d'autres ouvrières. (Koechler, 2015).

Le pollen est parfois récolté par les apiculteurs à l'entrée des ruches. De petites trappes permettent de récupérer 10% du pollen présent sur les pattes des abeilles. Ces pelotes produites par les abeilles sont généralement composées du pollen de plusieurs fleurs.

#### **II.1.2. Structure d'un grain de pollen et sa fonction**

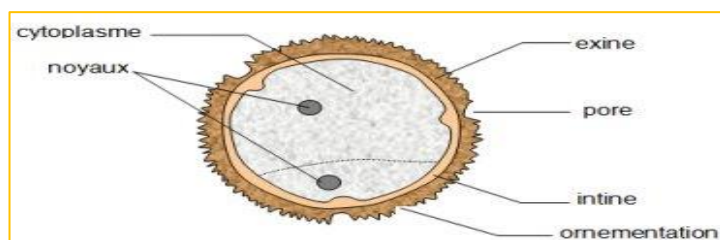
Un grain de pollen est formé par deux cellules non cloisonnées et possède donc deux noyaux haploïdes. L'un gros est végétatif, l'autre plus petit est génératif ou reproducteur. Le tout est recouvert d'un manteau sous forme de double enveloppe (Fig. 13). La première couche externe appelée « exine », parcourue de petits trous qui permettent lors de la reproduction, l'émission du tube pollinique conçu pour féconder l'ovule. Elle est constituée de sporopollénine, un des matériaux les plus résistants du monde organique, permettant la protection du grain de pollen contre le vent, le soleil, les U.V, la dessiccation et l'oxydation par l'air lors de son transport d'une fleur à une autre. L'exine comporte également certains constituants lipidiques et des glycoprotéines à propriétés agglutinantes permettant l'agglomération des pollens



entomogames. Une deuxième couche appelée « intine » mince et fragile, est constituée de cellulose. Cette couche disparaît rapidement à la mort du contenu cellulaire (Stanley et Linskens, 1974).

La fonction principale du pollen est la reproduction. Cette dernière est le transport du pollen de l'élément mâle, l'étamine, vers l'élément femelle de la fleur, le pistil. Lorsque le pollen féconde les ovules, ces derniers se transforment en graines et l'ovaire devient un fruit (Boukendour, 2011).

Le pollen peut avoir des couleurs très différentes suivant les fleurs qui sont butinées. Ces couleurs varient du jaune, orange et même rouge sang ou violet jusqu'aux verts ou même très sombres, presque noirs (Somme et al., 2013 ; Simenel et al., 2015). Si le microscope optique rend compte de sa forme et de son aspect général, le microscope électronique à balayage met en évidence l'ornementation des grains et son observation est plus détaillée. Pour les pollens d'origine inconnue, il faut se référer à une palynothèque (Boukendour, 2011).



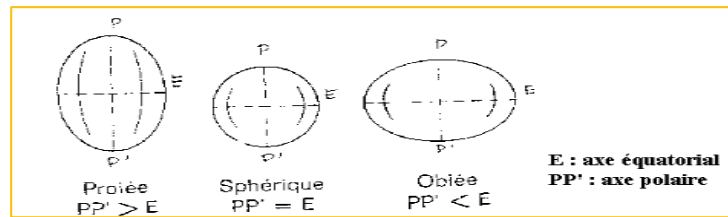
**Figure 13 :** Structure du grain de pollen (Nathalie, 2003)

### II.1.3. Identification du 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). Les pollens sont caractérisés par les scientifiques selon divers critères :

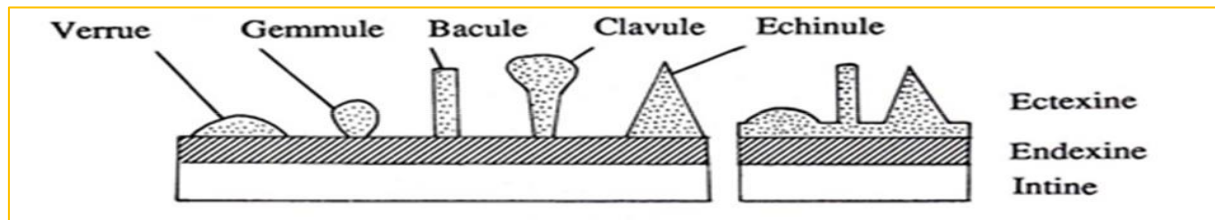
- La symétrie : selon deux plans (polaire ou équatorial), on distingue des symétries isopolaires ou hétéropolaires (Fig. 14).

- La forme : selon Reille (1990), elle est définie par la valeur du rapport existant entre les dimensions de l'axe polaire (P) et de l'axe équatorial (E) (Fig. 14). Lorsque :  $E = P$  : Le pollen est de forme sphérique.  $E < P$  : Le pollen est de forme longiaxe.  $E > P$  : Le pollen est de forme briviaxe.



**Figure 14** : Les différentes formes des grains de pollen (Guérin et Cour, 1993)

- La taille : variant de 2,5 à 300 microns. Toutes les tailles existent, la plupart se situant entre 30 et 40 microns.
- Les apertures : pore ou sillon ou association des deux ou encore absence d'apertures comme le mélèze par exemple. Le nombre d'apertures varie selon les espèces. Les pollens inaperturés sont des pollens ne présentant ni pore, ni sillon. Les pollens porés comportent de petites ouvertures circulaires (pores). Les pollens colpés comportent seulement une ouverture très allongée (sillon). Les pollens colpaporés comportent à la fois des pores et des sillons (Fig. 15 ; Fig. 16).
- L'aspect de la surface (ornementation de l'exine) : L'exine présente fréquemment des figures géométriques ou des traits qui permettent généralement une bonne identification, elle s'observe à 100X00.



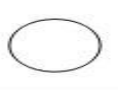
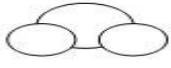
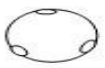
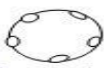
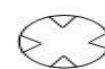
**Figure 15** : Ornementation du pollen (Reille, 1990)

#### II.1.4. Origine des pollens dans le miel

Tout miel produit dans des conditions naturelles contient toujours de petites quantités de pollen qui varient qualitativement et quantitativement en fonction de l'origine géographique et botanique des échantillons. Ces pollens proviennent des fleurs que l'abeille a visité (Maurizio et Louveaux, 1970). L'accès au nectar met obligatoirement les butineuses en contact direct avec les étamines, lesquelles perdent une partie de leur pollen qui est capturé par la pilosité de l'abeille (Braun et al., 2012). 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).



Il existe toutefois 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 (Morais et al., 2011).

|                                        |                                                                                                         |                                                                                                             |                                                                                   |                                                                                                         |                                                                                                              |                                                                                     |           |  |  |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--|--|
| POLLENS<br>SIMPLES                     |                        |                            |                                                                                   |                                                                                                         |                                                                                                              |                                                                                     |           |  |  |
|                                        | inaperturé                                                                                              | Pollens à ballonnets                                                                                        |                                                                                   |                                                                                                         |                                                                                                              |                                                                                     |           |  |  |
| POLLENS<br>AVEC<br>PORES               |                        |                            |  | <br><i>Vue polaire</i> | <br><i>Vue équatorial</i> |  |           |  |  |
|                                        | monoporé                                                                                                | diporé                                                                                                      | triporé                                                                           | stéphanoporé                                                                                            |                                                                                                              | périporé                                                                            |           |  |  |
| POLLENS<br>AVEC<br>SILLONS             |                        |                            |  |                        |                           |  |           |  |  |
|                                        | monocolpé                                                                                               | dicolpé                                                                                                     | tricolpé                                                                          |                                                                                                         | tétracolpé                                                                                                   | pentacolpé                                                                          | péricolpé |  |  |
| POLLENS<br>AVEC<br>PORES ET<br>SILLONS | <br><i>Vue polaire</i> | <br><i>Vue équatoriale</i> |  |                        |                           |                                                                                     |           |  |  |
|                                        | tricolporé                                                                                              |                                                                                                             | stéphanocolporé                                                                   |                                                                                                         | péricolporé                                                                                                  |                                                                                     |           |  |  |
| GRAINS<br>MULTIPLES                    |                      |                          |                                                                                   |                                                                                                         |                                                                                                              |                                                                                     |           |  |  |
|                                        | Polyade                                                                                                 | tétrade                                                                                                     |                                                                                   |                                                                                                         |                                                                                                              |                                                                                     |           |  |  |

**Figure 16** : Représentation schématique des différents types polliniques d'Angiospermes d'après le nombre et la disposition des ouvertures (Renault-Miskovsky et Marguerie, 1992).

## II.2. Plantes mellifères

La désignation de plante mellifère est attribuée à toutes les plantes qui produisent le nectar ou permettent la fabrication du miellat. Nectar et miellat étant ensuite récoltés par les butineuses puis transformés en miel. Par extension, le terme désigne également les plantes utiles aux abeilles et exploitables en apiculture, c'est-à-dire, les plantes qui fournissent aussi le pollen et la propolis (Marchenay et Berard, 2007). Selon 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.

Selon Rabiet (1984), les plantes mellifères sont classées en fonction leurs valeur apicole en trois catégories :

- Les plantes mixtes : celles sur lesquelles les abeilles butinent nectar et pollen à la fois, c'est le cas de la majorité des arbres fruitiers (Abricotier, Pommier, Poirier, Prunier).





- Les plantes nectarifères : celles qui produisent du nectar grâce à des organes spéciaux, les nectaires.
- Les plantes pollinifères : Ce sont les plantes sur lesquelles les abeilles butinent uniquement du pollen comme par exemples coquelicots (*Papaver rhoeas*), l'olivier (*Olea europaea*), hélianthèmes.

L'Algérie est réputée pour sa flore riche et diversifiée résultant des cinq étages bioclimatiques (humide, subhumide, semi-aride, aride et saharien) et compte environ 3.139 espèces végétales (Quezel et Santa, 1962). De nombreuses études scientifiques ont été réalisées sur les plantes mellifères algériennes. Toutefois il est à noter qu'aucun inventaire de la flore mellifère n'a été entrepris au niveau national. Parmi les espèces mellifères algériennes les plus abondantes, il y a celles qui forment la flore spontanée (Berkani, 2007). Elle est représentée principalement par la bruyère rose (*Erica multiflora* L.), l'arbousier (*Arbustus unedo* L.), la lavande (*Lavandula stoechas* L.), le romarin (*Romarinus officinalis* L.), de nombreuses variétés de thym, d'asphodèles (*Astragalus monospuilanus* L.) que l'on trouve dans les montagnes, l'Euphorbe (*Euphorbia nicaeensis*), la marrube vulgaire (*Marrubium vulgare* L.) que l'on trouve dans les massifs de l'Aurès et le thuya (*Calitriche articulata*), l'oxalis (*Oxalis cernua* th), les ravenelles (*Sinapis*, *diplotaxis*, *Sisymbrium*, *rapistrum*, *raphanus*, etc.), la bourrache (*Borrigo affinalis*), les vipérine *Eechium*), les chardons (*Onopordon*, *Silybum marianum*) que l'on trouve dans les plaines, mais aussi le sainfoin (*Hedysarum flexuosum* L. et *H coronarium*) dans les régions pré-montagneuses. Ensuite, les espèces qui forment la flore cultivée sont représentées principalement par les agrumes (*Citrus*), les rosacées de verger, le néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* L.), les fourrages artificiels tels que la luzerne et le trèfle d'Alexandrie, ainsi que les plantes de grandes cultures comme la lentille (Berkani, 2007). Et enfin, la flore subspontanée, présentée principalement par l'*Eucalyptus* des zones du littorale (Berkani, 2007).

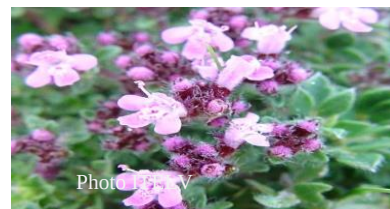
La figure 17 montre quelques plantes mellifères trouvées en Algérie.



La lavande (*lavandula angustifolia*.)  
Floraison : de juin à aout, N\*\*\*\*



Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)  
Floraison : Janvier-avril- juillet-octobre



Thym (*Thymus serpyllum*), P\* N\*\*\*\*  
Floraison : de juin à aout



La bourrache (*barrogo officinalis*),  
Floraison : de Juin à aout, p\* N\*\*\*\*



Luzerne (*Medicago Sativa*) Floraison :  
de Juin à Octobre, P\* N\*\*\*



Les agrumes (*Citrus* Sp), P\* N\*\*  
Floraison : de janvier à décembre



Carotte sauvage (*Daucus carota*),  
N\*\*, Floraison : de Avril à Aout



Jujubier (*Zizyphus lotus*). Floraison :  
Avril-juillet



Eucalyptus, P\*\*\*, N\*  
Floraison : de Mars à Novembre



Grenadier (*Punica granatum*), N\*:  
P\*, Floraison : de Mai 'à Aout



Asphodèles (*Astragalus monospuilanus*)  
Floraison : de Mars à Septembre,



L'arbousier (*Arbustus unedo* L),  
Floraison : d'Octobre à Décembre  
p\*\*\*, N\*\*\*



Chardon marie (*Silybum marianum*)  
Floraison : de Juin à Aout



Fenouil, (*Foeniculum vulgare*), N\*\*,  
Floraison : de Avril à Juin



Figuier de barbarie (*Opuntia ficus*): Floraison : de Mais à  
Septembre p\*\*, N\*\*

**P : potentiel pollinifère, N potentiel nectarifère, \* : Faible, \*\* : moyen, \*\*\* : Fort**

**Figure 17 : Plantes mellifères présentes en Algérie**



### II.3. Différents types de miels selon leurs origines botaniques

Dans la catégorie des miels produits à partir de nectars deux groupes se distinguent ; les miels monofloraux et les miels polyfloraux.

Les miels monofloraux, appelés aussi miels de cru sont essentiellement produits à partir du nectar d'une seule espèce végétale (Clément, 2002). Cela nécessite, bien sûr, d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. Ce type de miels présentent des caractéristiques palynologiques, organoleptiques et physicochimiques spécifiques. (Bogdanov et al., 2003). En Algérie, les principaux miels monofloraux produits sont ceux d'agrumes, d'*Eucalyptus gonfocéphala*, d'*Eucalyptus camaldulensis*, de jujubier, d'euphorbe, de lavande, de romarin, d'arbousier, de thym, de carotte sauvage, de caroubier, de harmel, de sainfoin, de luzerne, de chardon béni, de sulla, de bruyère, de lavande, d'asphodèle, de ravenelle, d'atractylis, de *Retama*, de moutarde, de chardon, de carvi, de *Tamarix*, de trèfle, d'anis vert, de vipérine, d'arbousier, de bourrache, de néflier, de *férule*, de *thapsia*, de vesce, de bruyère blanche, de caroubier, de chêne vert, de moutarde (PAP-ENPARD-Algérie, 2019)

Parmi les grands crus, le plus souvent important de l'étranger sont cités les miels d'acacia, de callune, de tilleul, de châtaignier, etc... Ils sont bien caractérisés et produits en quantités non négligeables.

Les miels polyfloraux, aussi « *miels toutes fleurs* » sont élaborés à partir du nectar provenant de plusieurs espèces végétales (Clément, 2002). Ils représentent la majorité de la production algérienne. Il est courant que les abeilles visitent à la fois une dizaine ou une vingtaine d'espèces végétales fleurissant en même temps dans leur secteur de butinage. Le nectar rapporté à la ruche provient de sources multiples. Il en résulte que les miels récoltés par l'apiculteur sont polyfloraux (Bonte et Desmouliere, 2013). Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent l'origine géographique. Celle-ci indique soit l'aire de production (région, département, massif...), ou bien un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (montagne, maquis, forêt...etc). L'indication des miels polyfloraux peut être aussi suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) comme le préconise (Donadieu, 1984).

Dans la catégorie des miels de miellats la dénomination est généralement en fonction de l'origine botanique du miellat de la plante. L'abeille récolte le miellat sur les arbres de conifères (sapins, épicéas...) ou les arbres à feuille caduque (chênes, tilleuls...). Le plus souvent ce miel est appelé miel de forêt. À ce jour, un seul miel de miellat est commercialisé sous le nom d'un





insecte : *Metcalfa pruinosa*. Cette cicadelle, d'origine américaine, a été introduite en Europe à la fin des années 1970 ; elle est maintenant très répandue en Italie, en Slovénie et en France (Persano-Oddo et al., 2004a, 2004b). La période de récolte du miellat, par les abeilles s'étend de la fin printemps à la fin de l'été voir jusqu'à octobre. Mais c'est une récolte aléatoire. Les facteurs climatiques sont très importants. Une forte pluie peut éliminer en quelques heures les pucerons et le miellat. Le tableau 2 montre les principales différences entre le miel de miellat et celui du nectar.

**Tableau 2 :** Les différences entre miel de nectar et miel de miellat (teneurs moyennes)  
(Boulaaba, 2019)

|                                                   | MIEL DE MIELLAT | MIEL DE NECTAR             |
|---------------------------------------------------|-----------------|----------------------------|
| Acidité                                           | 33 méq/kg       | 22,4 méq/kg <sup>(1)</sup> |
| pH                                                | 4,5             | 3,9                        |
| Minéraux (cendres)                                | 0,58%           | 0,26%                      |
| Fructose + glucose                                | 61,6%           | 74%                        |
| <b>Autres sucres<br/>(en % des sucres totaux)</b> |                 |                            |
| Mélézitose                                        | 8,6             | 0,2                        |
| Raffinose                                         | 0,84            | 0,03                       |
| Maltose + isomaltose                              | 9,6             | 7,8                        |

(1) Méq = milli-équivalent

Par ailleurs, les miels peuvent également être classés selon leurs modes de récolte (miel en rayon, miel vierge, miel coulé, miel pressé, miel jeune (Draiaia, 2016).

Afin de découvrir l'origine botanique et géographique des miels, il est nécessaire d'avoir recours à la détermination de ses grains de pollen, c'est ce qu'on appelle la « Méliissopalynologie ».

#### II.4. Analyse pollinique des miels

Aussi appelé « Méliissopalynologie », cette discipline vise à identifier et à compter au microscope les différents éléments figurés, présents dans les sédiments du miel obtenus par centrifugation principalement les grains de pollen, mais également d'autres éléments tels que les éléments indicateurs de miellat (HE), les levures (indicatrices d'une éventuelle fermentation et de l'état de conservation des miels), de spores fongiques, ainsi que d'autres éléments tel que l'amidon (Yang, 2014).



Deux types d'analyses sont appliqués dans la Méliissopalynologie

#### II.4.1. L'analyse pollinique qualitative

Elle consiste à mesurer le nombre de grains de pollen du taxon considéré par rapport au nombre total de grains de pollen dans l'échantillon. Cette analyse présente plusieurs intérêts. Sur le plan de la qualité des miels elle permet d'obtenir les empreintes de la végétation dans laquelle le miel était produit et donc d'identifier et/ou confirmer l'origine botanique des miels. De plus, l'observation de la totalité des pollens du spectre pollinique permet de reconnaître les spécificités de la végétation du lieu de production (proportions, associations et particularités biogéographiques des taxons présents) ce qui pourrait aboutir à des appellations par des signes distinctifs selon leurs typicités ou bien à une éventuelle labélisation donnant ainsi une meilleure visibilité des miels algériens au niveau internationale. Par ailleurs, l'analyse pollinique qualitative présente un intérêt sur le plan de la biodiversité puisqu'elle permet de renseigner sur la répartition et l'intensité des plantes à intérêt apicole dans les différentes zones. D'autant plus qu'aucun inventaire n'existe à ce jour concernant les répartitions des flores mellifères selon les régions malgré les différentes recherches fragmentées qui ont été réalisées sur ce sujet. Il est généralement recommandé de compter jusqu'à 500 grains de pollen. Selon [Louveaux et al. \(1970\)](#), les taxons identifiés sont regroupés en classes de fréquences des grains de pollen (pollens dominants, pollens d'accompagnement, pollens isolés importants, pollens isolés rares).

Les connaissances sur la notion « type de représentation » des pollens est aussi nécessaire pour interpréter les résultats. Dans la majorité des cas, un miel est considéré comme étant monofloral lorsque le nombre de pollens dominants provenant d'une espèce de fleur est supérieur ou égal à 45%, cependant le rapport pollen / nectar varie considérablement entre les différentes espèces végétales. Certaines formes de pollen sont sur-représentées, c'est le cas, par exemple, des miels monofloraux de châtaignier (*Castanea sativa*) et d'eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) qui présentent un spectre pollinique dans lequel la fréquence relative du pollen de l'espèce correspondante est très élevée, supérieure à 80%, voire 90%, alors que d'autres sont sous-représentées, dans ce cas-là le miel peut être considéré comme monofloral alors que la fréquence relative de l'espèce considérée est peu élevée, souvent de l'ordre de 10% à 30%, voire inférieure à 5%. Il s'agit notamment des miels d'arbousier (*Arbutus unedo*), d'agrumes (*Citrus* sp.), de pissenlit (*Taraxacum* sp.) et -de tilleul (*Tilia* sp.). Ces différents types de représentation pollinique sont en relation étroite avec la morphologie de la plante, la physiologie de l'abeille, l'action de la butineuse et la taille du grain de pollen ([Louveaux, 1968](#)).



#### II.4.2. Analyse pollinique quantitative

Consiste à compter à l'aide d'un microscope optique le nombre total d'éléments présents dans le sédiment d'un volume connu d'une dilution de miel. Cette analyse permet de connaître la variation de la richesse en pollen ce qui a conduit [Maurizio en 1939](#) à classer les miels selon leur richesse en pollen en 4 classes de miels, 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).

Elle permet aussi de donner des informations sur une éventuelle falsification, la présence de particules étrangères. La mesure du volume de culot de centrifugation permet d'obtenir des informations sur le mode de récolte, d'extraction (les miels pressés ont une quantité de pollen supérieure à celle du miel centrifugé et le degré de filtration du miel. Par ailleurs, l'analyse quantitative permet le dénombrement des éléments de miellat présent dans les miels et calculer le rapport E.M / Pollen utilisé pour quantifier la contribution du miellat au miel.

#### II.5. Inconvénient de la méliissopalynologie

La méliissopalynologie présente des limites d'application pour la détermination de l'origine botanique des miels ([Molan, 1998](#)). Ainsi, il est difficile de déterminer l'origine botanique de certains miels produits à partir de nectaires extrafloraux comme le coton (*Gossypium hirsutum*), le ricin (*Ricinus communis*) et l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) selon [Molan \(1998\)](#). De même, il est difficile de différencier les miels de Manuka (*Leptospermum scoparium*) et de Kanuka (*Kunzea ericoides*) car les deux espèces ont des grains de pollen similaires ([Stephens et al., 2010](#)).

#### II.6. Méthodes utilisées en méliissopalynologie

Depuis les travaux fondamentaux de [Zander \(1935, 1942, 1951\)](#), un grand nombre d'examen microscopiques de miels ont été faits dans beaucoup de pays. Deux méthodes d'analyse pollinique de miels sont généralement utilisées :

##### II.6.1. La méthode classique

La technique d'extraction et de montage des pollens a été codifiée par la Commission Internationale de Botanique Apicole sous la forme suivante : 10 g de miel sont mis en solution dans l'eau chaude (< 40°C) et centrifugée à 3000 tours /minute pendant 10 minutes. Le culot





de centrifugation est prélevé, déposé sur une lame, séché, inclus dans la gélatine et recouvert d'une lamelle. (Maurizio et Louveaux, 1970). D'après Louveaux (1968), les préparations obtenues présentent très souvent deux défauts, le premier est qu'elles manquent de clarté, ce qui rend plus difficiles les observations, et le deuxième est qu'elles se conservent mal.

### **II.6.2. La méthode de l'Acétolyse**

Jusqu'en 1970, la Commission Internationale de Botanique Apicole de l'U.I.S.B, ne mentionne pas l'acétolyse du miel parmi les méthodes de Méliissopalynologie :

L'acétolyse seule, permet par la clarification des structures de la paroi pollinique qu'elle opère, une observation assez fine permettant la détermination des formes polliniques et l'identification des taxons inconnus et douteux (Loublier et al., 1994). Ce type de traitement permet une bonne conservation des préparations (Belaid, 1998). La méthode de l'acétolyse peut être divisée en 3 étapes, la première est la déshydratation du matériel par l'acide acétique pur, la deuxième est le traitement au bain-marie du matériel dans un mélange des parties d'anhydride acétique et d'une partie d'acide sulfurique et la troisième étape est le lavage multiple par centrifugation.

### **II.7. Les appellations d'origine et produits du terroir (labélisation)**

La certification du miel par des signes distinctifs de qualité « AOP » et « IGP » est le meilleur moyen de valorisation des produits de terroir et des produits locaux, car elle permet de garantir leur qualité, de sauvegarder leur typicité et lutter contre toute usurpation commerciale. Elle donne une réputation pour le produit et son origine de production, rassure le consommateur par sa confiance sur la qualité des produits. L'appellation d'origine protégée (AOP) désigne la dénomination d'un produit dont la production, la transformation et l'élaboration doivent avoir lieu dans une aire géographique déterminée, avec un savoir-faire reconnu et constaté. Dans le cas de l'indication géographique protégée (IGP), le lien avec le terroir demeure, à un des trois stades au moins de celui de la production, de la transformation ou de l'élaboration, et le produit peut jouir d'une grande réputation. Il existe dans l'UE 8 désignation IGP enregistrées pour les miels et 25 AOP. Ces deux labels sont la désignation de niveau le plus élevé pour les produits de haute qualité et sont représentés par des logos sur les étiquettes des produits (Fig.18 ; Fig.19).

**Figure 18** Logo : appellation d'origine protégée**Figure 19** Logo : indication géographique protégée

Ces miels certifiés doivent répondre à un cahier de charge spécifique et préalablement établi. La méliissopalynologie est à cet effet un outil essentiel et très utile pour la certification ou la labélisation des miels. Par exemple, dans l'IGP miel de Galicia, produit dans le nord-ouest de l'Espagne, le règlement appliqué à cette désignation indique comme exigences spécifiques un pourcentage minimal de certains types de pollens. De même, une AOP a été établie pour le miel d'Alcarria (Espagne). Les principaux miels monofloraux proviennent de *Lavandula latifolia* ou de *Rosmarinus* et la présence de certains types de pollen ou l'absence d'autres caractérisent ces miels. Le Maroc dispose de trois miels labellisés IGP à ce jour qui sont le « miel d'Euphorbe Tadla-Azilal », le « miel d'arbousier Jbal Moulay Abdessalam » et le « miel d'Euphorbe du Sahara ». Malgré la loi d'orientation agricole du 3 août 2008 qui stipule la mise en place d'un comité national de labellisation de produits agricoles, l'Algérie enregistre un retard flagrant en termes de certification puisque à ce jour aucun miel ne bénéficie d'une labélisation. Cependant, ces dernières années, des démarches de valorisation par l'indication géographique et appellation d'origine se mettent en place, notamment pour la labélisation du miel des orangers de la Mitidja mais également le miel de thym de Tlemcen ([PAP-ENPARD Algérie, 2019](#)).



## **Chapitre III. Caractérisation physicochimique des miels**

### **III.1. Composition chimique du miel**

La composition du miel est très complexe et variable. Elle est influencée par plusieurs facteurs comprenant l'espèce végétale butinée, la nature du sol, la race de l'abeille, l'état physiologique de la colonie, les conditions environnementales et les techniques pratiquées par les apiculteurs (Jean-Prost et Medori, 2005). Plus de 200 substances ont été identifiées dans le miel (Raeessi et al., 2013).

Les hydrates de carbone constituent la partie la plus importante dont le pourcentage représente en moyenne 78 à 80%. Une quinzaine de sucres différents ont été identifiés dans les miels par les méthodes chromatographiques, mais ils ne sont jamais tous présents simultanément. Parmi eux, on distingue :

- Des monosaccharides avec en moyenne 31% de glucose et 38% de fructose ; ce sont les deux principaux sucres du miel.
- Des disaccharides comme le maltose (7,3%) et le saccharose (1,3%).
- Des tri et polysaccharides qui représentent 1,5 à 8% (erlose, raffinose, mélézitoze, kojibiose, dextrantriose, mélibiose, etc..).

La présence de glucose et de fructose est le résultat de l'action d'une enzyme sur le saccharose : l'invertase. La présence des autres sucres semble dépendre des plantes butinées.

Le fructose est le sucre le plus présent quantitativement, suivi de près par le glucose. Le saccharose est normalement très peu présent à l'exception de certains miels, comme celui de la lavande ou du pissenlit, pour lesquels la teneur en saccharose est d'autant plus élevée que la miellée a été intense. Les autres disaccharides et sucres supérieurs sont présents en faibles quantités. Le tableau 03 indique les teneurs en sucres dans le miel de nectar et de miellat.

L'eau est présente dans le miel en quantité non négligeable puisque sa teneur moyenne est de 17,2%. Mais, comme le miel est un produit biologique, cette valeur peut varier de manière significative. En fait, les abeilles operculent les alvéoles lorsque la teneur en eau avoisine les 18%. Il est rapporté que certains aspects de l'eau contenue dans le miel restent un mystère



puisque [Helvey \(1953\)](#) a observé que la proportion en deutérium de l'eau du miel est sensiblement plus élevée que celle de l'eau ordinaire.

**Tableau 03** : Teneurs en sucres des miels ([Bessas, 2008](#))

| Sucres     | Miel de nectar (%) | Miel de miellat (%) | Sucres                 | Miel de nectar (%) | Miel de miellat (%) |
|------------|--------------------|---------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
| Fructose   | 32,5-45,2          | 28,3 - 39,8         | Disaccharides          | 1,1-5,5            | 0,5-5               |
| Glucose    | 24,3-39,9          | 19 - 31,5           | Mélézitose + raffinose | 0,1-1,1            | 1,1-23,5            |
| Saccharose | 0,05-6,2           | 0,05 – 1,0          | Maltotriose            | 0,1-4              | 0,1-1,3             |
| Maltose    | 0,1-2,3            | 0,5 - 2,5           | Oligo-saccharides      | 1-3                | 1-3                 |
| Turanose   | 0,8-2,9            | 0,5-2,5             | Isomaltose             | 0,2-2,2            | 0,1-10,8            |
| Tréhalose  | 0,05-1,5           | 0,1-2,4             | Total                  | 61,5-82,5          | 60,5-81,0           |

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

Le miel est un aliment qui apporte de nombreux oligo-éléments indispensables à la santé humaine. Suivant leurs origines florales, les miels présentent des concentrations variables en oligo-éléments. Il est intéressant de constater que des miels de différentes saisons et de différentes origines géographiques se complètent. Ainsi, une consommation variée tout au long de l'année assure des apports intéressants en oligo-éléments. Le potassium, le phosphore, le calcium, le soufre, le magnésium, le manganèse, le silicium, le bore, le fer, le zinc, le cuivre et le baryum sont retrouvés en plus ou moins grande quantité dans le miel.

De nombreuses enzymes existent dans le miel : l'invertase, l' $\alpha$ -amylase, la  $\beta$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase, la glucose oxydase, la catalase et la phosphatase. Elles proviennent soit des nectars (origine végétale), soit des sécrétions salivaires des abeilles (origine animale). L'invertase est responsable de l'hydrolyse des disaccharides. Les amylases transforment l'amidon en glucose. La glucose-oxydase donne de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène à partir du glucose. Ces enzymes étant thermolabiles, leur présence ou leur absence peut servir d'indicateur de surchauffe du miel qui peut également réduire l'activité de la glucose-oxydase ([White et Subers, 1964](#)).



Le miel contient peu de vitamines. On y trouve essentiellement des vitamines du groupe B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub> et B<sub>5</sub>). Parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, K et D. Il contient également des pigments comme les caroténoïdes et les flavonoïdes, intéressants sur le plan nutritionnel, et des grains de pollens, signe d'un miel de qualité.

Le miel contient des substances aromatiques qui lui donnent une senteur particulière et qui jouent un rôle dans ses vertus thérapeutiques. Une cinquantaine de ces substances ont été mises en évidence et permettent d'étudier leur origine, qui le plus souvent provient de la plante. Ce sont en général des mélanges de plusieurs dizaines de composés (alcools, cétones, acides, quinones, aldéhydes). Il contient également des substances antibiotiques naturelles appelées inhibines, des bactériostatiques comme l'eau oxygénée, des résidus de médicaments, comme le chloramphénicol, la tétracycline, le sulfatiazol servant à la base au traitement de la colonie peuvent être également présents. Il peut aussi contenir d'autres polluants comme le plomb ou le cadmium, mais présents en de très faibles quantités.

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.

### III.2. Propriétés physicochimiques des miels

Le miel présente, selon l'origine de la plante à partir de laquelle il a été élaboré et selon la composition de ses sucres, des caractéristiques physicochimiques particulières.

#### a. Viscosité

Elle varie en fonction de la température, de la teneur en eau et de la composition chimique du miel. Par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, agitation, composition chimique), entraînant alors une modification complète de son aspect, mais sans modifier sa composition ([Donadieu, 2008](#)). A 35°C, tous les miels sont fluides. Certains sont thixotropes (c'est à-dire que ces miels lorsqu'on les agite, ils deviennent liquides mais reprennent leur viscosité première après repos) comme ceux d'Erica et surtout de Calluna ([Clémence, 2005](#)).

#### b. Activité de l'eau (aw)

Les valeurs aw du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l'aw 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, elle n'est que rarement déterminé ([Bogdanov et al., 2003](#)).



#### c. Abaissement du point de congélation

Il dépend de la teneur en sucres. Il serait 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% ([Huchet et al., 1996](#)).

#### d. Hygroscopicité

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, le fructose a un grand pouvoir hygroscopique. Ainsi, un miel contenant 18% d'eau peut contenir au bout de trois mois 55% d'eau si on le laisse en atmosphère humide ([Huchet et al., 1996](#)).

#### e. Densité

C'est le rapport de la masse d'un volume de miel avec la masse du même volume d'eau. Elle se détermine au pèse sirop ou au densimètre. La valeur moyenne de la densité du miel est de 1,4225 à 20°C.

#### f. Solubilité

Le miel est soluble dans l'eau et dans l'alcool dilué, mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme et le benzène ([www.01santé.com](http://www.01santé.com)).

#### g. Coloration

La couleur du miel tend du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé en passant par toutes les gammes de jaune, d'orange, de marron et même parfois de vert. Si le nectar ou le miellat n'ont pas de pigments, les miels liquides seront incolores et les miels cristallisés seront blancs (exemple du miel de colza). Dans le cas contraire, la palette de couleur est très large. Les miels de lavande et de tilleul sont ivoires, les miels de tournesol et de pissenlit sont jaune intense, les miels de châtaigner, de bruyère et de miellat sont bruns.

### III.3. Qualité du miel

#### III.3.1. Contrôles de qualité des miels

L'évaluation de la qualité du miel passe essentiellement par la vérification de son authenticité ainsi que l'estimation de sa maturité et sa fraîcheur. Ainsi, afin d'offrir au consommateur un produit de qualité, le [Codex Alimentarius \(2001\)](#) et le Journal Officiel de la [Communauté Européenne \(2002\)](#) ont établi des limites pour certains paramètres physicochimiques du miel ([Tab. 04](#)). Ces paramètres complètent également le processus de reconnaissance de l'origine botanique du miel. En Algérie, devant le vide juridique dans ce domaine, les normes établies par le codex alimentaire sont appliquées ([Codex Alimentarius](#),





2001). Plusieurs techniques ont été mises au point pour l'analyse de ces paramètres. En effet, afin d'éviter des divergences de résultat entre les laboratoires, une harmonisation de la plupart de ces méthodes d'analyse a été publiée, par la [Commission Européenne du Miel en 1997](#), dans un numéro spécial de la revue *Apidologie* ([Bogdanov et al. 1997](#)). Les principaux paramètres physicochimiques permettant de contrôler la qualité des miels sont :

- Teneur en eau :

La mesure du taux d'humidité permet l'estimation du degré de maturité des miels. Les teneurs en eau élevées sont l'indicateur d'une récolte trop précoce et d'un climat humide ([Bogdanov et al., 2004a](#)). Ce paramètre renseigne également sur sa stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours du stockage ([De Rodriguez et al., 2004](#) ; [Küçük et al., 2007](#)). A l'exception de certains miels, les normes légales admettent une teneur en eau maximale de 20%, mais seuls les miels dont l'humidité est inférieure à 18% se conservent correctement. L'excès d'humidité favorise la fermentation du produit et provoque un goût désagréable d'alcool de prune. Les miels avec une teneur en eau de 15 à 18% ont une bonne cristallisation, ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement. Selon [Bogdanov et al., 1995](#), la méthode de réfractométrie s'est imposée pour déterminer ce paramètre de par sa commodité et son coût.

- Taux d'HFM :

L'Hydroxy Méthyle Furfural est un paramètre relatif à la qualité du miel et constitue un bon indicateur pour la fraîcheur et le surchauffage du miel. Ainsi, un miel naturel, qui n'a subi aucun traitement thermique particulier, ne contient pas plus de 5 mg/kg d'HFM. Cependant, sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH du miel et de la température du stockage. Dans le commerce international, un taux maximal de 40 mg/kg s'est révélé acceptable. La proposition du Codex prévoit un taux maximal de 60 mg/kg. Cette proposition plus élevée se base sur le fait que, dans les pays chauds, la teneur en HMF du miel augmente plus rapidement avec la durée du stockage. D'après [Bogdanov et al. \(1997\)](#), trois méthodes peuvent être utilisées pour déterminer la teneur en HMF d'un miel : les techniques spectrophotométriques de [White \(1979\)](#) au Bisulfite et de [Winkler \(1955\)](#) à l'acide tiobarbiturique et de *p*-toluidine, et la technique par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Par ailleurs la méthode de Winkler est très critiquée en raison de l'utilisation de paratoluidine, qui est cancérigène ([Shapla et al., 2018](#)). Bien que la méthode HPLC soit relativement plus coûteuse, elle demeure néanmoins la plus appropriée et la plus fiable ([Zappal et al., 2005](#)).



- Indice diastasique :

Il est représentatif de l'activité enzymatique de l'amylase, dont la valeur, malgré une variabilité naturelle, traduit la dégradation des enzymes naturelles du miel. Avec le vieillissement du miel, la teneur en diastases diminue progressivement et tend vers zéro (Louveaux, 1968). La destruction des diastases est fortement accélérée par l'élévation de la température. L'activité diastasique et en particulier celle de l'amylase est susceptible d'apporter de précieux renseignements sur l'état de fraîcheur d'un miel ou sur les dégradations éventuellement subies lors d'un excès de chauffage notamment. Deux techniques sont généralement utilisées : la méthode de Schade (1958) par l'utilisation de l'amidon comme substrat et la technique de Phadebas (Bern, 1995) par l'utilisation d'un substrat artificiel. Légalement, le miel ne doit pas être chauffé au point que les enzymes naturelles soient détruites ou considérablement inactivées. L'indice diastasique d'un miel doit être supérieur à 8 dans l'échelle de Schade, à l'exception des miels destinés à l'industrie. Pour les miels ayant une faible teneur naturelle en enzymes et une teneur en HMF inférieure à 15 mg/kg, (miel d'acacia (*Robinia*), d'oranger (*Citrus*), de pissenlit (*Taraxacum*), de bruyère (*Erica*) et d'arbousier (*Arbutus*)), légalement l'indice diastasique doit être supérieur à 3 dans l'échelle de Schade. Cette faible teneur est principalement due à leur origine botanique. Les miels de sainfoin d'Espagne (*Hedysarum*), de miellat, d'*Eucalyptus*, de châtaignier (*Castanea*) et de thym (*Thymus*) ont un indice diastasique naturellement élevé (Persano-Oddo et al., 1990).

- Activité de l'invertase (ou saccharase) :

Intervient dans l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose. L'invertase ou saccharase est aussi une enzyme digestive de l'abeille.

- Conductivité électrique :

C'est l'aptitude des miels à permettre le passage du courant électrique. Elle permet d'établir l'origine botanique et distinguer ceux qui sont de nectar de ceux qui sont de miellat.

- pH et acidité :

Ces paramètres influencent la stabilité du miel et ses conditions de conservation. Ils nous donnent également des informations sur son origine. L'acidité est un critère de qualité important. La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité. L'ancienne norme prescrit une valeur maximale de 40 milliéquivalents/kg. Dans le projet du Codex Alimentarius, elle a été augmentée à 50 milliéquivalents/kg, étant donné qu'il existe quelques sortes de miels qui ont une teneur naturelle en acide plus élevée (Horn et Lullmann, 1992). Le pH caractérise



l'acidité ou la basicité d'un produit (le miel est toujours acide). Il influence fortement la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes ; elle est plus rapide pour un pH faible (3,5-4,0) que pour un pH élevé (4,0-5,0). Le pH se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar et entre 4,5 et 5,5 pour un miel de miellat. Les miels acides se dégradent rapidement.

- Conductivité électrique

Ce paramètre permet de distinguer aisément des miels de miellat de ceux des fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (Huchet et al., 1996). Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée. Les miels de nectar à l'exception des *Banksia*, *Erika*, *Eucalyptus*, *Eucryphia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Tilia* et les mélanges du miel de nectar et de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm. Les miels de miellat et le miel de châtaignier ont une conductivité supérieure à 0,8 mS/cm (Bogdanov et al., 2001).

- Teneur en sucres

Les sucres du miel influencent sa viscosité, son hygroscopie, sa vitesse de cristallisation et la stabilité de sa structure. Les miels contiennent au minimum six sucres (fructose, glucose, saccharose, maltose, isomaltose et turanose) (Avisse, 2014). Les laboratoires utilisent généralement des techniques chromatographiques (sur couche mince, chromatographie liquide à haute performance, chromatographie en phase gazeuse) ou spectroscopiques (UV-visible ou infrarouge) pour réaliser le dosage des sucres dans le miel. Les critères de qualité du miel en ce qui concerne les sucres sont d'une part la quantité totale de glucose et fructose, d'autre part, la teneur en saccharose. D'autres sucres tels que l'isomaltose, l'erlose, le mélézitose, le tréhalose, le raffinose, le palatinose, le mélibiose, le nigérose, le turanose, le kojibiose, etc. peuvent être détectés. La quantité et la nature des sucres présents dans le miel sont influencées par les enzymes de l'abeille et de la nature des plantes mellifères dont il est issu. De plus, le dosage des sucres et les rapports glucose/eau et fructose/glucose sont nécessaires pour préciser le potentiel de cristallisation du miel (Deschamps, 1998). La teneur en mélézitose est plus élevée dans les miels de miellat que dans les miels de nectar (Deschamps, 1998). Le spectre des sucres représente une grande importance dans la détection des fraudes (Cotte et al., 2003 ; Cordella 2003).

- Teneur en matières insolubles

La détection des matières insolubles est un critère fort pertinent pour détecter les impuretés présentes dans le miel en quantité supérieure au seuil autorisé sur le plan réglementaire. Elles sont identifiées après plusieurs étapes de dessiccation et de filtrations successives, et sont



exprimées en grammes de matière insoluble pour 100 grammes de miel (Bogdanov et al., 1997). Le seuil autorisé est de 0,1 g/100 g de miel, exception faite du miel pressé qui peut en contenir jusqu'à 0,5 g/100 g de miel (Codex Alimentarius, 2001).

**Tableau 04 :** Recommandations et exigences internationales des critères de qualité du miel (Codex Alimentarius, 2001 ; UE, 2002)

| Caractéristique qualitative                                                                             | Exigences de UE | Recommandations du Codex       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| <b>Eau (g/100g)</b>                                                                                     |                 |                                |
| Miel, en général                                                                                        | max. 20         | max. 20                        |
| Miel de bruyère, miel de trèfle                                                                         | max. 23         | max. 23                        |
| <b>Teneur apparente en sucres réducteurs (g/100 g)</b>                                                  |                 |                                |
| Miel de fleurs                                                                                          | min. 60         | min. 60                        |
| Miel de miellat, ou mélanges avec miel de fleurs                                                        | min. 45         | min. 45                        |
| <b>Teneur apparente en saccharose (g/100 g)</b>                                                         |                 |                                |
| Miel en général                                                                                         | max. 5          | max. 5                         |
| Miel de miellat, ou mélanges avec miel de fleurs ( miel d'acacias, de lavande, de Banksia, d'Eucryphia) | max. 10         | max. 10                        |
| Substances non hydrosolubles (g/100 g)                                                                  | 0.1             | 0.1                            |
| <b>Sels minéraux (g/100g)</b>                                                                           |                 |                                |
| Miel en général                                                                                         | max. 0,6        | max. 1                         |
| Miel de miellat ou mélanges de miel de fleurs                                                           | max. 1          | Pas d'indication               |
| Acides libres (milliéquivalent/kg)                                                                      | 40              | 40                             |
| <b>Indice d'amylase (en unités de Schade)</b>                                                           |                 |                                |
| Miel en général                                                                                         | ≥ 8             | ≥ 8                            |
| Miels pauvres en enzymes, comme le miel d'acacias, de fleurs d'oranger                                  | ≥ 3             | Pas d'indication               |
| Hydroxyméthylfurfurol (mg/kg)                                                                           | ≤ 40            | ≤ 40, ≤ 60 pays à climat chaud |

### III.3.2. Altération du miel

Le miel est souvent présenté comme une denrée non périssable, de conservation pratiquement indéfinie, il s'agit là de notions fausses. Le miel doit être l'objet de soins attentifs si l'on veut qu'il conserve sa fraîcheur et toutes ses qualités gustatives et autres.

Comme tous les produits biologiques, le miel vieillit avec le temps. Il subit des modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. D'abord, sa couleur fonce rapidement, puis plus lentement. La rapidité de la dégradation dépend de la composition du produit et des conditions de sa conservation.



### III.3.2.1. La cristallisation

La cristallisation du miel, phénomène naturel, doit être considérée comme une première étape du vieillissement. (Skowronek et al., 1994 ; Emmanuelle et al., 1996).

Tel que les abeilles le stockent dans le rayon, le miel est un produit liquide ; tous les sucres qu'il contient sont en solution dans l'eau, mais cette solution est sursaturée, ce qui signifie qu'elle n'est pas stable. Le miel est rapidement le siège de cristallisations fractionnées qui intéressent surtout le glucose, moins soluble que le fructose comme l'indique Schweitzer (2005).

Sous l'influence de différents facteurs, une cristallisation des sucres va s'amorcer et gagnera progressivement la totalité de la masse du miel. C'est l'existence de germes de cristallisation ou nodules d'ensemencement qui constituent l'amorce du phénomène. Ces particules peuvent être des cristaux primaires microscopiques de glucose présents dès la récolte ou même de simples poussières voire des grains de pollen. Tant que le miel est sous l'opercule de cire, à l'abri de l'air et à la température à peu près constante, la probabilité de cristalliser est faible. Après l'extraction, au contact de l'air et des poussières et soumis à d'importantes variations de températures, le miel se trouve dans des conditions favorables pour cristalliser (Lequet, 2010).

La vitesse de cristallisation des miels est très variable. Elle est fonction de la composition en sucres, de la teneur en eau, et de la température de conservation (Gonnet, 1994). La croissance des cristaux aboutit à la formation de deux phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau. Les deux phases ne se séparent pas et le miel cristallisé forme un feutrage dont la phase liquide occupe les interstices. Par contre, si le miel avait au départ une teneur en eau supérieure à 18%, la phase solide se sépare de la phase liquide et forme une épaisse couche au fond du vase.

L'aptitude à cristalliser du miel sera d'autant plus grande qu'il contient plus de sucres peu solubles dans l'eau (glucose) que de sucres très solubles (fructose). L'équilibre entre ces deux sucres détermine dès lors la vitesse de cristallisation du miel. Un miel riche en glucose (colza, pissenlit) cristallisera en deux à trois jours. A l'opposé, les miels très riches en fructose (acacia et miellat de sapin) resteront liquides pendant plusieurs années.

Selon White (1962), l'aptitude à cristalliser d'un miel est fonction du rapport glucose/eau (D/W). Pour une teneur en eau de 18%, la température optimale de cristallisation est de 14°C (Gonnet, 1965).



### III.3.2.2. Fermentation

Les miels contiennent des levures et champignons microscopiques responsables des fermentations alcooliques. Les levures ne peuvent se multiplier que si la teneur en eau du miel est suffisamment élevée ; une forte concentration en sucres inhibe leur développement. La marge est faible entre les concentrations qui garantissent la conservation et celles qui la mettent en danger. A partir de 18% d'eau, un miel suffisamment riche en levures est exposé à une fermentation plus ou moins rapide et plus ou moins totale si la température est convenable (Gonnet et al., 1964).

L'eau joue un rôle essentiel. Ainsi, étant très hygroscopique, le miel confiné en atmosphère humide absorbe l'eau rapidement. Ce phénomène gagne rapidement en profondeur et le miel hydraté acquiert une structure très fragile.

L'humidité du miel (L'hygroscopicité) en surface se stabilise à :

- 16,3% dans une pièce dont l'humidité relative de l'air est de 55% ;
- 18,3% dans une pièce dont l'humidité relative de l'air est de 60% ;
- 20,9% dans une pièce dont l'humidité relative de l'air est de 65%.

D'autres micro-organismes sont susceptibles d'engendrer d'autres fermentations (lactique, butyrique, acétique...) altérant par conséquent le miel. Les miels fermentés présentent toujours une acidité supérieure à la normale. De ce fait, le miel se conservera assez bien dans des locaux secs et aérés et le stockage se fera dans des conteneurs pleins et fermés hermétiquement.

### III.3.2.3. Autres transformations

Au cours du vieillissement, le miel subit lentement un certain nombre de transformations qui sont fonction de sa composition et de la température de conservation. Pour bloquer de façon complète toutes les réactions enzymatiques, le miel doit être conservé à une température de moins 25°C. A la température ordinaire, des transformations très sensibles sur une période allant d'un à deux ans seront notées, intensification de la coloration, augmentation de l'acidité libre, diminution la teneur en enzymes, dégradation plus ou moins rapide des sucres et formation d'hydroxy méthyl furfural (HMF)





## Chapitre IV. Propriétés nutritionnelles et biologiques du miel

### IV. 1. Propriétés nutritionnelles du miel

La consommation de miel est un très bon complément à la ration alimentaire habituelle. Elle assure un meilleur équilibre en éléments vitaux indispensables au bon fonctionnement de l'organisme (Nordqvist, 2018). Elle facilite la digestion et l'assimilation des autres aliments débouchant globalement, sur un meilleur métabolisme (Viuda-Martos et al., 2008). Elle permet d'avoir une plus grande résistance à la fatigue physique et intellectuelle. Enfin, elle permet d'obtenir un meilleur rendement physique (Rossant, 2011).

### IV.2. Propriétés biologiques du miel

#### IV.2.1. Propriétés antibactériennes

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. La puissante activité *in vitro* du miel, contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatique du miel. Les composantes antibactériennes du miel et ses vertus curatives sont jusqu'ici mal connues. Six facteurs principaux sont impliqués dans ce pouvoir bactéricide.

##### IV.2.1.1. Propriétés anti bactériennes par effet osmotique

Elle est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (Olaitan et al., 2007). De plus, le miel étant une solution sursaturée, l'eau disponible pour permettre la croissance de la plupart bactéries ou des levures est insuffisante.

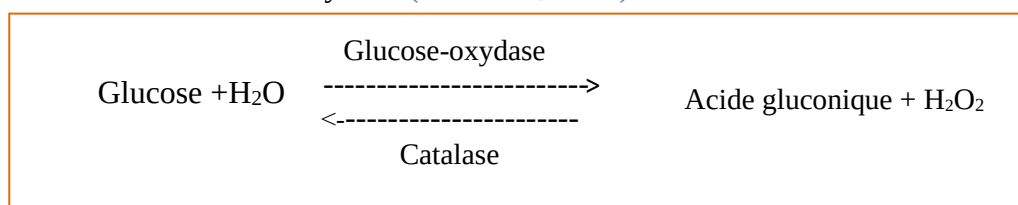
##### IV.2.1.2. Propriétés anti bactériennes liées au pH acide

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6 (Rossant, 2011). Ce pH permet de ralentir ou d'éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes et renforce donc l'activité antibactérienne du miel (Assie, 2004).



#### IV.2.1.3. Propriétés anti bactériennes liées à la formation de peroxyde d'hydrogène

L'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) est considérée comme la principale inhibine contenue dans le miel (Brudzynski, 2006). L'eau oxygénée et l'acide gluconique résultent de l'oxydation de l'eau et du glucose. Cette oxydation est provoquée par la glucose-oxydase. La glucose-oxydase est une enzyme du miel sécrétée par la glande nourricière de l'abeille. La catalase représente l'antagoniste de la glucose-oxydase. Cette enzyme également présente dans de nombreux miels réduit l'eau oxygénée. Alors que la glucose-oxydase produit l'eau oxygénée, celle-ci est éliminée par la catalase. La concentration en peroxyde dépend donc directement de l'activité de ces deux enzymes. (Boulaaba, 2019)



En outre, la formation de l'eau oxygénée est influencée par la chaleur et la lumière. Ces dernières altèrent la glucose-oxydase et ralentissent ainsi la production d'eau oxygénée. Étant donné que l'eau est indispensable au processus d'oxydation, l'eau oxygénée se forme uniquement dans le miel non mûr. Dans le miel mûr, le processus est bloqué. Si le miel est dilué, il peut être réactivé, mais le miel mûr ne contient que de petites quantités d'eau oxygénée inhibant que faiblement la croissance bactérienne (Bogdanov et Blumer, 2001).

#### IV.2.1.4. Propriétés anti bactériennes liées Substances non peroxydiques

Les substances antibactériennes non peroxydiques du miel sont des lysozymes, des flavonoïdes, des acides aromatiques, le méthylglyoxal (retrouvé en particulier dans le miel de Manuka), la défensines-1 (protéines fabriquées par les abeilles), des substances volatiles et autres composants indéterminés (Bogdanov et Blumer, 2001 ; Boulaaba, 2019). Ainsi, l'activité antibactérienne du miel est très complexe en raison de l'implication de multiples composés et de la grande variation des concentrations de ces composés. Tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne. (Molan, 1992 ; Kwakman et Zaat, 2012). Une analyse systématique de la nature chimique des substances non peroxydiques n'a pas encore été effectuée (Bogdanov et Blumer, 2001).



#### IV.2.2. Activité antioxydante

Le stress oxydatif décrit le déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (réactives) de l'oxygène (ERO) et la capacité d'un organisme à détoxifier ces intermédiaires réactifs. Les ERO comprennent les radicaux libres, les molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés, dérivées de l'oxygène tels que l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) et du radical hydroxyle (OH), ainsi que les dérivés non-radicaux de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'acide hypochloreux (HClO) comme l'indique [Halliwell et Gutteridge, \(2015\)](#). Les radicaux libres peuvent également être dérivés de l'azote, y compris l'oxyde nitrique (NO) et le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ) comme l'indique le même auteur.

Le stress oxydatif peut être causé par une diminution de l'activité des enzymes de défense antioxydantes, ou par la surproduction des ERO par des phagocytes activés de manière inappropriée. Les conséquences du stress oxydatif incluent les lésions tissulaires, par exemple les dommages causés aux protéines, aux lipides (peroxydation des lipides), à l'ADN et provoque également la mort cellulaire ([Halliwell et Gutteridge, 2015](#)). Chez l'homme, la pathogenèse de plusieurs maladies chroniques telles que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose et la maladie d'Alzheimer semble être liée au stress oxydatif ([Parthasarathy et al., 1992](#) ; [Kadenbach et al., 2009](#)).

La consommation d'aliments ayant une activité antioxydante naturellement est le moyen le plus efficace pour lutter contre le stress oxydatif et les conséquences qu'il engendre à l'organisme. En effet, certaines molécules dérivées de ces aliments, appelés antioxydants, constituent une source d'élément antioxydant.

Les antioxydants sont des substances qui, présentes à faible concentration, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et ses conséquences. Les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action :

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

- Les antioxydants secondaires ou préventifs (type II) : ils préviennent la formation des radicaux libres par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydants des ions ; c'est le cas de certains acides organiques et de certaines protéines. D'autres sont des piègeurs d'oxygène comme par exemple l'acide ascorbique, les  $\beta$ -carotènes



ou certains systèmes enzymatiques. Certains composés phénoliques possèdent à la fois les modes d'action de type I et II (Genot et al., 2004).

L'activité antioxydante du miel est due à la présence dans ce produit naturelle, des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, notamment la glucose-oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les acides organiques, les produits de la réaction de Maillard, les acides aminés, les protéines et plus de 150 composés phénoliques comprenant les flavonoïdes et les acides phénoliques (Dimitrova et al., 2007). De plus, l'activité antioxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique ([www.biologiq.nl](http://www.biologiq.nl)). Selon Paramas et al. (2006), les composés phénoliques du miel contribuent de manière significative à son pouvoir antioxydant. Les variations du pouvoir antioxydant dans le miel pourraient être dues en partie à la nature qualitative et quantitative des polyphénols qui y sont présents. Ces variations sont étroitement dépendantes de l'origine botanique et la raison est que la structure de ces composés phytochimiques joue un rôle important dans la détermination de l'activité antioxydante (Heim et al., 2002). Bon nombre d'études ont abouti à l'identification de nouveaux composés naturels et la sélection des espèces botaniques prometteuses en termes de leurs utilisations prévues pour l'isolement des constituant bioactifs (Augustyniak et al., 2010). Cependant, cela ne semble pas être le cas pour le miel. En effet, sa teneur en composés phénoliques n'est pas toujours positivement proportionnelle à son activité antioxydante (Al-Mamary et al., 2002).

D'après Rigal (2012), certaines vitamines et certains oligoéléments sont également impliqués dans l'activité antioxydante du miel. La vitamine C est piègeur des radicaux libres. Elle se transforme en radical ascorbyle au contact des radicaux libres, stoppant ainsi la réaction radicalaire en chaîne. En application topique, elle diminue considérablement les dommages causés par les rayons UV. Les oligo-éléments tels que le sélénium (Se) et le zinc (Zn) jouent eux aussi un rôle important dans l'équilibre peroxydant-oxydant. Ils ont un fort pouvoir antiradicalaire et interviennent au niveau du fonctionnement des enzymes qui préviennent le photo-vieillessement

#### **IV.2.3. Activité anti-inflammatoire et Immunomodulatrice**

Lorsqu'une agression infectieuse (bactérie, virus, levures), chimiques (antigènes, allergènes) ou physique (traumatismes, corps étrangers, radiations) se produit dans l'organisme, aussitôt une réaction de défense se met en place : c'est l'inflammation. Le processus inflammatoire est induit par divers types de produits chimiques et / ou d'agents biologiques,



notamment des enzymes pro-inflammatoires et des cytokines (Dao et al., 2004). L'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2), dans le processus inflammatoire catalyse le métabolisme de l'acide arachidonique en prostaglandine (Griswold et Adams, 1996 ; Cho et al., 2004). Le métabolisme anormal de l'acide arachidonique est impliqué dans la cancérogenèse et l'inflammation. La COX-2 est surexprimée dans des conditions précancéreuses et malignes (Hong et al., 2001).

Le miel présente une réponse anti-inflammatoire (Subrahmanyam, 1998). La littérature montre qu'il réduit l'inflammation lorsqu'il est appliqué dans des cultures de cellules (Candiracci et al., 2012), des modèles animaux (Leong et al., 2012 ; Bilsel et al., 2002) et des essais cliniques (Subrahmanyam, 1998 ; Al-Waili et Boni 2003). Selon Viuda-Martos et al. (2008), les composés phénoliques dans le miel sont en partie responsables de l'activité anti-inflammatoire. Le mécanisme implique la suppression des activités pro-inflammatoires de la COX-2 et/ou de l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS) par l'intermédiaire de ces composés phénoliques ou flavonoïdes (Cho et al., 2004). La douleur, une autre composante de l'inflammation peut aussi être atténuée par le miel (Molan, 2001 ; Viuda-Martos et al., 2008). Une étude histologique sur des biopsies de blessures d'animaux sans infection impliquée montre qu'il y a moins de leucocytes associés à l'inflammation du tissu lors de l'application de miel. 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, ils éliminent les radicaux libres et évitent leurs effets néfastes (Bergman et al., 1983 ; Burdon, 1995).

Outre son action antibactérienne directe, le miel permet de combattre l'infection en stimulant le système immunitaire. Il a été, également, rapporté que la stimulation des monocytes en culture libère les cytokines TNF- $\alpha$ , interleukine IL-1 et IL-6 impliquées comme messagers cellulaires activant la réponse (Fukuda et al., 2011). Cette activité immunomodulatrice et immunoprotectrice du miel est souvent liée à l'action anticancéreuse (Attia et al., 2008 ; Fukuda et al., 2011). Le miel stimule les anticorps, les lymphocytes B et T, les neutrophiles, les monocytes, les éosinophiles et les cellules NK lors de la réponse immunitaire primaire et secondaire en culture tissulaire (Al-Waili et Haq, 2004, Attia et al., 2008). Il a été démontré que le miel stimule les macrophages, les cellules T et les cellules B pour provoquer un effet antitumoral (Attia et al., 2008). Les sucres ingérés sont lentement absorbés, ce qui entraîne la formation de produits de fermentation d'acides gras à chaîne courte (SCFA) selon Kruse et al. (1999). La recherche a établi que, directement ou indirectement, les SCFA ont des actions



immunomodulatrices ([Schley et Field, 2002](#)) Ainsi, le miel peut stimuler le système immunitaire via ces sucres fermentescibles ([Chepulis, 2007](#)). Un sucre, (les nigerooligosaccharides : NOS), présents dans le miel, s'est avéré avoir une activité immunopotentialisatrice ([Murosaki et al., 2002](#)). Les composants non sucrés du miel peuvent également être responsables de l'immunomodulation ([Chepulis, 2007](#)).

### **IV.3. Différence entre le miel utilisé à des fins médicales et le miel commercialisé**

Le miel est utilisé depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, il est retrouvé également en médecine moderne. Cette substance naturelle est souvent considérée comme un « alicament ». En effet, elle est créditée de nombreuses propriétés thérapeutiques et pharmacologiques.

Généralement, le miel présentant la meilleure efficacité est un miel frais, non chauffé et non filtré. Cependant, les miels commercialisés en grandes surfaces proviennent généralement des grands pays exportateurs et sont généralement pasteurisés, mélangés et filtrés à pression, une chaîne de transformation qui leur fait perdre en grande partie leurs propriétés biologiques. Il est donc nécessaire de bien choisir son miel, de préférence un miel qui a subi le moins de traitement et le plus frais. Les miels à visée alimentaire connaissent une réglementation déjà bien précise, dictée par la [directive européenne relative au miel en 1974 et par le Codex Alimentarius de 1993](#). Leur attention est particulièrement portée sur l'hygiène et la contamination.

En revanche, les miels utilisés à des fins médicales devront répondre à des critères de qualité spécifique ([Assie, 2004](#)). En effet, ces miels devront respecter la charte établie par l'Association Européenne d'Apithérapie qui est encore plus stricte que le codex. Chaque signataire de cette charte devra accepter tout contrôle inopiné et le non-respect des règles entraînera une interdiction de la fabrication de miel destiné au milieu médical. Un des points les plus importants est la teneur bactériologique dans le miel.

Un miel classique traité sans conditions hygiéniques spécifiques est toujours contaminé par des germes présents à une teneur de l'ordre de 300 à 600 UFC/g (Unité Formant Colonie/Gramme). Pour le miel à usage médical, la totalité des germes doit être inférieure à 30 UFC/g et la présence de germes coliformes fécaux et d'agents pathogènes tels que les levures ou champignons est prohibée ([Assie, 2004](#)).





Pour le miel à usage alimentaire, réellement, aucune limite maximale de résidu n'est fixée. En revanche, pour le miel thérapeutique aucun résidu ne devra être retrouvé. En industries pharmaceutiques, dans le monde, plusieurs laboratoires commercialisent des tubes de miels stériles ou produits dérivés du miel à des fins thérapeutiques. Ces miels sont parfois 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 certaines propriétés.

Afin d'éliminer les risques potentiels pour la santé dus aux spores de *Clostridium*, tout en préservant les activités biologiques, les miels sont stérilisés par une irradiation gamma du miel à 25 kGy. Les utilisations thérapeutiques sont devenues courantes dans plusieurs hôpitaux comme au CHU de Limoges (France) où le miel est employé quotidiennement ou encore dans le service de Médecine à Dijon (Lieut et al., 1990) et dans le service de Chirurgie B à Limoges (Descottes, 1990).

#### **IV.4. Usages externes du miel**

##### **IV.4.1. Les applications sur la peau et les muqueuses**

De nombreux rapports médicaux, dans le monde, décrivent les effets bénéfiques du miel sur la guérison des plaies, des escarres, des brûlures, des plaies post chirurgicales, des lésions eczémateuses, des lésions psoriasiques... etc. 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, a été montrée par Van der Weyden (2003). Les patients souffrant de cancers doivent parfois subir des séances de radiothérapie et ce type de traitement entraîne des lésions et des ulcérations très douloureuses. Lorsque les tumeurs affectent l'appareil digestif haut, les patients souffrent d'ulcérations du tube digestif. Celles-ci provoquent de douloureuses dysphagies ce qui rend difficile l'acceptabilité et l'observance du traitement. Ces souffrances ont aussi une incidence sur leur état général puisqu'ils s'alimentent beaucoup plus difficilement. Des chercheurs ont essayé de soulager ces patients avec du miel (Chiba et al., 1985 ; Biswal et al., 2003). Leurs résultats sont encourageants : le miel protège les muqueuses et ainsi la plupart des patients ne développent que des lésions partielles beaucoup moins douloureuses.

##### **IV.4.2. En ophtalmologie**

Le miel était utilisé dans des temps anciens pour soigner des pathologies oculaires. Emarah (1982) a étudié l'effet thérapeutique du miel sur des pathologies oculaires telles que des kératites, des conjonctivites et des blépharites. Le miel a été appliqué comme une pommade



ophtalmique sous la paupière inférieure des patients. En effet, 85% des sujets traités au miel ont présenté une amélioration notable de leur pathologie. Pour les 15% restants, aucune aggravation de leur inflammation oculaire n'a été constatée.

## **IV.5. Usages internes**

### **IV.5.1. Traitement des gastroentérites**

Le traitement des gastroentérites infantiles consiste, essentiellement, en une réhydratation avec des solutés à base de glucose et d'électrolytes. [Molan \(2001\)](#) a remplacé le glucose des solutés de réhydratation par du miel concentré à 5% (v/v). Pour ce qui est des troubles digestifs provoqués par des bactéries, les épisodes diarrhéiques ont été raccourcis chez le groupe de sujets traités avec la solution à base de miel en comparaison avec celui des individus ayant reçu la solution avec le glucose. Les effets anti-inflammatoire et cicatrisant du miel sont aussi bénéfiques pour traiter l'inflammation et les éventuelles lésions liées à ces troubles gastro-intestinaux.

### **IV. 5.2. Affections respiratoires**

Le miel possède des effets antitussifs, expectorants et adoucissants qui aident à lutter contre les rhinites, les sinusites et le rhume des foins.

### **IV. 5.3. Effet laxatif**

En raison de sa concentration élevée en sucres (notamment en fructose), le miel est un laxatif osmotique doux. Les sucres créent un "appel" d'eau dans la lumière intestinale ce qui facilite le transit intestinal ([Ladas et al., 1995](#)).

### **IV.5.4. Effet prébiotique**

Des études cliniques ont associé à la présence de bifidobactéries dans le tractus gastro-intestinal, des effets bénéfiques comme la stimulation du système immunitaire et l'anticarcinogénicité. Le miel favoriserait la croissance, l'activité et la viabilité de bifidobactéries, habituellement incorporées lors de la fabrication de produits laitiers fermentés ([Kajiwara et al., 2002](#)). Selon [Ustunol et Gandhi \(2001\)](#), il existerait un effet synergique entre les carbohydrates du miel dans la stimulation de la croissance et l'activité des bifidobactéries.

## **IV.6. Miel spécifique**

Depuis longtemps l'homme a compris que les abeilles pouvaient être un allié précieux pour la lutte contre les maladies et leur prévention. Dans de nombreux pays, le miel est utilisé depuis toujours comme remède, soit à l'état pur, soit mélangé à des plantes, qu'il soit administré par voie orale (interne) ou bien par une application externe (pansement, masque, gel, pommade,



savon...etc.). Aujourd'hui, la pharmacopée commence à s'intéresser de plus près aux bienfaits du miel que connaissaient nos anciens. Chaque type de miel possède ses propres bienfaits. Ainsi, il existe des miels spécifiques préconisés dans certaines pathologies et que chaque miel est associé des vertus médicinales de la floraison dont il provient (Tab.05).

**Tableau 05** : Propriétés et indications thérapeutiques spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux (Donadieu, 1984).

| Effet                                                                                                                                              | Types de Miels                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Système génital et sexuel (libido, règles douloureuses)                                                                                            | Tilleul - Trèfle                                                                 |
| Système digestif (coliques, constipation, digestion, insuffisance hépatique, calculs biliaires, flatulences, diabète de type II, manque d'appétit) | Thym, Romarin, Bruyère, Sarrasin, Tournesol, Acacia, Tilleul                     |
| Maux de tête, migraines                                                                                                                            | Lavande, Tilleul, Lierre                                                         |
| Système cutané (désinfection et cicatrisation des plaies, piqûres, brûlures, astringent de la peau, acné, engelures, crevasses, abcès)             | Lavande, Thym, Châtaignier, Manuka. Arbousier (astringent)                       |
| Système pulmonaire (asthme, toux, bronchite)                                                                                                       | Lavande, Sapin, Thym                                                             |
| Sphère ORL (maux de gorge, grippe, rhume)                                                                                                          | Lavande, Sapin, Romarin, Eucalyptus, Tilleul, Tournesol (antipyrétique), Mélilot |
| Système nerveux (angoisse, dépression, nervosité, anxiété)                                                                                         | Lavande, Aubépine, Trèfle, Oranger, Colza, Tilleul                               |
| État général (fatigue, insomnies, surmenage)                                                                                                       | Lavande, Aubépine, Châtaignier, Romarin, Bruyère, Oranger, Tilleul, Citronnier   |
| Système urinaire et rénal (insuffisance rénale, cystites, prostatites, calculs, infections)                                                        | Châtaignier, Bruyère, Arbousier, Eucalyptus                                      |
| Système musculaire (contractions, crampes, crispations)                                                                                            | Aubépine, Tournesol                                                              |
| Système cardio-vasculaire (anémie, varices, hémorroïdes, jambes lourdes, artériosclérose, hypertension)                                            | Aubépine, Châtaignier, Romarin, Sarrasin                                         |
| Vertus tonifiantes; insuffisance hépatique ou digestive.                                                                                           | Romarin                                                                          |
| Antirhumatismales                                                                                                                                  | Bruyère                                                                          |
| Système osseux et articulaire (arthrite, rhumatismes, déminéralisation)                                                                            | Thym, Châtaignier, Sarrasin                                                      |



## Chapitre V. Les bactéries lactiques du miel

### V.1. Flore microbienne du miel

Les microorganismes identifiés dans des échantillons de miel produits dans diverses zones géographiques comprennent des espèces tant pathogènes que bénéfiques. Ainsi, les microorganismes capables de résister aux conditions de croissance difficiles intrinsèques au miel proviennent de sources primaires ou secondaires de contamination microbienne (Silva et al., 2017b). Les micro-organismes associés aux plantes qui résident sur les surfaces des fleurs, dans le nectar, le pollen, le sol et l'eau sont les bactéries les plus prédominantes dans le miel. En outre, le tube digestif des abeilles mellifères s'est révélé être une source importante de contamination microbienne du miel (Fig.20). Au cours du processus de production du miel, les abeilles introduisent dans le nectar certaines bactéries de leur microbiote intestinal.

Il existe un large éventail de bactéries transférées du tube digestif au produit, notamment : *Lactobacillus* sp., *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp. et les bactéries Gram-négatives. En outre, *Achromobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., ont également été identifiées (Gilliam et al., 1978 ; Ahn et al., 2012). Il convient de noter que la composition du microbiote intestinal des abeilles dépend de nombreux facteurs. Par exemple, pendant la période de floraison du colza, le groupe *Bacillus* constitue l'ensemble des bactéries dominantes dans l'estomac des abeilles (Wang et al., 2015). Le tractus gastro-intestinal des abeilles mellifères constitue un environnement favorable, non seulement pour la croissance des bactéries lactiques, comme *Lactobacillus* spp. et *Enterococcus* spp., mais aussi pour les bactéries lactiques fructophiles (FLAB) selon Filannino et al. (2016), principalement *Lactobacillus kunkeei* (Rangberg et al., 2015). En outre, il a été démontré que la microflore du tube digestif des abeilles d'été et d'hiver se diversifie, ce qui permet de transférer un large éventail de micro-organismes différents des intestins des abeilles au miel. Les micro-organismes provenant de sources post-récolte, y compris l'homme, le matériel et même les poussières, sont considérés comme contamination de seconde source et peuvent être divisés en trois catégories (Naseer et al., 2015) :

- Les micro-organismes sporifères qui se trouvent couramment dans le miel ;
- Les micro-organismes généralement utilisés comme indicateurs de qualité hygiénique ;
- Les micro-organismes dont la présence pourrait déduire des conditions spécifiques, telles que la germination (Snowdon et Cliver, 1996).



À cet égard, la communauté de micro-organismes résidant dans le miel est une combinaison de bactéries, de levures et de moisissures pouvant varier dans certaines conditions (Carvalho et al., 2006 ; Rozanska, 2011). Selon Snowdon et Cliver (1996), les différentes espèces microbiennes présentes dans le miel pouvaient atteindre une concentration de quelques milliers d'unités formant colonie (UFC) par gramme. Des études sur les miels français (Tysset et Rousseau, 1981) et argentins (Iurlina et Fritz, 2005) montrent une valeur moyenne d'environ 200-250 UFC/g pour les bactéries et de 100-150 UFC/g pour les champignons. En ce qui concerne les miels italiens, des valeurs plus basses ont été rapportées (Piana et al., 1991). En raison du risque de botulisme infantile chez les enfants de moins d'un an, de nombreuses études ont été, principalement, consacrées aux implications en matière d'hygiène, alors que d'autres se sont concentrés sur la présence de *Clostridium botulinum* (Saraiva et al., 2012). Certains chercheurs considèrent le miel comme source puissante de bactéries capables de synthétiser les substances antimicrobiennes (Pajor et al., 2018). Ces composés pourraient être bénéfiques dans différents domaines tels que la bio-préservation des aliments et la médecine (contre les isolats sensibles et résistants aux antibiotiques).

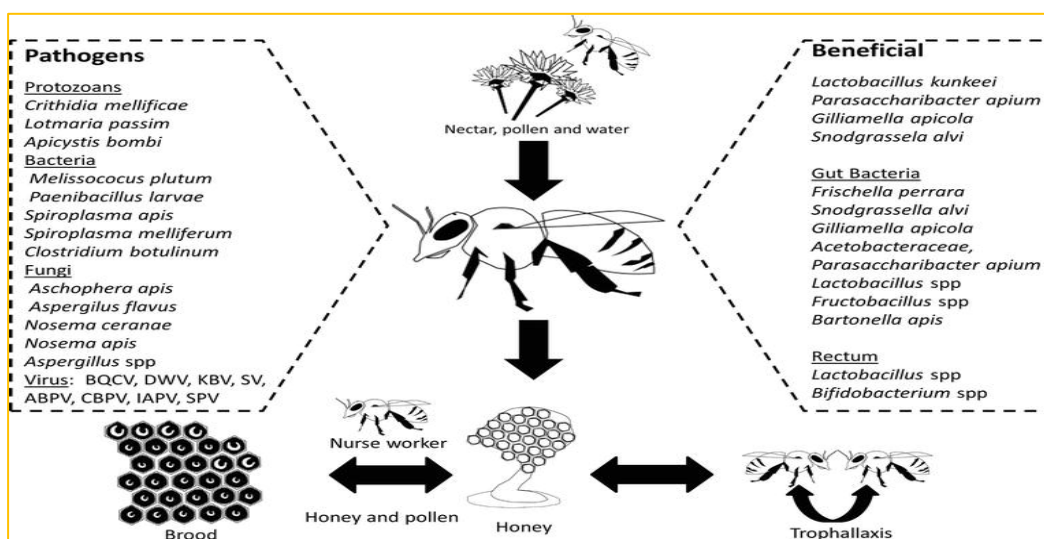


Figure 20 : sources primaires de microorganismes dans le miel (Silva et al., 2017)

## V.2. Bactéries lactiques et miel

### V.2.1. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvées dans tous les types d'habitat. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien, en tant que bactéries de la flore commensale, de la flore intestinale ou de la flore alimentaire. Une caractéristique commune permet, cependant, de les unifier en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique (Dellaglio et al., 1994). Elles



partagent, en outre, un certain nombre de caractéristiques communes, qui forment la base de leur classification. Ce sont des bactéries à Gram positif, asporulées, anaérobies, catalase négative, oxydase négative. Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage de GC (Muto et Osawa, 1987). Elles sont de métabolisme chimio-organotrophe, ce qui signifie qu'elles utilisent comme source énergétique des substances hydrocarbonées telles que les sucres, les alcools et les acides organiques. Elles possèdent souvent des exigences nutritionnelles complexes en termes d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucres (Dellaglio et al., 1994).

Les bactéries lactiques sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (stiles et Holzapfe, 1997), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe) selon Klaenhammer et al., (2005). Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*....

### V.2.2. Intérêts des bactéries lactiques

Ces dernières années, un regain d'intérêts a été porté aux bactéries lactiques, notamment en industrie agroalimentaire où elles sont principalement utilisées 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 Kleerebezem, 1999). En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le di-acétyl et les bactériocines.

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens inhibant la croissance de bactéries altérantes ou pathogènes. Les souches productrices de bactériocines peuvent donc être, également, 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 ; Rodgers, 2003 ; Vermeiren et al., 2004).

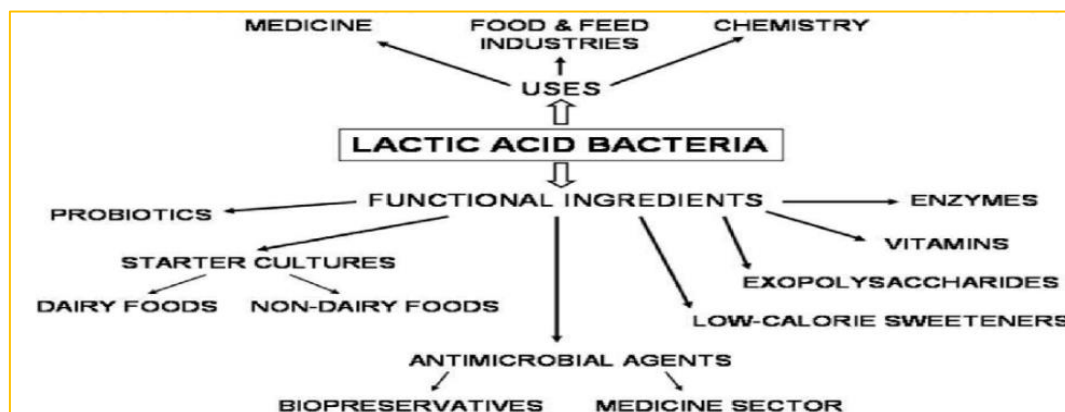
Par ailleurs, l'émergence de la résistance des bactéries pathogènes à l'antibiothérapie a orienté l'industrie pharmaceutique vers la découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes. Grâce à leur mode d'action différent des antibiotiques conventionnels, les bactériocines comme





la mersacidine ou la lacticine 3147 pourraient être considérées comme une alternative au contrôle de la prolifération et à l'inhibition des souches bactériennes pathogènes devenues résistantes aux traitements usuels. De nombreuses bactériocines sont actuellement à l'étude pour être utilisées comme traitement médical (Dicks et al., 2011).

En outre, au cours des dernières années, l'utilisation de probiotiques à des fins différentes avait suscité de l'intérêt dans différents contextes médicaux dans différents pays (Angmo et al., 2016). Les probiotiques sont des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, affectent positivement la santé de l'hôte (Guarner et al., 2011). Ainsi, les bactéries lactiques, en particulier les espèces de *Lactobacillus*, ont été exploitées comme probiotiques en raison des preuves croissantes de leurs bienfaits pour la santé (Tropcheva et al., 2014 ; Feng et al., 2015). La figure 21 résume les principales utilisations des bactéries lactiques



**Figure 21 :** Utilisation et fonction des bactéries lactiques (Florou-Paneri et al., 2013)

### V.2.3. Origine et rôle des bactéries lactiques dans le miel

Pour la production de miel, les abeilles ingèrent du nectar et le stockent dans le jabot puis le transforment à l'aide d'enzymes. Au-delà des enzymes, des micro-organismes symbiotiques associés au tractus gastro-intestinal qui peuvent être bénéfiques pour la santé humaine sont également incorporer dans le miel au cours de sa fabrication (Endo et Salminen 2013). Parmi ces microorganismes, les bactéries lactiques, principalement les *lactobacilles* et les *bifidubacterium* ont été distinguées.

Les bactéries lactiques pourraient être endémiques du tube digestif des abeilles domestiques adultes et indépendantes des saisons et des facteurs nutritionnels (Gilliam, 1997). Ils diffèrent selon les sources de nectar et la présence d'autres genres bactériens dans l'estomac de l'abeille. Il est supposé que ces bactéries lactiques jouent un rôle clé dans la conversion du nectar en miel



et du pollen en poudre (aliment stocké riche en protéines) en raison de leurs propriétés de fermentation (Olofsson et Vasquez, 2008 ; Vasquez et al., 2009). Ce microbiote de bactéries lactiques constitue un grand intérêt pour la santé des abeilles, en les protégeant contre les agents pathogènes (Vasquez et al., 2012), en contribuant aux propriétés antimicrobiennes du miel (Olofsson et al., 2014). En effet, il a été constaté un mutualisme développé par les abeilles et ces bactéries lactiques. Les bactéries lactiques préparent l'environnement pour rendre les nutriments disponibles pour les abeilles en sécrétant divers composés actifs qui inhibent la croissance des autres microbes, d'autre part, le tractus intestinal des abeilles mellifères est protégé contre les micro-organismes nuisibles. 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). Les larves d'abeilles domestiques sont probablement stériles au début, mais à mesure que les infirmières se nourrissent de miel, les abeilles domestiques gagnent avec le temps cette flore intestinale avant de terminer leur cycle de vie (Lee, 1984).

Plusieurs études confirment la présence de bactéries lactiques dans le miel. En effet, *Gluconobacter* et *Lactobacillus* ont été isolés à partir de miels en cours de maturation (Ruiz et Rodriguez, 1975), et *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* ont été retirés du vin de miel éthiopien (Bahiru et al., 2006).

L'hypothèse émise par Olofson et al. (2014) a permis de conclure que la présence de LAB viable dans le miel frais pourrait ainsi supposer que les LAB avec leurs bioproduits actifs pourraient être la raison pour laquelle le miel a été considéré comme un agent antimicrobien à travers l'histoire humaine. Il est possible que les substances antimicrobiennes produites par les LBA pendant la production de miel devraient être présentes dans le miel fraîchement récolté et conservé dans du miel mûr. Comme indiqué précédemment, ces bactéries possèdent des propriétés intéressantes non seulement pour l'industrie alimentaire, mais également pour les effets bénéfiques sur la santé de l'homme qu'elles apportent.

---

# Partie II

## Etude expérimentale

---



---

# Chapitre I. Objectifs

---



## I. Objectifs

Ce travail s'insère dans le cadre des activités de recherche du Laboratoire des Sciences Techniques et de Production Animale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem), dont l'objectif principal est l'étude des miels algériens et leurs particularités.

Dans son premier volet, le projet vise à étudier les spectres polliniques des miels, avec comme but d'évaluer la diversité de la flore mellifère algérienne. Alors que le deuxième met l'accent sur les caractéristiques des miels algériens du point de vue qualitatif, par l'évaluation des paramètres physico-chimiques (taux d'humidité, conductivité électrique, pH, teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF), activité diastasique et couleur). La composition en sucres a été, également, déterminée.

En raison de l'importance des propriétés biologiques attribuées aux miels, un troisième volet a été consacré à l'évaluation des pouvoirs antioxydant et antibactérien. De même, le pouvoir des miels à inhiber l'adhésion des bactéries adhérentes invasives *E. coli* (AIEC) aux cellules épithéliales intestinales a été testé.

Enfin, dans un quatrième volet, et afin de donner une originalité à ce travail, un essai a été mené sur la recherche des *lactobacilles* dans les échantillons de miels frais et l'évaluation de leur pouvoir antibactérien. Les différentes analyses effectuées sont schématisées dans la (Fig. 22).

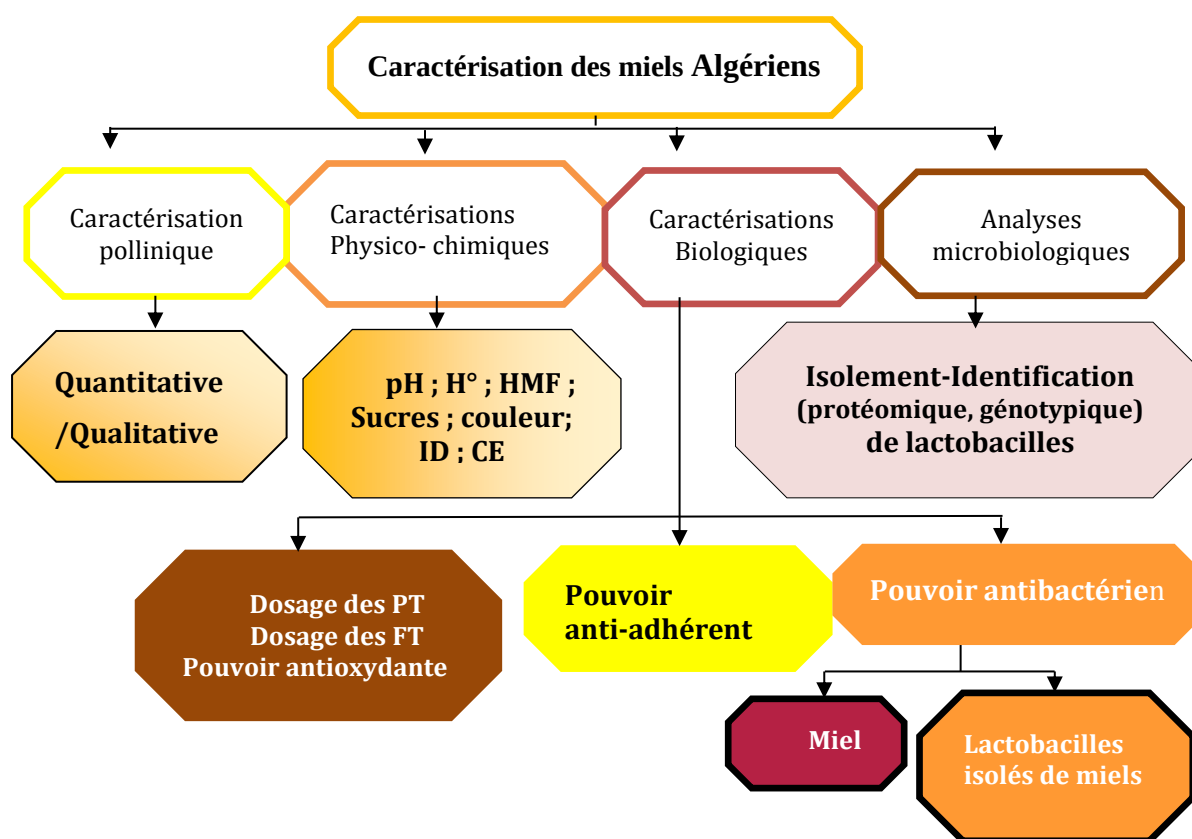


Figure 22 : Schéma général des analyses effectuées



---

# Chapitre II.

## Présentation de la zone d'étude

---







## II. Présentation de la zone d'étude

Cette étude a été menée au niveau de 21 wilayas d'Algérie (Fig. 23). L'Algérie se situe au nord-ouest de l'Afrique entre 28° 00 N et 3° 00 E. Elle est délimitée au nord par la mer Méditerranée, à l'est par la Tunisie et la Libye, au sud-est par le Niger, au sud-ouest par le Mali et la Mauritanie, à l'ouest par le Sahara occidental et le Maroc. L'Algérie est composée de quatre principales unités structurelles, à savoir : au nord le « tell » (4% de l'ensemble du territoire), au centre « la région des Hauts Plateaux » (9% de l'ensemble du territoire) ; « l'Atlas saharien » et le « Sahara » au sud, ce qui représente 87% de la surface du pays. Ces régions se distinguent par leurs reliefs, leurs morphologies et leurs climats, offrant une grande diversité écologique. On distingue, suivant les tranches pluviométriques, cinq étages bioclimatiques (Fig. 24) :

- Zone Humide (> 900 mm) que l'on trouve dans les régions nord-est, dominée en altitude par les forêts à cèdres et diverses chênaies (*Quercus faginea*, *Q. Suber* et *Q. afares*) ;
  - Zone Subhumide (600 – 900 mm) qui couvre la partie septentrionale d'est en ouest de l'Atlas Tellien, sur lequel se développent les forêts à chênes *rotundifolia* et Pin d'Alep ;
  - Zone semi-aride supérieure (400 – 600 mm), qui correspond aux forêts, maquis et matorrals, plus ou moins dégradés, des sommets et des versants nord de l'Atlas saharien. Le chêne *rotundifolia*, le thuya et l'olivier-lentisque sont les plus représentés ;
  - Zone sub-steppique du semi-aride, (300 – 400 mm), caractérisée par la disparition des espèces forestières et l'apparition des espèces steppiques telles que l'armoise (*Artemisia herba alba*), l'alfa (*Stipa tenacissima*) et le sparte (*Lygeum spartum*). Ces terrains considérés comme de bons parcours sont situés au nord des Hautes plaines oranaises et sur le versant sud des Aurès, des Monts des Ouleds Naïls et des Nememchas. Dans cet étage bioclimatique, les parcours sont en compétition avec la céréaliculture au niveau des dépressions ;
  - Zone Aride (100 – 300 mm) qui correspond aux Steppes Méridionales et présahariennes qui se caractérisent par une réduction importante du couvert végétal donnant lieu à des parcours médiocres sur des sols squelettiques et ayant atteint un seuil de dégradation très avancé ;
- Zone Saharienne (<100 mm), correspond à la zone sud de l'Atlas saharien. La végétation est contractée et localisée dans les lits d'oueds. C'est une végétation hygrophile fortement adaptée aux conditions xériques et qui présente un très fort taux d'endémisme. On retrouve des pâturages à base d'espèces graminéennes telles que *Aristida pungens*, *Panicum turgidum* et d'arbustes fourragers tels que les nombreux acacias.

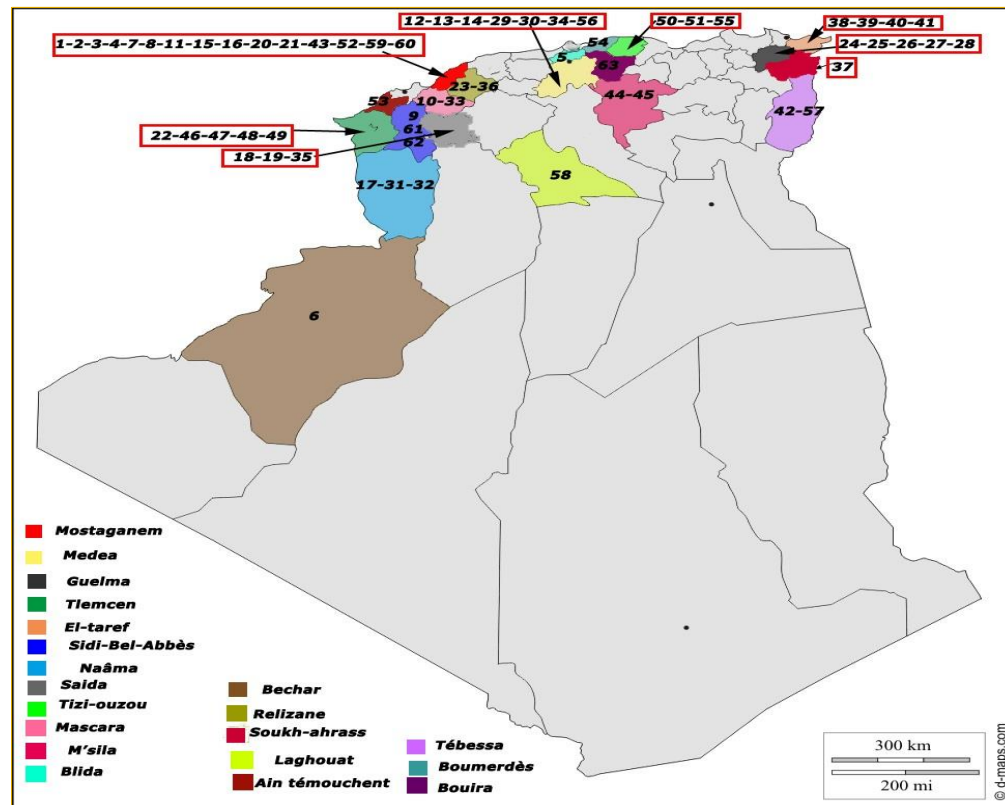


Figure 23 : Origines géographiques des miels étudiés.

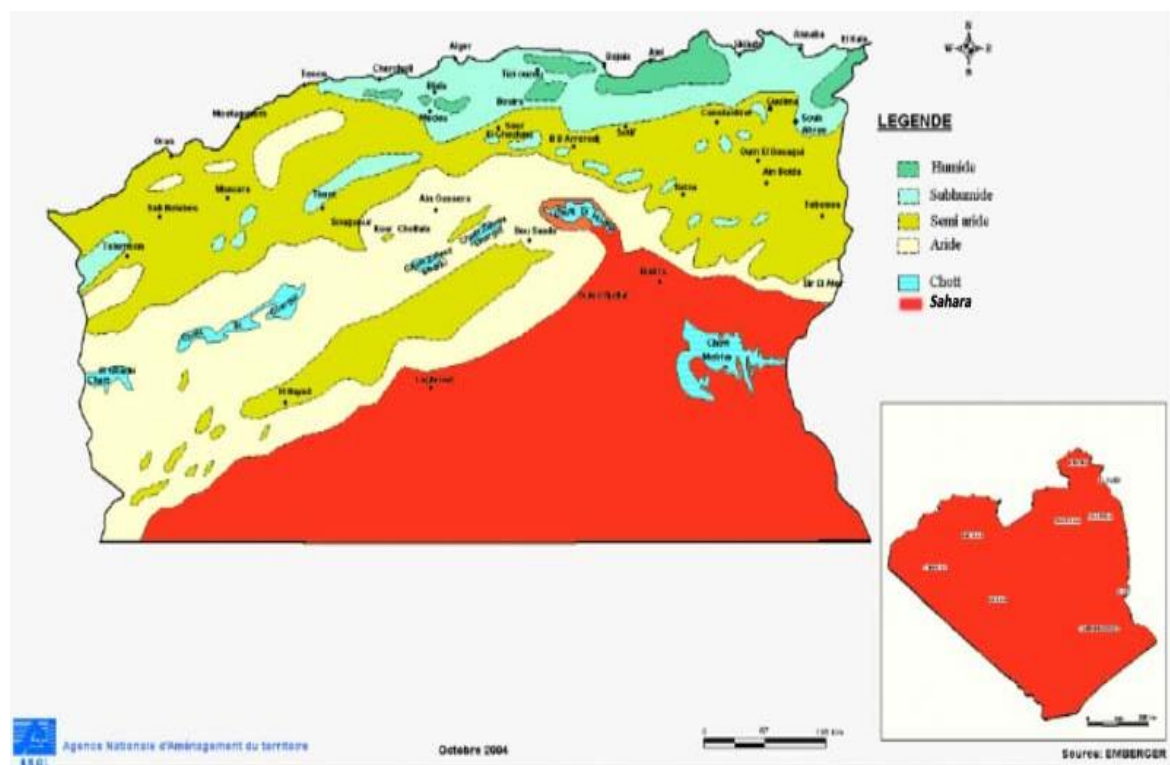
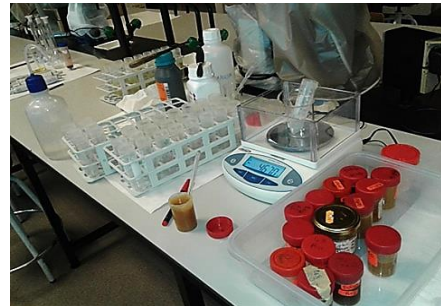


Figure 24 : Répartition de l'Algérie, selon les étages bioclimatiques

---

# Chapitre III. Matériel Et Méthodes

---





### III. Matériel et Méthodes

#### III.1. Matériel

##### III.1.1. Miels

Pour la réalisation de cette thèse, 63 échantillons de miel ont été, fraîchement, collectés chez différents apiculteurs au cours de l'année 2015-2016 (Tab. 06). Les échantillons ont été stockés dans des pots stériles dûment étiquetés, puis transférés au laboratoire pour conservation, à la température de 4°C.

**Tableau 06 :** Fiche de renseignements des miels étudiés.

| Régions                     | Localités          | Saisons/années  | Modes extractions | Miel Code       | Habitats                    |
|-----------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------------------|
| Mostaganem<br>(N=13)        | Bouguirat          | Printemps/2015  | Centrifugé        | E <sub>01</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Touahria           | Printemps/2015  | Centrifugé        | E <sub>02</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Mazagran           | Printemps /2015 | Pressé            | E <sub>03</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Mazagran           | Printemps /2015 | Pressé            | E <sub>04</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sirat              | Printemps /2015 | Pressé            | E <sub>07</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sour               | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>08</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sirat              | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>11</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sirat              | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>15</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sirat              | Printemps/2015  | Centrifugé        | E <sub>16</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Touahria           | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>20</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Khadra             | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>21</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Achaacha           | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>43</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Forêt de zerrifa   | Automne/2015    | Pressé            | E <sub>52</sub> | Semi-aride «tell»           |
| Tlemcen<br>(N=06)           | Souaflia           | Printemps/2016  | Centrifugé        | E <sub>59</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Souaflia           | Printemps/2016  | Centrifugé        | E <sub>60</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Beni Mester        | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>22</sub> | Sub-humide «tell»           |
|                             | Tlemcen            | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>46</sub> | Sub-humide «tell»           |
|                             | Tlemcen            | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>47</sub> | Sub-humide «tell»           |
| Saida<br>(N=03)             | Tlemcen            | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>48</sub> | Sub-humide «tell»           |
|                             | Tlemcen            | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>49</sub> | Sub-humide «tell»           |
|                             | -                  | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>18</sub> | Semi-aride «hauts plateaux» |
| Sidi Bel<br>Abbes<br>(N=03) | Youb               | Eté/2015        | Pressé            | E <sub>19</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | -                  | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>35</sub> | Semi-aride «hauts plateaux» |
|                             | Lamtar             | Eté/2015        | Pressé            | E <sub>9</sub>  | Semi-aride «tell»           |
| Relizane<br>(N=02)          | -                  | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>61</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | -                  | Hiver/2016      | Centrifugé        | E <sub>62</sub> | Semi-aride «tell»           |
| Mascara<br>(N=02)           | -                  | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>23</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Oued Djemaa        | Eté/2015        | Centrifugé        | E <sub>36</sub> | Semi-aride «tell»           |
| Mascara<br>(N=02)           | Ain fekan          | Eté/2015        | Pressé            | E <sub>10</sub> | Semi-aride «tell»           |
|                             | Sidi Abdel moumane | Eté/2015        | Pressé            | E <sub>33</sub> | Semi-aride «tell»           |



|                       |                          |                |            |                 |                                    |
|-----------------------|--------------------------|----------------|------------|-----------------|------------------------------------|
| Ain-Témouchent (N=01) | Djbel el hanech          | Automne/2015   | Pressé     | E <sub>53</sub> | Semi-aride «tell»                  |
| Médéa (N=07)          | Ksar el Boukhari         | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>12</sub> | Semi-aride «tell»                  |
|                       | Ouled Anteur             | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>13</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Moudjbar                 | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>14</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Ouamri                   | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>29</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Ouamri                   | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>30</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Seghouane                | Eté/2015       | Pressé     | E <sub>34</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Ouzera                   | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>56</sub> | Sub-humide «tell»                  |
| Tizi-Ouzou (N=03)     | Tigzirt                  | Automne/2015   | Pressé     | E <sub>50</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Azeffoun                 | Automne/2015   | Pressé     | E <sub>51</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Mizrana                  | Automne/2015   | Centrifugé | E <sub>55</sub> | Sub-humide «tell»                  |
| Blida (N=01)          | Blida                    | Printemps/2015 | Pressé     | E <sub>5</sub>  | Sub-humide «tell»                  |
| Bouira Boumerdes      | bouira                   | Eté/2016       | centrifugé | E <sub>63</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Bordj-Ménaïel            | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>54</sub> | Sub-humide «tell»                  |
| El Taref (N=04)       | Bouteldja                | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>38</sub> | Humide «tell»                      |
|                       | Aïn Kerma                | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>39</sub> | Humide «tell»                      |
|                       | Hamman Beni Salah        | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>40</sub> | Humide «tell»                      |
|                       | Ain el Assal             | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>41</sub> | Humide «tell»                      |
| Guelma (N=05)         | Khezzaras                | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>24</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Hamman N'Bail            | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>25</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Dahouara                 | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>26</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Medjez Sfa               | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>27</sub> | Sub-humide «tell»                  |
|                       | Roknia                   | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>28</sub> | Sub-humide «tell»                  |
| Soukh-Ahras           | Ouled Driss              | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>37</sub> | Sub-humide «tell»                  |
| M'Sila (N=02)         | Hamman Dhalaa            | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>44</sub> | Semi-arid «hauts plateaux-steppes» |
|                       | Bou Saâda                | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>45</sub> | Semi-aride hauts plateaux -Steppes |
| Tebessa (N=02)        | Morsot « Djbel Mzouzia » | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>42</sub> | Semi-aride «hauts plateaux»        |
|                       | Tebessa                  | Printemps/2015 | Centrifugé | E <sub>57</sub> | Semi-aride «hauts plateaux»        |
| Naâma (N=03)          | Tiout                    | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>17</sub> | Arise                              |
|                       | Sfissifa                 | Eté/2015       | Pressé     | E <sub>31</sub> | Arise                              |
|                       | Tiout                    | Eté/2015       | Pressé     | E <sub>32</sub> | Arise                              |
| Béchar N=(01)         | Béchar                   | Printemps/2015 | Pressé     | E <sub>06</sub> | Arise                              |
| Laghouat (N=01)       | Brida                    | Eté/2015       | Centrifugé | E <sub>58</sub> | Arise                              |





### III.1.2. Souches bactériennes et cellules humaines utilisées

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne ont été réalisés contre quatre souches. Trois appartenant à la collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *E. coli* ATCC 25922 et une souche d'origine animale isolé à partir de volailles *Salmonella typhi*. Toutes ces souches nous ont été, aimablement, fournies par le Laboratoire Vétérinaire Régional de Mostaganem.

Le test d'adhésion a été réalisé par l'utilisation de la souche *E. coli* Adhérente invasive « AIEC » rendu bioluminescente qui est « LF82<sub>luciférase</sub> ». Cette souche appartient au laboratoire M2ish. C'est une souche AIEC de référence LF82 isolée d'une lésion chronique de patient atteint de maladie de Crohn rendu bioluminescente grâce à l'insertion dans le chromosome de l'opéron *lux* codant la luciférase et son substrat la luciférine.

Les cellules T84 (ATCC® CCL-248) ont été utilisées pour la culture cellulaire, ce sont des cellules épithéliales intestinales de carcinome de côlon d'un homme de 72 ans.

### III.1.3. Milieux de culture

Les milieux de cultures bactériennes utilisés étaient, la gélose nutritive (GN) pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des miels ainsi que celle des lactobacilles isolés à partir des miels et la gélose Muller Hinton (MH), pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents antibiotiques (ATB). Pour l'isolement des lactobacilles nous avons utilisé les milieux MRS (Man Rogosa and sharp), MRS supplémenté de bicarbonate de sodium ( $\text{CaCO}_3$ ), MRS supplémenté de 0, 1% de Cystéine et 2% fructose et le milieu Rogosa. La lignée cellule T84 a été mise en culture en milieu Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient mixture F12 (DMEM- F12, Gibco) supplémenté avec 1% (p/v) glutamine, 1% (p/v) pénicilline/streptomycine, 1% HEPES et 10% (v/v) sérum de veau Fœtal décomplémenté.

## III.2. Méthodes

### III.2.1. Etude pollinique des miels (Mélissopalynologie)

L'analyse pollinique a été réalisée au moyen d'un microscope optique (NIKON OPTIPHOT - II), selon la méthode de [Louveaux et al. \(1978\)](#), qui est basé sur l'observation aux microscope d'un sédiment obtenu après centrifugation d'une solution de miel, Cette analyse est effectué en deux temps dans un premier temps le nombre total des grains de pollen présent dans





le miel est quantifié par poids de volume ensuite dans un deuxième temps les différents grains de pollens sont identifier au niveau de l'espèce, du genre ou du type et classer par ordre de fréquence, afin de caractériser les miels par leur origine botanique ou géographique.

### III.2.1.1. Analyse quantitative

Un aliquote de 10 g de miel bien homogénéisé a été dissout dans 30 ml d'eau distillée, puis centrifugé à 4500 r.p.m (3383g) pendant 10 minutes (centrifugeuse Sigma Laborzentrifuge, modèle 03-10). Le surnageant a été éliminé délicatement, en laissant environ 1 à 2 cm de hauteur du liquide par rapport au culot de centrifugation. Ce culot a été ensuite mis en suspension dans 30 ml d'eau distillée puis centrifugé à nouveau pendant 5 minutes à 4500 rpm. Après élimination du surnageant, le culot restant a été porté à un volume final de 5 ml, puis homogénéisé par agitation. Enfin, un volume de 10  $\mu$ l a été prélevé à l'aide d'une micropipette et déposé en double sur des lames porte-objets préalablement étiquetées. Le frottis a été séché sur une plaque chauffante (PCR-A Bunsen), puis recouvert par une lamelle sur laquelle une goutte de glycérine-gélatinée colorée avec de la fuchsine a été préalablement déposée. Le comptage des grains de pollens au microscope, au grossissement 400 X, a été effectué. Une fois le comptage dans 10  $\mu$ l de solution de miel a été réalisé, le nombre de grains de pollens présents dans 1 g de miel (*B*) a été calculé comme suit :

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

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

*A* : Nombre de grains de pollens dénombré dans 10  $\mu$ l de solution de miel ;

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

Afin de déterminer la richesse en pollens, les résultats du dénombrement ont été ensuite définis en classes de fréquence, selon la méthode de [Maurizio \(1975\)](#).

**Tableau 07** : Classification de Maurizio (1975)

| Classes    | Nombre de grains de pollens pour 1g de miel |
|------------|---------------------------------------------|
| <b>I</b>   | <b>&lt; 2000</b>                            |
| <b>II</b>  | <b>2000 – 10000</b>                         |
| <b>III</b> | <b>10000 -5000</b>                          |
| <b>IV</b>  | <b>50000 - 100000</b>                       |
| <b>V</b>   | <b>&gt; 100000</b>                          |



### III.2.1.2. Analyse qualitative

Pour chacun des échantillons, un aliquote de 10 g ont été dissous dans 30 ml d'eau distillée. Une première centrifugation a été réalisée à 4500 rpm pendant 10 mn. Après élimination du surnageant, le culot a été mis en suspension dans 30 ml d'eau distillée, suivi d'une seconde centrifugation à 4500 rpm pendant 5 minutes. A nouveau, le surnageant est éliminé et le culot résultant a été homogénéisé par agitation. Enfin, un volume de 100 µl a été prélevé à l'aide d'une micropipette et déposé en double sur des lames porte-objets préalablement étiquetées. Le frottis séché sur une plaque chauffante a été recouvert par une lamelle, sur laquelle une goutte de glycérine-gélatinée colorée avec de la fuchsine a été préalablement déposée. Chaque échantillon ainsi obtenu, a été correctement étiqueté, de manière à faciliter le traitement des données. La détection et l'identification, des grains de pollens ont été réalisées avec un microscope optique aux grossissements 400 X et 1000 X, en fonction de la difficulté à identifier les pollens. Pour compter chacun des différents types de pollens présents dans chaque échantillon, des lignes différentes ont été lues dans le même ordre dans chaque lame jusqu'à atteindre un nombre minimum de 800 grains de pollens par échantillon. L'identification a été, ensuite, déterminée au niveau de l'espèce, le genre ou le type, en faisant une comparaison avec les grains de pollens des espèces mellifères d'une collection de référence appartenant au laboratoire d'Aérobiologie et d'Apiculture de la Faculté des Sciences d'Ourense (Espagne). Par ailleurs, certaines bases de données telles que l'Atlas photographique ainsi que certains ouvrages ([Punt, 1976](#) ; [Moore et Webb, 1978](#) ; [Punt et Clarke, 1980](#) ; [Walter et al., 1983](#) ; [Punt et Clarke, 1984](#) ; [Valdés et al., 1987](#) ; [Punt et al., 1988](#) ; [Punt et Blackmore, 1991](#)) ont servi de guide d'identification. Le terme « type » indique tous les genres et espèces représentés par le même type morphologique. Seuls les pollens, correspondant avec certitude à une espèce végétale bien définie ont été nommés, par le genre et l'espèce auxquelles ils appartiennent. Après le recensement et le comptage des pollens dans une préparation, le pourcentage relatif a été calculé, afin d'établir le spectre pollinique. La nomenclature de [Zander \(1935\)](#) a été utilisée pour exprimer l'abondance relative de chaque type de pollen identifié dans le miel et qui les regroupe en classe de fréquence :

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.2.2. Etude des caractéristiques physicochimiques des miels

### III.2.2.1. Taux d'humidité (Teneur en eau)

La teneur en eau a été déterminée à partir de l'indice de réfraction du miel liquéfié, selon la méthode harmonisée par la commission internationale du miel (Bogdanov, 2002). À l'aide d'une spatule, une goutte de miel a été déposée sur la platine du prisme du réfractomètre de type (Abbe Refractometer AR4) et répartie en couche mince. La valeur de réfraction a été lue à 20 °C. Dans le cas où la mesure est effectuée à une autre température, la lecture doit être corrigée. La correction est additive si la mesure est faite au-dessus de 20°C, soustractive dans le cas contraire, le facteur de correction est de 0,00023 par degré Celsius. Cet indice a été ensuite converti en teneur en eau, en pourcentage tout en se rapportant au tableau de Chataway et al. (1932), indiqué en annexe 03.

### III.2.2.2. Conductivité électrique

La conductivité, du mial (CE), a été déterminée selon la méthode harmonisée par la commission internationale du miel (IHC, 2009). Les mesures ont été effectuées à 20°C dans une solution diluée à 20% par rapport à la matière sèche. Une masse de miel équivalente à  $M = (5 \times 100)/(100 - M')$  (ou  $M'$  est la teneur en eau du miel), a été dissoute dans quelques ml d'eau distillée fraîchement bouillie puis ajustée à un volume de 25 ml. La cellule du conductimètre a été introduite dans la solution de miel et la valeur de la conductivité électrique a été lue à  $20 \pm 0,5$  °C en millisiemens par centimètre (mS/cm).

### III.2.2.3. pH

La même solution préparée préalablement a été utilisée pour la détermination du pH. La mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre de type *Inolab pH 7110*, sur la solution de miel à 20°C.

### III.2.2.4. Teneur en Hydroxyméthyl-fulfural (HMF)

La teneur en HMF a été mesurée selon la méthode AOAC (2005), dont le principe est basé sur la détermination des absorbances UV de ce composé à 284 nm puis à 336 nm, en utilisant un spectrophotomètre (Jenway 6305 spectrophotomètre UV/Visible). Une masse de 5 g de miel a été dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Un volume de 0,5 ml de la solution carrez I a été ajouté à la solution suivie de 0,5 ml de la solution carrez II. Après homogénéisation, le mélange a été transféré dans une fiole de 50 ml, puis ajusté au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après filtration sur papier filtre, les premiers 10 ml ont été écartés. Dans deux tubes à essai distincts, 5 ml du filtrat ont été introduits à l'aide d'une pipette, puis dans l'un des tubes 5 ml d'eau



distillée (solution de l'échantillon) et dans l'autre 5 ml de bisulfite de sodium à 0,2% (solution de référence) ont été ajoutés. Après agitation, la lecture des absorbances a été faite à 284 et 336 nm par rapport à la solution de référence en utilisant un spectrophotomètre. La teneur en HMF a été calculée en mg pour 100 g de miel en appliquant la formule suivante :

$$HMF\text{ mg}/100g := \frac{(A_1 - A_2) \times f \times 5}{P}$$

$A_1$  : Absorbance mesurée à 284nm.

$A_2$  : absorbance mesurée à 336nm.

$P$  : poids de l'échantillon en g.

$f$  : 14,97 à exprimer en mg/100 g.

### III.2.2.5. Indice diastasique

La détermination de l'activité diastasique a été réalisée par spectrophotométrie, en utilisant la méthode [AOAC \(2005\)](#). Le principe de cette technique est basé sur le fait qu'une solution standard d'amidon est capable de développer une coloration bleue en interaction avec une solution d'iode. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase contenue dans la solution de miel. La diminution de la coloration bleue a été mesurée selon un intervalle de temps donné. Le temps  $t_x$ , temps nécessaire correspondant à une absorption de 0,235 a été déterminé à partir d'une courbe d'absorbance en fonction du temps ou par une équation de régression ([Hadorn et Zurcher, 1972](#)).

#### III.2.2.5.1. Préparation de l'échantillon

Une masse de 10 g de miel a été dissoute dans 20 ml d'eau distillée et 5 ml de tampon d'acétate (acétate de sodium «  $\text{CH}_3\text{COONa}$  », pH= 5,3). Le mélange a été versé dans un bécher de 50 ml contenant 3 ml de chlorure de sodium (0.5 M). Après homogénéisation, la solution a été ajustée à un volume de 50 ml.

#### III.2.2.5.2. Calibrage de la solution d'amidon

Cette opération a été effectuée pour déterminer la quantité d'eau à ajouter dans le mélange (solution de miel + solution d'amidon), dans le but d'avoir un spectre d'absorption compris entre 0,456 et 0,155 lors de la détermination de l'activité diastasique. De ce fait, 20, 21, 22, 23, 24, 25 ml d'eau distillée et 5 ml d'iode dilué ont été mis respectivement dans six tubes à essai. Dans chaque tube, 0,5 ml d'un mélange composé de 10 ml d'eau distillée et 5 ml de solution d'amidon chauffé dans un bain marie à 40°C, ont été ajoutés. Immédiatement après, l'absorbance a été lue à 660 nm. La quantité d'eau à adopter est celle parmi les six tubes qui ont donné une absorption se situant entre 0,745 et 0,770.



### III.2.2.5.3. Mode opératoire

Un tube et un flacon contenant, respectivement, 10 ml de la solution de miel et la solution d'amidon ont été chauffés dans un bain-marie à 40°C. Parallèlement, plusieurs tubes de capacité appropriée, contenant un mélange de 10 ml de  $7 \times 10^{-4}$  N d'iode et de la quantité d'eau déterminée lors de la calibration de la solution d'amidon ont été préparés. Après 15 minutes, 5 ml de la solution d'amidon ont été versés dans les tubes contenant la solution de miel (essai), et homogénéisés par agitation. A un intervalle de temps régulier et commençant 5 min après le début de la réaction, 0,5 ml du mélange a été prélevé et versé rapidement dans l'un des récipients contenant la solution d'iode préalablement préparée. Après avoir bien mélangé, l'absorbance a été déterminée immédiatement à 660 nm, contre un blanc. La procédure a été répétée jusqu'à l'obtention d'une absorbance inférieure à 0,235.

L'activité diastasique est exprimée en nombre de diastase (ND), puis calculée selon la formule suivante :  $ID = \frac{300}{T_x}$

$t_x$ : Temps nécessaire correspondant à une absorbance de 0,235 en minutes, Le temps pour  $A = 0,235$  est calculé à partir de l'équation de régression du graphe après la soustraction de l'absorbance du blanc.

### III.2.2.6. Détermination de la couleur

#### III.2.2.6.1. Système Pfund

Un colorimètre de type *HANNA Honey Colour C221* (Woonsocket, Rhode Island, USA) a été utilisé pour mesurer la couleur des miels. Environ 4 ml de miel ont été versés dans une cuve en plastique. Dans le cas où le miel est cristallisé ou peu liquide, un réchauffement à une température de moins de 45°C a été nécessaire, en utilisant un bain marie thermostaté et le laisser reposer quelques minutes afin d'éliminer les bulles d'air. La cuve a été ensuite placée dans le colorimètre préalablement calibré avec de la glycérine, et la lecture est effectuée. L'appareil affiche la valeur en millimètres à l'échelle Pfund (Tab. 08).

**Tableau 08 :** Echelle (mm Pfund) établie par l'USDA, pour la détermination de la

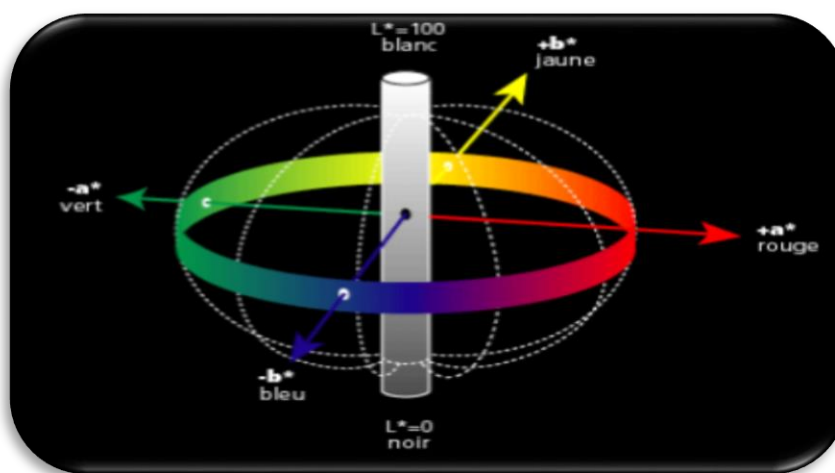
| Couleur           | Unité PFUND en mm |
|-------------------|-------------------|
| Blanc eau         | 0 - 8mm           |
| Extra blanc       | 8 - 16mm          |
| Blanc             | 16 - 34mm         |
| Ambré extra clair | 35 - 50mm         |
| Ambré clair       | 51 - 84mm         |
| Ambré             | 85 - 114mm        |
| Foncé             | 115 - 140mm       |



### III.2.2.6.2. Système CIE LAB

L'une des techniques de référence les plus précises pour déterminer la couleur est d'utiliser les coordonnées CIE Lab ( $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$ ). Le système de mesure CIE LAB est spécifié par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) et défini dans la norme [DIN 6174 \(2007\)](#). Il a été utilisé pour divers produits et aliments ([Heredia et Guzman, 1988](#)).

Les paramètres de couleurs des miels :  $L^*$  qui désigne la luminosité de l'échantillon (de 0, noir à 100, blanc),  $a^*$  qui représente la composante chromatique (rouge si  $a^*$  est positif et vert si elle est négative) et  $b^*$  qui désigne aussi la composante chromatique (jaune si elle est positive et bleu si elle est négative) ([Fig. 22](#)) ont été mesurés en utilisant un colorimètre Minolta Chroma Meter, CR-210 et paramétrés dans le système colorimétrique CIELab. Les valeurs de chromaticité s'étalent de 300 à 299. Le miel est versé dans des boîtes de Pétri en verre d'une capacité de 5 ml, diamètre 3,5 cm et 0,5 cm de hauteur. Les boîtes ont été ensuite déposées sur fond blanc et la mesure a été effectuée. Tous les échantillons ont été mesurés à l'état liquide. Comme précédemment, les échantillons cristallisés ont été liquéfiés, au moment de la prise de mesure, à une température inférieure à 45°C.



**Figure 25 :** Schéma des coordonnées colorimétriques  
« [Commission Internationale de l'Eclairage \(CIE, 1978\)](#) ».

### III.2.2.7. Dosage des sucres

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ( $^1\text{H}$ ) a été utilisée afin de quantifier les sucres dans le miel (fructose, glucose, sucrose, maltose, isomaltose, tréhalose, turanose et melezitose). Un nombre, de 59 échantillons de miels, a été soumis au laboratoire Michaud (France). Le principe de cette technique est que, beaucoup de noyaux ont une rotation et que tous les noyaux sont chargés électriquement. Si un champ magnétique





externe est appliqué, un transfert d'énergie est possible entre l'énergie de base et un niveau d'énergie supérieur (généralement un seul intervalle d'énergie). Le transfert d'énergie a lieu à une longueur d'onde correspondant aux radiofréquences et lorsque le spin revient à son niveau de base, de l'énergie est émise à la même fréquence. Le signal correspondant à ce transfert est mesuré de nombreuses manières et traité afin de produire un spectre RMN du noyau concerné.

Pour la mesure de RMN, le taux d'humidité du miel a été mesuré pour déterminer la quantité appropriée d'eau à ajouter afin de normaliser la matière sèche contenue dans chaque échantillon. Ensuite une petite quantité d'eau deutérées ( $^2\text{H}_2\text{O}$ ) a été ajoutée à la solution préalablement ajustée au pH 4,5. Toutes les mesures ont été faites par un spectromètre « Bruker Avance 400 Ultrashield » (BrukerBioSpin, Rheinstetten, Germany) équipé d'une sonde BBI de 5 mm avec une bobines de gradient-Z, utilisant un auto-échantillonneur « SampleXPress » (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Germany). L'expérience RMN  $^1\text{H}$  a été réalisée avec la suppression de l'eau par irradiation à la fréquence de l'eau pour retirer l'effet de l'environnement aqueux et augmenter le signal de l'échantillon. L'analyse montre le profil de résonance complet du proton  $^1\text{H}$  pour une identification semblable aux empreintes digitales pour les échantillons de miels et détermination de leurs caractéristiques chimiques en carbohydrates.

#### III.2.2.8. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé, en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu proposée par Singleton et Rossi (1965) et adaptée, pour le miel, par Singleton et al. (1999). C'est une méthode spectrophotométrique basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange de complexe d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) de couleur jaune, formant un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu. Cette coloration bleue produite, proportionnelle au taux de composés phénoliques, possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Le dosage des polyphénols totaux (PT) a été effectué par la comparaison de l'absorbance observée de l'échantillon à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentrations connues.

Un volume de 1 ml d'une solution de miel (0,3 g/ml), diluée dans de l'eau distillée, a été mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 10 ml d'eau distillée. Après 2 minutes d'incubation, 4 ml de  $\text{NaCO}_3$  ont été ajoutés et le mélange a été ajusté à un volume final de 25 ml avec de l'eau distillée. Tous les échantillons ont été incubés à la température ambiante, dans



l'obscurité pendant 1 heure et leurs absorbances ont été lues à 765 nm contre un blanc (4 ml  $\text{NaCO}_3$  + 1 ml de Folin-Ciocalteu, ajusté à 25 ml avec de l'eau distillée).

La teneur du miel en polyphénols totaux, exprimée en mg/100 g (mg GAE/100 g de miel), a été déterminée en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une série de dilutions d'acide gallique, allant de 10 à 500  $\mu\text{g/ml}$ .

#### III.2.2.9. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux a été mesurée par spectrophotométrie, en utilisant la quercétine comme standard de référence. Elle est déterminée selon la méthode décrite par [Arvouet-Grand et al. \(1994\)](#).

Un volume de 2 ml d'une solution de miel (0,33 g/ml) dilué dans de l'eau distillée a été mélangé avec 0,5 ml d'une solution méthanolique de trichlorure d'Aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), puis ajusté à un volume final de 25 ml avec de l'eau distillée. Après 10 minutes d'incubation, à 25°C, l'absorbance a été lue à 425 nm contre un blanc.

Comme précédemment, la concentration des flavonoïdes a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage linéaire. Cette dernière a été obtenue en utilisant le standard avec une série de dilutions allant de 2 à 10  $\mu\text{g/ml}$ . Enfin, la teneur, exprimée en mg EQ/100 g, a été déterminée en tenant compte du poids du miel utilisé.

### III.2.3. Etude des caractéristiques biologiques des miels

#### III.2.3.1. Activité Antioxydante

Pour mesurer l'activité antioxydante du miel nous avons opté pour la technique, dites « antiradicalaire » par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazil). Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Selon le protocole adapté par [Brand-Williams et al \(1995\)](#), un volume de 300  $\mu\text{l}$  d'une solution de miel (0,1 mg/ml), dilué dans le Méthanol, a été mélangé avec 2,7 ml de la solution de DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M). Le mélange a été ensuite incubé à une température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 517 nm contre un échantillon témoin constitué d'une solution de miel avec de l'eau distillée. L'absorbance d'un blanc est également mesurée en utilisant un mélange de 0,3 ml d'eau distillée à la place de la solution de miel et 7



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

$$RSA (\%) = [(A_B - A_T) / A_B] \times 100$$

Où :

$A_B$  = Absorbance du radical vierge (DPPH sans miel)

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

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

Le IC50 qui est la concentration de miel en mg/ml, requise pour réduire de 50% l'activité du DPPH (couleur), ou encore, la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et de DPPH et a été calculée par l'utilisation d'une courbe linéaire.

### III.2.3.2. Activité antibactérienne

L'expérimentation a été réalisée au niveau des laboratoires Vétérinaire Régional de Mostaganem ainsi que le laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis « LSTPA-Mostaganem ».

#### III.2.3.2.1. Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies de souches cibles, bien isolées, ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 heures sur milieu gélosé (GN), puis déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex. La suspension bactérienne a été ensuite standardisée à 0,5 Mc Farland, en utilisant un densitomètre.

#### III.2.3.2.2. Sensibilité des souches indicatrices aux ATB

La sensibilité des souches aux antibiotiques (ATB) a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) suivant les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010). Des boîtes de Pétri de gélose MH, préalablement coulées, ont étéensemencées avec l'inoculum des souches indicatrices par écouvillonnage. Des disques d'antibiotiques (ATB), de différentes familles, ont été ensuite disposés à la surface des milieuxensemencés. Les disques d'antibiotiques utilisés sont : Ampicilline (AMP) 10 µg, Amoxicilline + acide clavulanique (AMC) 30 µg, Chloramphénicol (C) 30 µg, Clyndamicine (CMN) 2 µg, Ciprofloxacine (CIP) 5 µg, Colistine (COL) 10 µg, Céfalo-tine (CEF) 30 µg, Erythromycine (E) 15 µg, Céfoxitine (FOX) 30 µg, Gentamicine (GMN) 10 µg, Kanamycine (KMN) 30 µg, Acide Nalidixique (Nal) 30 µg, Vancomycine (Van) 30 µg, Oxacilline (OXC) 1 µg, Triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT) 1,25/23,75 µg, Pénicilline



(P) 6 µg, Marbofloxacin (Mar) 5 µg, Neomycine (Neo) 30 µg, Amoxycilline (AMX) 25 µg et Nitrofurantoin (FTN) 30 µg. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'ATB ont été mesurés en mm à l'aide d'un pied à coulisse métallique.

#### III.2.3.2.3. Méthodes d'évaluation du pouvoir antibactérien

Les méthodes utilisées, pour l'évaluation de l'activité antibactérienne *in-vitro* des miels, étaient celles de la diffusion dans la gélose (méthodes des puits et des disques).

##### a. Méthode des puits (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

Des boîtes de Pétri de gélose nutritive (GN), préalablement coulées et solidifiées, ont été ensemencées avec l'inoculum des souches indicatrices précédemment préparées ( $10^7$  UFC/ml) par écouvillonnage. Ensuite, des puits de 5 mm de diamètre espacés de 24 mm centre à centre ont été creusés à l'aide d'un emporte-pièce et sellés par la même gélose (G.N). Ces derniers, remplis de 100 µl de miel brut pendant 2 heures pour permettre une meilleure diffusion de la substance active, ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures. L'action inhibitrice du miel se manifeste par la formation d'un halo clair autour des puits. La lecture de l'activité antibactérienne a été faite par la mesure du diamètre, en millimètre, de la zone d'inhibition autour des puits à l'aide d'un pied à coulisse métallique.

##### b. Méthode des disques

Après avoir ensemencé les boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (G.N) (4 mm d'épaisseur) par des suspensions bactériennes précédemment préparées, des disques de papier Whatman (5 mm de diamètre) stériles imbibés pendant 10 minutes de miel, ont été déposés stérilement sur la surface avec un espacement de 24 mm centre à centre. Après diffusion du miel durant 1 heure, les boîtes ont été incubées à 37° C durant 18 à 24 heures. La lecture des résultats a été faite par la mesure, à l'aide d'un pied à coulisse, du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque.

#### III.2.3.3. Effet anti-adhésion des miels

Cette étude a été effectuée au niveau du laboratoire : Microbes Intestin Inflammatoire et Susceptibilité de l'Hôte « M2ISH », Université de Clermont Ferrand (France). L'objectif était d'évaluer *in vitro* la capacité des miels à inhiber l'adhésion des souches AIEC aux cellules épithéliales intestinales.



### III.2.3.3.1. Souche bactérienne testée

La bactérie « AIEC » la LF<sub>82-luc</sub> a été cultivée à 37°C sans agitation en milieu liquide LB pendant 18 heures. Une dilution appropriée a été effectuée afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à 10<sup>8</sup> UFC/ml par ajustement de l'absorbance à une densité optique de 0,1 à une longueur d'onde de 620 nm.

### III.2.3.3.2. Culture cellulaire

La culture des cellules T84 a été effectuée dans 25 ml de milieu de culture (DMEM-F12) dans des flasques T75 et incubées à 37° C sous 5% de CO<sub>2</sub>. Des passages sont effectués deux fois par semaines (lorsque les cellules ont atteint 80% à 100% de confluence). Les cellules sont alors rincées deux fois avec 10 ml de PBS, puis décollées de la surface des flasques grâce à 800 µl d'une solution de trypsine à 0,05%. Après 4 min d'incubation à 37°C, la flasque est tapotée de manière à être sûre que les cellules se décollent bien de la paroi de la flasque. La trypsination est ensuite stoppée par ajout de 10 ml du milieu de culture à la suspension. Après une homogénéisation rigoureuse, 5 ml de cette suspension sont prélevés et mis dans une autre flasque contenant environ 20 ml du milieu frais supplémenté des ATB afin d'éviter les contaminations dans une nouvelle flasque dans les conditions décrites précédemment puis incubée à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>.

### III.2.3.3.3 Test d'inhibition de l'adhésion

Le test d'inhibition de l'adhésion a été effectué, également, sur des cultures en plaques de 24 puits.

Le protocole utilisé est présenté comme suit :

Un volume de la suspension cellulaire est utilisé comme inoculum. Quinze microlitres de cette suspension est prélevés et déposés dans les lames de comptage **kova**. Après dénombrement des cellules à l'aide d'un microscope inverse, la concentration cellulaire dans la suspension a été calculée. Le volume nécessaire de suspension afin d'avoir 7 x 10<sup>5</sup> cellules/ml est transféré dans un tube contenant du milieu frais sans antibiotique de façon à obtenir un volume final de 26 ml. Au final, 1 ml de la suspension cellulaire a été mis dans chaque puits. Après 48 heures d'incubation à 37°C, dans une atmosphère humide contenant 5% de CO<sub>2</sub>, une monocouche de T84 a été obtenue dans chaque puits. Le milieu de culture a été alors éliminé et les tapis cellulaires ont été lavés deux fois délicatement au PBS. Les cellules ont été infectées par 25 µl de la suspension bactérienne lf82-luciférase (MOI10) en présence de 975 µl de la solution de miel dilué à 1%. Une infection cellulaire avec la lf82 sans traitement avec le miel (témoin



positif) ainsi qu'une culture cellulaire ordinaire sans infection et sans ajout de miel (témoin négatif), sont également préparées. Après 3 heures d'incubation à 37° C, le surnageant est écarté et les bactéries non adhérentes sont éliminées par 4 lavages des tapis cellulaires au tampon PBS. Un volume de 1 ml de PBS est mis dans chaque puits. La luminescence a été mesurée dans les plaques de culture à l'aide d'un luminomètre « Centro LB 960 microplate luminometer » (Berthold, Thoiry, France). Les résultats sont exprimés en unité de luminescence relative (RLU). La luminescence de chaque puits, réalisée au minimum en duplicata, est proportionnelle au taux de bactéries adhérentes aux cellules. Les valeurs obtenues sont converties en pourcentage (%) pourcentage de taux d'inhibition de l'adhésion de la LF82-luc aux cellules T84.

### **III.2.4. Identification et étude de l'activité antibactérienne de Lactobacilles isolés à partir de miels**

Dans cette partie, seuls les échantillons de miels considérés comme « Frais », c'est-à-dire dont la récolte ne dépassait pas 15 jours, ont été étudiés.

#### **III.2.4.1. Préparation de la solution de miel**

Un aliquote de 10 g de chaque échantillon, pesé aseptiquement, a été mis en suspension dans un sac stérile contenant 90 ml d'eau physiologique, puis homogénéisé pendant 3 minutes à l'aide d'un broyeur homogénéisateur (Stomacher).

#### **III.2.4.2. Isolement des lactobacilles à partir de miel**

Un pré-enrichissement a été réalisé par incubation à 30°C de deux tubes à essai, contenant chacun 9 ml de bouillon MRS et 1 ml de la solution de miel, préalablement préparé. Quelques gouttes de paraffine ont été ajoutées à l'un des tubes pour être en condition d'anaérobiose. Après croissance, une série de dilution avec de l'eau peptonée (0,1% p/v), allant de  $10^{-1}$ - $10^{-5}$ , a été réalisée. Chaque suspension (0,1ml) a été, ensuite, prélevée et étalée à l'aide d'un râteau sur différents Milieux : MRS Agar (De Man et al., 1960), MRS Agar supplémenté de  $\text{CaCO}_3$  0,8%, MRS Agar supplémenté de L-cystéine 0,1% et Fructose 2% et le milieu Rogosa. Toutes les boîtes de Pétri ont été incubées dans des conditions d'anaérobies à 37°C, pendant 48 heures.

#### **III.2.4.3. Pré-identification (screening)**

Après incubation, des colonies de différentes morphologies ont été sélectionnées selon des critères phénotypiques à savoir, examen de l'aspect macroscopique des colonies, coloration de Gram et l'activité de la catalase. En se référant aux caractéristiques connues du manuel de Bergey de Bactériologie systématique (Hensyl, 1994), Seules les bactéries présentant un aspect





typique des colonies de bactéries lactiques, négative pour la catalase, positive pour la coloration de Gram et de forme bâtonnet ont été retenues pour la suite de notre travail. Ces bactéries ont été présumées faisant partie du genre *lactobacillus*.

#### III.2.4.3.1. Analyse macroscopique

Il s'agit d'une observation à l'œil nu des colonies sur la surface des milieux MRS agar ; caractérisation de la forme, la taille, le contour et la couleur (Badis et al., 2005). Seules les colonies présentant un aspect typique des bactéries lactiques ont été sélectionnées.

#### III.2.4.3.2. Test de catalase

Il consiste à mettre sur une lame stérile une goutte d'eau oxygénée (3%), dans laquelle sera dissociée une colonie d'une souche définie. Cette dernière est dite catalase positive (possède l'enzyme catalase) s'il y'a formation de bulles d'air, alors que le contraire indique qu'elle est catalase négative (Marchal et al., 1991).

#### III.2.4.3.3. Coloration de Gram

Elle permet de différencier les bactéries à Gram<sup>+</sup> de celle à Gram<sup>-</sup>, et d'apporter des renseignements sur leurs formes et leur mode d'association. Sur chacune des lames, sur lesquelles les souches sont fixées, quelques gouttes de violet de gentiane ont été déposées et laissées agir pendant 1min. Après rinçage à l'eau, du Lugol a été déposé pendant 1mn pour le mordantage, suivi d'une décoloration par l'alcool 95° pendant 30s et rinçage. Enfin, un deuxième colorant (fushine de Ziehl) a été déposé pendant 30s (Larpent et Larpent, 1990). Après le dernier lavage et séchage des lames, l'observation a été réalisée au microscope optique (x 100) avec l'utilisation de l'huile d'immersion.

#### III.2.4.3.4. Purification et conservation des isolats

Les isolats obtenus après sélection ont été purifiés par des repiquages successifs sur milieu MRS agar jusqu'à l'obtention de colonies homogènes, pur et bien distinctes, puis conservés dans le lait écrémé avec 15% de glycérol pour les études ultérieures à -20°C.

#### III.2.4.4. Identification des isolats au niveau de l'espèce

Deux approches ont été utilisées, la première, réalisé, au niveau du C.H.U de Clermont Ferrand (France), est une approche protéomique par l'utilisation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF et la deuxième, réalisé au niveau du laboratoire DIAG-GENE (Angers, France), est génotypique par l'utilisation de la Biologie moléculaire.



#### III.2.4.4.1. Identification de l'espèce par MALD-ITOF-MS

L'identification par MALDI-TOF MS (ionisation par désorption au laser assistée par matrice/temps de vol, spectrométrie de masse) a été réalisée au C.H.U de Clermont-Ferrand, Laboratoire de Bactériologie Clinique par l'utilisation du système Vitek MS (Biomerieux, la Balme, France). Le principe général est basé sur l'étude du déplacement d'entités ioniques dans des champs électromagnétiques, ce qui permet l'identification des bactéries grâce à l'analyse de leur contenu protéique (Claydon et al., 1996). La procédure d'identification a été effectuée conformément aux instructions du fabricant. Une colonie de chaque microorganisme sélectionné, cultivé fraîchement sur le milieu gélose au sang a été prélevée et déposée sur une lame de cible Vitek MS-DS, puis immédiatement recouverte de 1 µl d'une solution de matrice (HCCA)  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic. Pour la calibration, une colonie d'une souche de référence d'*E. coli* 8739 a été déposée dans le puits prévu à cet effet, puis suivie de 1 µl de matrice. L'emplacement de chaque bactérie sur la lame est indiqué dans la Prep Station. Celui-ci est un module constitué d'un ordinateur et d'un scanner optique servant à introduire les différentes données des échantillons, notamment les bactéries et leur emplacement sur la lame. La Prep Station est reliée au programme Myla qui intègre et gère les résultats du Vitek MS. Une fois la lame terminée, elle est introduite dans le Vitek MS afin de lancer l'analyse. Les spectres obtenus ont été traités par le logiciel MYLA (Biomerieux, France) et comparés de manière automatique avec les spectres présents dans la banque de données. Les résultats sont affichés sous forme de pourcentage d'identification (Score) au niveau du genre et de l'espèce pour chaque souche.

#### III.2.4.4.2. Identification de l'espèce par la Biologie moléculaire (amplification et séquençage de l'ADNr 16S)

L'identification moléculaire des bactéries est basée, sur l'analyse de la séquence du gène ARNr 16S. Le résultat est comparé avec la banque de données GenBank (Nucleotide), au niveau du site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=nucleotide>), en Europe (<http://www.ebi.ac.uk/>). Ce sont des banques de données publiques que l'on peut consulter librement sur internet.

Les étapes principales de l'identification moléculaire sont :

- a) Extraction de l'ADN génomique à partir des isolats bactériens ;
- b) Amplification de l'ADN par PCR ;
- c) Électrophorèse sur gel d'Agarose ;



## d) Séquençage de l'ADN.

## a. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN bactérien a été faite par choc thermique (Dashti et al., 2009). Celle-ci repose sur une lyse cellulaire thermique. A partir d'une culture fraîche de bactéries sélectionnées, ensemencées sur gélose MRS, quelques colonies ont été mises en suspension dans 1 ml d'eau distillée stérile. Vortexée, puis chauffée dans un bain marie pendant 10 minutes à 95°C, cette suspension a été ensuite transférée directement dans la glace pendant 15 minutes. Après une centrifugation de 10 mn à 13000 tr/mn, le surnageant a été retiré et conservé à -20°C pour son utilisation ultérieure. La quantité et la qualité des extraits d'ADN ont été contrôlées par Spectrophotomètre NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Etats-Unis).

## b. Amplification de l'ADN par PCR

L'amplification des fragments d'ADN par la technique de la PCR a été réalisée dans un thermocycleur iCycler de Biorad (Biorad, USA), par l'utilisation des amorces universelles, spécifiques pour le règne bactérien, décrites par Lane (1991) et synthétisées par Euro fins Genomique (France), qui permettent d'amplifier le fragment d'ADN codant la région 16S rDNA (1.5 Kb).

27f (forward): 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3'

1492R (Reverse): 5' GGTTACCTTGTTACGACTT 3'.

Cette technique consiste à introduire un volume de 4 µl de l'ADN génomique, obtenu par extraction dans un Eppendorf, additionné à un volume de 25 µl d'une mixture réactionnelle contenant tous les réactifs nécessaires pour l'amplification PCR (Tab. 09).

**Tableau 09** : Volumes des composants de la solution mixte utilisée pour l'amplification de l'ADNr 16s

| Réactifs                               | Concentrations<br>Initiales | Concentrations<br>Finales | Volumes à<br>prélever |
|----------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Eau ultra pure                         |                             |                           | 11,6                  |
| Tampon de Taq<br>Promega               | 5X                          | 1X                        | 5 µl                  |
| MgCl <sub>2</sub>                      | 25mM                        | 1,5mM                     | 1,5µl                 |
| dNTP                                   | 25mM                        | 0,2mM                     | 0,2µl                 |
| Amorce 27F                             | 10µM                        | 0,5                       | 1,25µl                |
| Amorce 1492R                           | 10µM                        | 0,5                       | 1,25µl                |
| Taq polymérase<br>Promega              | 5U                          | 1U                        | 0,2µl                 |
| ADN génomique (Suspension Bactérienne) |                             |                           | 4µl                   |
| Volume final                           |                             |                           | 25µl                  |



Après avoir placé les tubes contenant l'ADN bactérien dans le thermocycleur, une pré-dénaturation à 95°C pendant 5 minutes a été entamée. Ensuite, le programme d'amplification a été exécuté selon trois étapes répétées en 35 cycles définis :

- Dénaturation à 95°C pendant 30 secondes ;
- Hybridation des amorces à 58°C pendant 30 secondes ;
- Elongation (polymérisation) à 72°C pendant 45 secondes ;

Et Enfin, une étape d'extension finale est réalisée à 72°C pendant 7 minutes.

### c. Electrophorèse

Afin de visualiser les amplicons, une électrophorèse, sur gel d'Agarose à 1,5% des produits de PCR a été réalisée. Les gels d'Agarose ont été préparés en utilisant le tampon TBE (0,5X), en présence du Bromure d'Ethidium (BET) à 0,5mg/ml. Les amplicons ont été mélangés avec le tampon de dépôt (4/1 ; v/v) avant d'être déposés dans les puits du gel. Le marqueur de poids moléculaire *Smart ladder* MW-1700-10 (échelle de 200 à 10000 pb, Eurogentec) a été utilisé comme standard de taille. Après la migration, les bandes ont été visualisées et photographiées sous lumière UV.

### d. Séquençage

Le séquençage de l'ADN amplifié et purifié a été réalisé par Eurofins genomic (France), selon la méthode de SANGER et al. (1977) en utilisant le kit BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems) et les amorces universelles (27F et 1492R). Les séquences obtenues ont été alors comparées 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.2.4.4.3. Etude du pouvoir antibactérien des lactobacilles

Dans cet essai, deux souches de référence ont été choisies. Il s'agit d'*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette étude a été réalisée par les tests suivants :

- Méthode de double couche ([Fleming et al., 1975](#)) ;
- Méthode des puits ([Barfoot et Klaenhammer, 1983](#)).

##### III.2.4.4.3.1. Méthode de double couche

Ce test consiste à ensemencer en touche un volume de 5 µl de la culture fraîche, de 18 heures de chaque bactérie lactique, sur une gélose MRS. Les boîtes ont été laissées à la température ambiante pour permettre aux spots de se dessécher, avant de les incuber à 37°C pendant 24 heures. En parallèle, une culture fraîche de bactérie pathogène à tester a été préparée dans 9 ml du bouillon nutritif et incubée à 37°C pendant 18 heures. Après incubation, 9 ml de gélose nutritive (G.N) en surfusion ont été inoculés par 0,5 ml de la souche pathogène. Puis, le



mélange a été ensuite coulé dans les boîtes pré-incubées. Les boîtes ont été incubées à 37°C / 24 heures une deuxième fois. L'activité antibactérienne est révélée par l'apparition de zones claires autour des spots. Le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré en millimètre.

#### **III.2.4.4.3.2. Méthode des puits**

Cette méthode permet de mettre en contact le surnageant de la souche lactique productrice de substances antimicrobiennes avec la souche test. Les isolats, de bactéries lactiques précédemment, sélectionnés ont été cultivés dans le milieu MRS liquide et incubés pendant 18 heures. Après incubation, la culture bactérienne a été centrifugée (6000 rpm/20 mn) et le surnageant a été récupéré. Dans une boîte de Pétri contenant du MRS solide et ensemencée en masse par la souche test (pathogène), des puits ont été creusés avec un emporte pièces et sellés par 10 µl de gélose MRS. Les puits recevront 100 µl de surnageant de la souche lactique et les boîtes ont été incubées pendant 24 à 48 heures. Les puits entourés d'une zone claire dans la nappe de culture de la souche test ont été considérées comme comportant des substances antimicrobiennes. La taille des zones d'inhibition produites a été mesurée en millimètres.

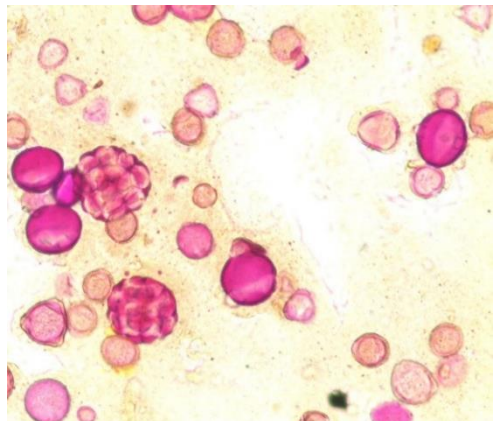
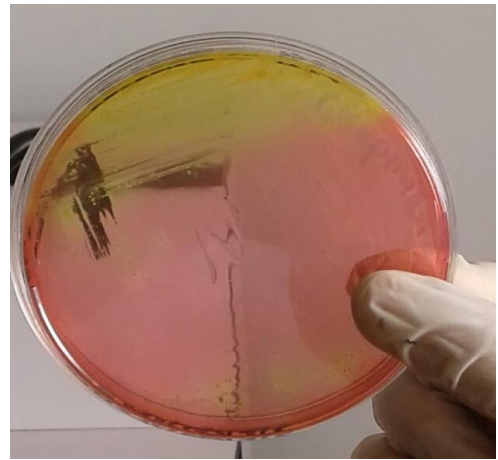
#### **III.2.5. Analyse statistique des données**

Les Résultats des différents paramètres obtenus pour chaque miel étudié ont été traité statistiquement par le logiciel « SPSS » en utilisant l'origine botanique ainsi que les zones d'études comme facteur de variation. Des analyses descriptives (moyenne, écart-type, quartiles et l'étendue, ...), sous forme de boîte à moustache, des analyses de la variance (ANOVA) à un seul facteur ainsi que le test de corrélation entre les différents paramètres ont été effectuées. Pour réaliser l'arbre phylogénétique nous avons utilisé le logiciel Mega 4.

---

# IV. Résultats Et Discussion

---





## IV.1 Analyse pollinique

### IV.1.1. Analyse pollinique quantitative

Les résultats de cette analyse portant sur la richesse pollinique des échantillons étudiés ainsi que leur classification selon [Maurizio \(1975\)](#) sont récapitulés dans le [tableau 10](#). Les échantillons des miels pauvres et moyennement riches en pollen, appartiennent respectivement à la classe I (< 20 000 grains) et II (20 000 < grains < 100000), et ceux qui sont riches (100 000 < grains < 500.000), très riches (500 000 < grains < 1 Million), ou extrêmement riches (> 1 million de grains), appartiennent respectivement aux classes III, IV et V. Le nombre de grains de pollens dans les miels analysés est très variable avec une moyenne de  $1,93 \times 10^5$  grains /10 g. La plus faible teneur est enregistrée dans l'échantillon E<sub>51</sub>, collecté de la région de Tizi-Ouzou (162 GP/g). Tandis que la plus élevée (271.475 GP/g) est notée par l'échantillon provenant de la région de Mostaganem (E<sub>52</sub>).

**Tableau 10** : Résultats des analyses polliniques quantitatives

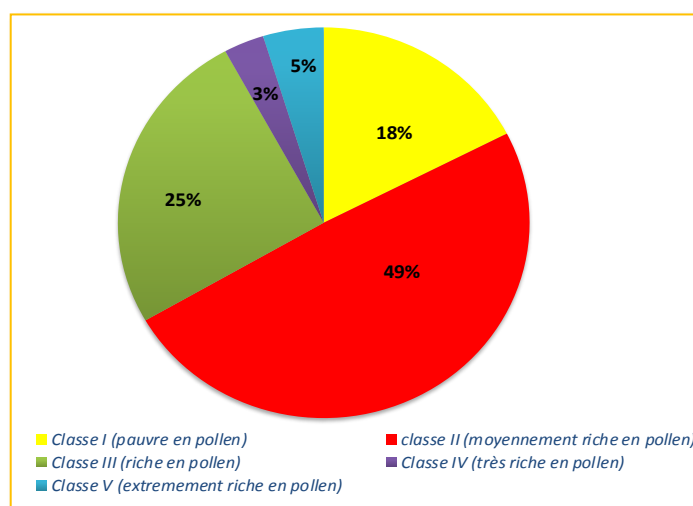
| Miels           | GP/g   | Classes | Miels           | GP/g  | Classes | Miels           | GP/g   | Classes |
|-----------------|--------|---------|-----------------|-------|---------|-----------------|--------|---------|
| E <sub>1</sub>  | 1975   | I       | E <sub>22</sub> | 6625  | II      | E <sub>43</sub> | 7550   | II      |
| E <sub>2</sub>  | 1225   | I       | E <sub>23</sub> | 8100  | II      | E <sub>44</sub> | 6725   | II      |
| E <sub>3</sub>  | 21925  | III     | E <sub>24</sub> | 3450  | II      | E <sub>45</sub> | 6125   | II      |
| E <sub>4</sub>  | 13475  | III     | E <sub>25</sub> | 1375  | I       | E <sub>46</sub> | 112850 | v       |
| E <sub>5</sub>  | 9850   | II      | E <sub>26</sub> | 775   | I       | E <sub>47</sub> | 7975   | II      |
| E <sub>6</sub>  | 6800   | II      | E <sub>27</sub> | 8675  | II      | E <sub>48</sub> | 8625   | II      |
| E <sub>7</sub>  | 2125   | II      | E <sub>28</sub> | 4125  | II      | E <sub>49</sub> | 5675   | II      |
| E <sub>8</sub>  | 62400  | IV      | E <sub>29</sub> | 55900 | IV      | E <sub>50</sub> | 1675   | I       |
| E <sub>9</sub>  | 3250   | I       | E <sub>30</sub> | 30000 | III     | E <sub>51</sub> | 162    | I       |
| E <sub>10</sub> | 189575 | V       | E <sub>31</sub> | 4950  | II      | E <sub>52</sub> | 271475 | V       |
| E <sub>11</sub> | 5050   | II      | E <sub>32</sub> | 19075 | III     | E <sub>53</sub> | 3475   | II      |
| E <sub>12</sub> | 4000   | II      | E <sub>33</sub> | 14875 | III     | E <sub>54</sub> | 2275   | II      |
| E <sub>13</sub> | 825    | I       | E <sub>34</sub> | 775   | I       | E <sub>55</sub> | 18050  | III     |
| E <sub>14</sub> | 35250  | III     | E <sub>35</sub> | 11400 | III     | E <sub>56</sub> | 1425   | I       |
| E <sub>15</sub> | 6250   | II      | E <sub>36</sub> | 13300 | III     | E <sub>57</sub> | 1575   | I       |
| E <sub>16</sub> | 2575   | II      | E <sub>37</sub> | 22075 | III     | E <sub>58</sub> | 2175   | II      |
| E <sub>17</sub> | 2750   | II      | E <sub>38</sub> | 16000 | III     | E <sub>59</sub> | 2350   | II      |
| E <sub>18</sub> | 4250   | II      | E <sub>39</sub> | 11600 | III     | E <sub>60</sub> | 1350   | I       |
| E <sub>19</sub> | 41775  | III     | E <sub>40</sub> | 35900 | III     | E <sub>61</sub> | 10025  | III     |
| E <sub>20</sub> | 2350   | II      | E <sub>41</sub> | 37100 | III     | E <sub>62</sub> | 6125   | II      |
| E <sub>21</sub> | 6625   | II      | E <sub>42</sub> | 6750  | II      | E <sub>63</sub> | 2925   | II      |

GP/g : Grains de pollens par gramme de miel

Selon [Aronne et De-Micco \(2010\)](#) ; [Escuredo \(2012\)](#), la variation de la richesse en pollen est sous l'influence du mode d'extraction. C'est ainsi que les miels extraits par pressage "*miels*

*Artisanaux*'' sont beaucoup plus riches en pollen que ceux extraits par centrifugation, car ces derniers dits ''*miels industriels*'' subissent plusieurs opérations de filtration, induisant par conséquent l'élimination d'une grande partie de grains de pollen. En effet, les résultats obtenus corroborent cette constatation. Comparativement aux miels extraits par centrifugation, ceux extraits manuellement par pressage sont cinq fois plus riches en pollens avec respectivement des moyennes de l'ordre de 8875 et 43614 GP/g de miel. De plus, tous les miels caractérisés comme très riches ou extrêmement riches (E<sub>08</sub> - E<sub>29</sub> - E<sub>10</sub> - E<sub>52</sub> - E<sub>46</sub>) sont obtenus manuellement par pressage des rayons. D'autres facteurs peuvent également influencer la variation du taux de pollen dans le miel tels que le changement du couvert végétal, la texture du sol et sa richesse en matière organique et en éléments minéraux qui déterminent considérablement l'intensité de la sécrétion nectarifère et pollinifère, la nourriture de l'abeille (Amri, 2015). La succession de plusieurs journées de beaux temps et un temps pluvieux au moment de la floraison favorisent la production de grains de pollen (Louveau, 1985). Le climat est également un élément important conditionnant la sécrétion mellifère et pollinifère (Prost, 1987). Les chercheurs ont constaté l'existence d'une corrélation entre la taille en grains et la teneur absolue (Persano-Oddo et Bogdanov, 2004). D'après Chefrou (2008), la richesse en pollen d'un miel, apparaît indispensable pour caractériser l'origine botanique des miels.

Sur les 63 échantillons de miels analysés (Fig. 26), 48% sont moyennement riches en pollen, 25% sont des miels pauvres en pollen, 19% sont riches en pollen, 5% sont très riches et enfin 3% de miels extrêmement riches en pollen.



**Figure 26** : Classe de richesse en pollen des miels étudiées

En concordance avec nos résultats, les miels algériens étudiés par Hadj-Said et al. en 2009 ainsi que Makhloufi et al. en 2015, sont pour la plupart moyennement riches en pollen. Des résultats similaires ont également été rapportés pour les miels espagnols (Ortiz-Valbueana.

1991). En revanche une étude récente menée par Laallam (2018) sur 62 miels collectés dans le sud algérien indique que la majorité des échantillons sont riches en pollen et appartiennent donc à la classe III. De même, il a été signalé que la plupart des miels turcs sont riches en pollen, renfermant, entre 100.000 et 500.000 grains de pollen par gamme de miel (Özler, 2015). D'un autre côté, l'analyse pollinique de 140 miels argentins a révélé que 71% des échantillons sont pauvre en pollen (Forcone, 2008).

## IV.1.2. Analyse pollinique qualitative

### IV.1.2.1. Nombre des formes polliniques et leurs densités relatives par échantillon

Au total 107 types polliniques ont été répertoriés, dont 16 proviennent d'espèces considérées comme non nectarifères et 91 nectarifères (Annexe 1). Le nombre des taxons recensés est légèrement inférieur à celui indiqué par Makhloufi et al. (2010) qui a identifié 124 formes polliniques à partir de 66 échantillons de miel algérien. Cette variation peut s'expliquer par le nombre d'échantillons analysés. La densité relative de pollens par taxon peut varier d'un échantillon à un autre. Ainsi, 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 ( $<3\%$ ) dans un autre. Dans cette étude, 13 taxons atteignent la classe de pollen dominant dans les miels (*Eriobotrya japonica*, *Erica arborea*, *Coriandrum sativum* t, *Hedysarum coronarium*, *Tamarix*, *Foeniculum vulgare* t, *Genista* t, *Ziziphus lotus*, *Brassica napus* t, *Olea europaea*, *Eucalyptus*, *Punica granatum*, *Capparis*) soit 12,26% de l'ensemble des formes polliniques répertoriés. Par ailleurs 24 taxons, soit 22,64%, se présentent sous forme de pollen d'accompagnement : *Globularia*, *Asparagust*, *Myrtaceae*, *Paronychia argentea* t, *Chamaerops*, *Phoenix dactylifera*, *Phacelia*, *Capparis*, *Citrus*, *Melilotus* t, *Punica granatum*, *Centaurea* t, *Pimpinella anisum* t, *Coriandrum sativum* t, *Hedysarum coronarium*, *Tamarix*, *Foeniculum vulgare* t, *Genista* t, *Ziziphus lotus*, *Echium*, *Brassica napus* t et *Olea europaea*. Soixante et un (61) taxons se présentent sous forme de pollens isolés importants. Le groupe des pollens isolés rares renferment 104 des 107 types polliniques répertoriés dont 42 représentés, exclusivement, en cette classe de fréquence, dont *Taraxacum officinale* t, *poacea*, *Casuarina*, *Prunus*, *Cyperus*. Cela semble confirmer l'opinion selon laquelle la variabilité est toujours faible parmi les espèces de pollens des groupes dominants, tandis qu'elle est plus grande chez les groupes de pollens mineurs rares, mineurs importants et secondaires.

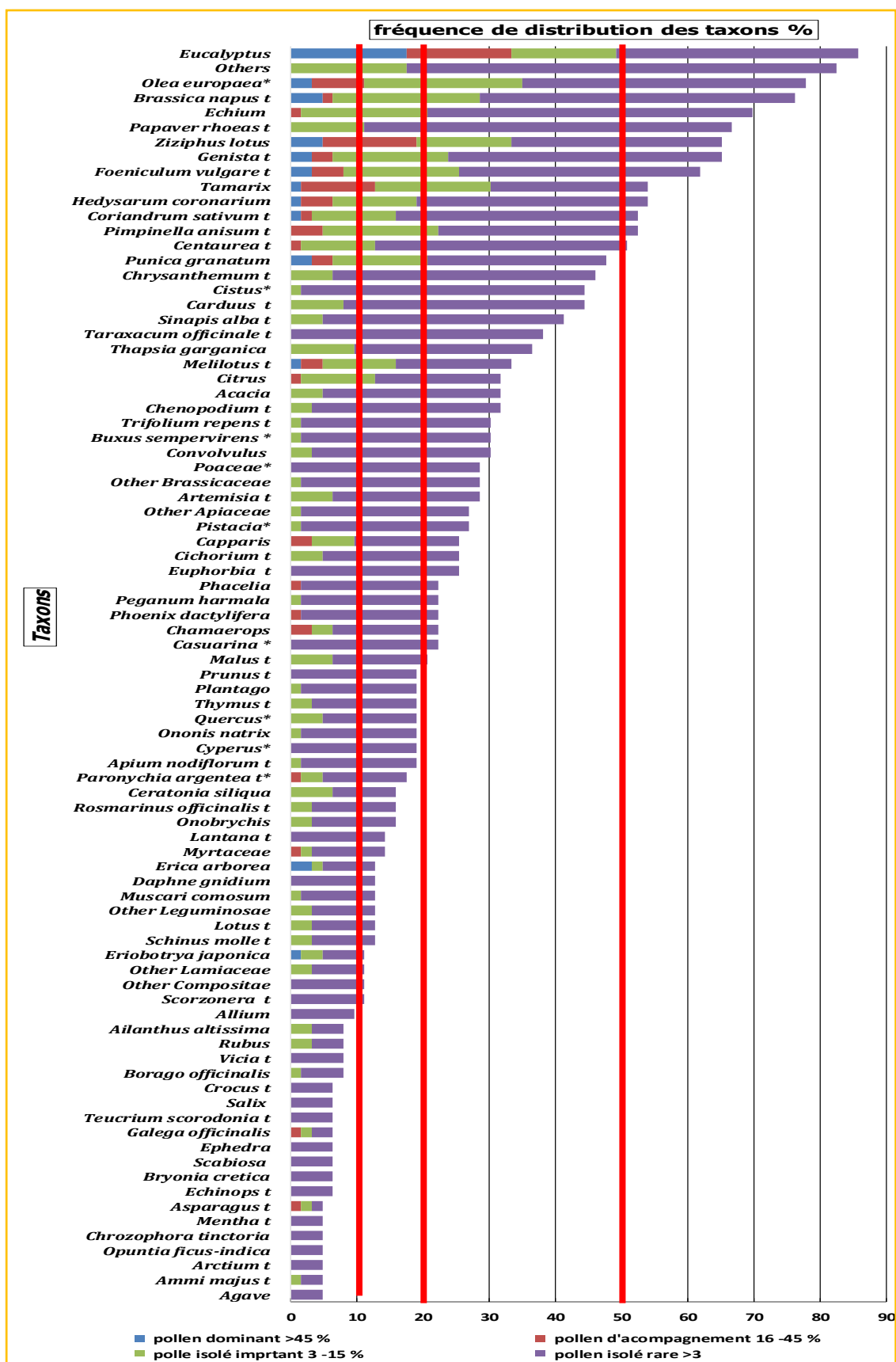
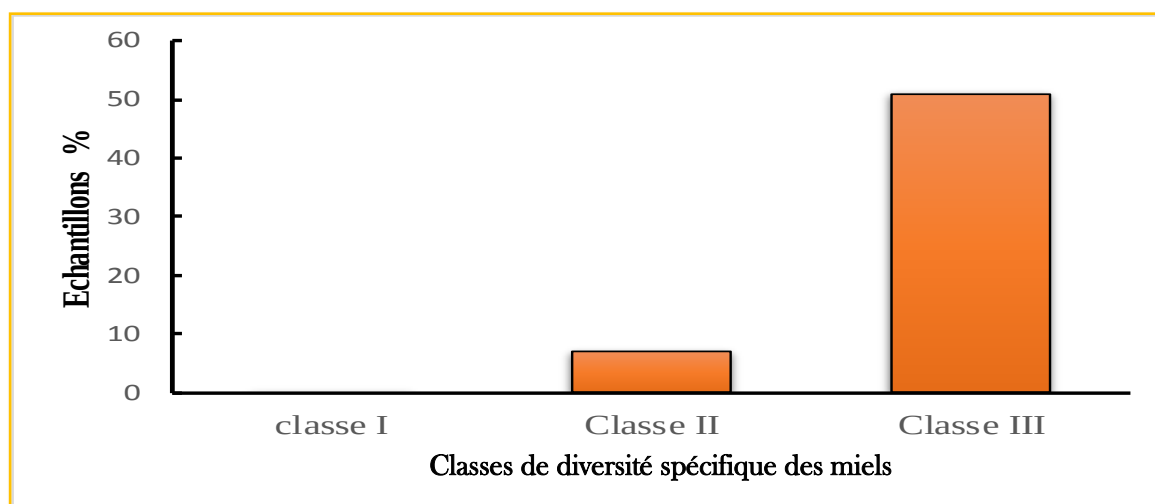


Figure 27 : Fréquences et densités relatives des principaux pollens

#### IV .1.2.2. Diversité taxonomique spécifique

La richesse (diversité) spécifique est le nombre de types polliniques identifiés par échantillon de miel analysé. Elle varie de 12 à 35 formes, avec une moyenne de  $22,25 \pm 6,25$ . Les plus faibles valeurs sont attribuées aux échantillons E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub> et E<sub>9</sub> provenant, respectivement, des régions de Mostaganem, Blida et Sidi Bel Abbès. Alors que la plus élevée est observée dans l'échantillon E<sub>35</sub> de la région de Saida (Annexe 1). Suivant cette diversité taxonomique, trois classes de miels sont distinguées. Il s'agit de miels très pauvres (moins de 5 types polliniques), miels pauvres (5-15 types polliniques) et miels riches (> 15). Dans la présente étude, 19% seulement des miels appartiennent à la classe II et 81% à la classe III (Fig. 28), alors qu'aucun échantillon de la classe I n'est obtenu.



**Figure 28 :** Les différentes classes de formes polliniques des miels analysés

Ces résultats sont largement supérieurs à ceux obtenus par [Makhloufi et al. \(2015\)](#). Ils indiquent une moyenne du nombre de formes polliniques de 14,57%, dont la moitié renferme entre 14 et 18 formes polliniques. Alors que 64% des miels d'Anatolie en Turquie appartiennent à la catégorie comprise entre 20 à 28 formes, mais d'autres atteignent jusqu'à 36 formes ([Silici et Gökceoglu, 2007](#)). La majorité des miels canadiens appartiennent à la catégorie comprenant de 15 à 25 formes polliniques ([Feller-Demalsy et Parent, 1989](#)). En Afrique, la diversité des formes polliniques spécifiques du Bénin sont comprises entre 43 et 45 formes ([Tossou et al., 2011](#)). Cette différence de diversité taxonomique d'un échantillon à un autre peut s'expliquer par la richesse floristique de la zone de butinage des abeilles et reflète la diversité des espèces botaniques dans chaque région. D'autres facteurs influencent également cette diversité ; le climat, la saison de récolte et l'intensité de butinage.

### IV.1.2.3. Spectre de fréquence des types polliniques des miels analysés

Parmi les 107 taxons répertoriés, 13 sont classés comme très fréquents (présents dans plus de 50% des échantillons), 28 fréquents (présents dans 20 à 50% des échantillons) et 23 sont peu fréquents (présents dans 10 à 20% des échantillons). Les 42 autres taxons restant sont considérés comme « rares » avec des taux de présence <10% (Fig.29, Tab11).

**Tableau 11 :** Fréquence de distribution des taxons dans le miel

| Pollen Très fréquents (> 50%)                              | Pollen peu fréquent (20-10%)                                                                   |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Eucalyptus</i> - <i>Olea europaea</i>                   | <i>Apium nodiflorum</i> t - <i>Cyperus</i> * - <i>Ononis natrix</i>                            |
| <i>Brassica napus</i> t - <i>Echium</i>                    | <i>Quercus</i> * - <i>Thymus</i> t - <i>Plantago</i> - <i>Prunus</i> t - <i>Lantana</i> t      |
| <i>Papaver rhoeas</i> t - <i>Ziziphus lotus</i>            | <i>Paronychia argentea</i> t* - <i>Lotus</i> t - <i>Onobrychis</i>                             |
| <i>Genista</i> t - <i>Foeniculum vulgare</i> t             | <i>Ceratonia siliqua</i> - <i>Rosmarinus officinalis</i> t - <i>Myrtaceae</i>                  |
| <i>Tamarix</i> - <i>Hedysarum coronarium</i>               | <i>Erica arborea</i> - <i>Schinus molle</i> t - <i>Muscari comosum</i>                         |
| <i>Pimpinella anisum</i> t – <i>Centaurea</i> t            | <i>Daphnognidium</i> - <i>Scorzonera</i> t - <i>Eriobotrya japonica</i>                        |
| <i>Coriandrum sativum</i> t                                |                                                                                                |
| Pollen Fréquent (50%-20%)                                  | Pollen Rare (<10%)                                                                             |
| <i>Punica granatum</i> - <i>Carduus</i> t                  | <i>Allium</i> , <i>Vicia</i> t - <i>Bryonia cretica</i> , - <i>Salix</i> , - <i>Scabiosa</i> , |
| <i>Cistus</i> * - <i>Chrysanthemum</i> t - <i>Acacia</i>   | <i>Ephedra</i> - <i>Galega officinalis</i> - <i>Arctium</i> t - <i>Bellis</i>                  |
| <i>Sinapis alba</i> t - <i>Melilotus</i> t - <i>Citrus</i> | <i>Teucrium scorodonia</i> t - <i>Ammi majus</i> t <i>Boraginaceae</i>                         |
| <i>Buxus sempervirens</i> * - <i>Convolvulus</i>           | <i>Raphanus rapahnistrum</i> t - <i>Cucumis sativus</i> - <i>Rubus</i>                         |
| <i>Taraxacum officinale</i> t - <i>Poaceae</i>             | <i>Lavandula</i> t – <i>Pinus</i> - <i>Rhamnus alaternu</i> - <i>Smilax</i>                    |
| <i>Thapsia garganica</i> - <i>Chenopodium</i> t            | <i>Ailanthus altissima</i> - <i>Borago officinalis</i> - <i>Echinops</i> t,                    |
| <i>Trifolium repens</i> t - <i>Brassicaceae</i>            | <i>Crocus</i> t – <i>Agave</i> - <i>Opuntia ficus</i> - <i>indica</i> , <i>Chrozophora</i>     |
| <i>Artemisia</i> t - <i>Pistacia</i> – <i>Apiaceae</i>     | <i>tinctoria</i> - <i>Mentha</i> t - <i>Asparagus</i> t - <i>Umex</i> - <i>Ambrosia</i> t      |
| <i>Cichorium</i> t – <i>Capparis</i> - <i>Casuarina</i>    | <i>Justicia</i> t - <i>Eryngium campestre</i> t - <i>Helianthus annuus</i> t,                  |
| <i>Euphorbia</i> t - <i>Phoenix dactylifera</i>            | <i>Psoralea</i> t - <i>Lamium</i> t - <i>Asphodelus</i> - <i>Melia azedarach</i>               |
| <i>Peganum harmala</i> <i>Phacelia</i>                     | - <i>Vitis</i> - <i>Cannabis</i> * - <i>Globularia</i> - <i>Castanea</i>                       |
| <i>Chamaerops</i> <i>Malus</i> t                           |                                                                                                |

\* : plante non nectarifère,

Il en résulte de ce classement que les types polliniques présents dans la majorité des miels sont constitués de plantes cultivées et des plantes spontanées. Les plantes mellifères cultivées visitées par les abeilles sont principalement des arbres forestiers tels que *l'Eucalyptus* mais également par des arbustes tels que *Olea europea*, ainsi que des herbacées tels que



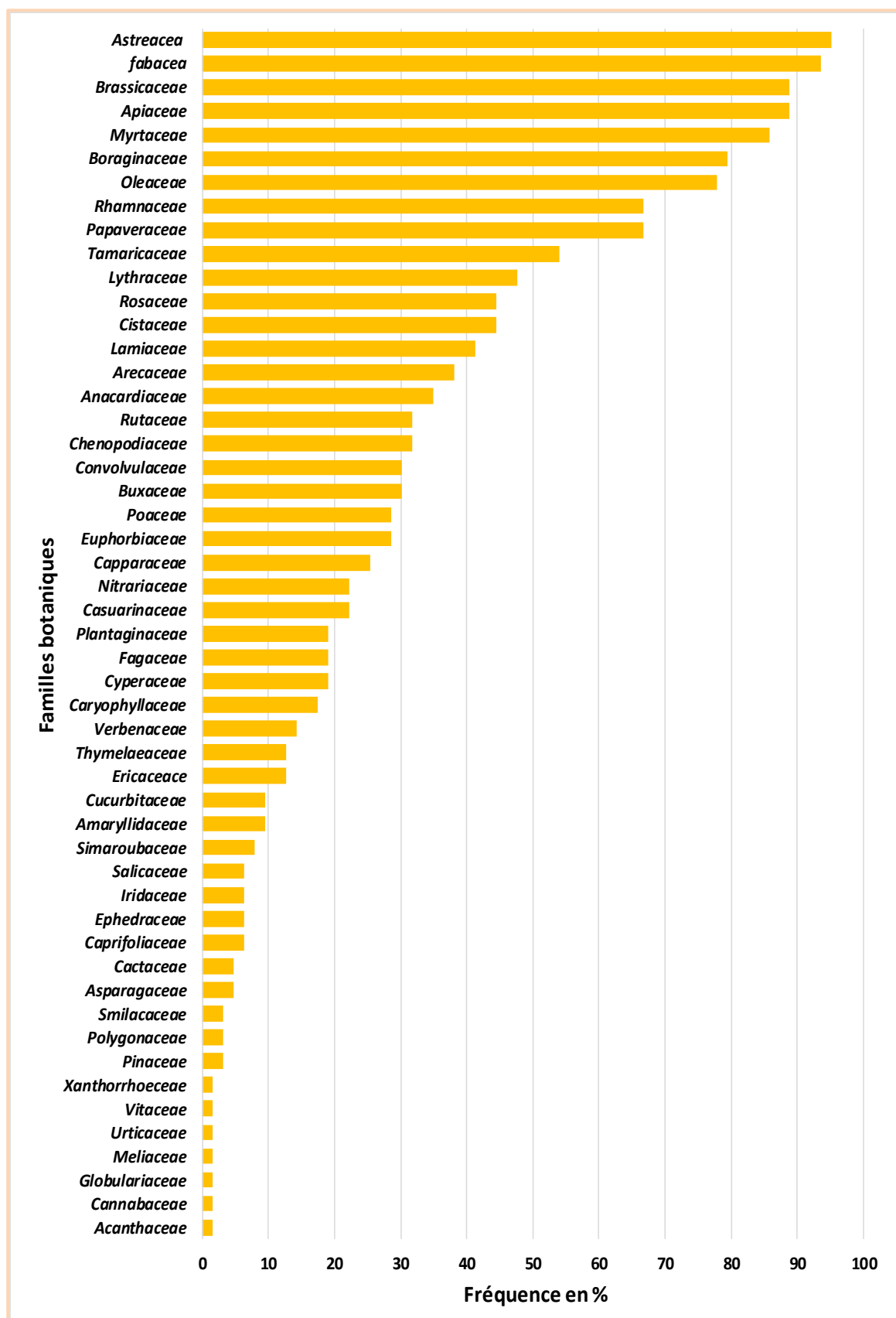


Figure 29 : Spectre de fréquence des familles végétales en % des échantillons de miels

*Foeniculum vulgare* type, *Coriandrum sativa* et *Pimpinella tanisum*, *Brassica napuse* et *Hedysarium coronarium*. Les principales plantes mellifères visités par les abeilles dans les différentes zones algériennes étudiées appartenant la flore spontanée sont les arbustes *ziziphus*, *lotus* et *tamarix*, mais aussi les herbacées tels que *Genista*, *Echium*, *Centaurea* et *Papaver rhoeas*.

#### IV.1.2.4. Spectre de fréquence des familles botaniques des miels analysés

Les types polliniques inventoriés dans l'ensemble des échantillons sont répartis dans 51 familles botaniques (Tab. 12). Les familles botaniques les plus représentées en nombre de taxons sont : les *Fabaceae*, *Astereaceae*, *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Rosaceae*, *Brassicaceae*, *Boraginaceae*, *Aspergeaceae*, avec respectivement un nombre de types polliniques de 13 (12%), 13 (12%), 8 (7%), 7 (6%), 05 (5%) 4 (4%), 4 (4%) et 3 (3%). Les *Anacardiaceae*, *Arecaceae*, *Cucurbitaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae*, *Rhamnaceae*, *Salicaceae* sont présents avec 2 espèces chacune, soit 2%.

Les familles les plus fréquentes dans les miels algériens étudiés sont : *Astereacea* (95,24%), *Fabaceae* (93,65%), *Brassicaceae* (88,89%) *Apiaceae* (88,89%), *Myrtaceae* (85,71%), *Boraginaceae* (79,37%), *Oleaceae* (77,78%), *Rhamnaceae* (66,67%) *Papaveraceae* (66,67%) et *Tamaricaceae* (53,97%) comme l'illustre la figure N°. 29.

L'abondance de ces familles dans les miels étudiés est un indicateur de leur importance pour l'apiculture algérienne comme plantes mellifères. Des résultats analogues ont été rapportés par plusieurs auteurs (Skender, 1972 ; Mekloufi et al., 2010).

D'après Louveaux et Abed (1984), les *Apiaceae* jouent un rôle important dans l'apiculture de l'Afrique du nord. Alors que dans la flore mondiale, quatre familles mellifères dominent ; *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae* et *Lamiaceae* (Dongock et al., 2017). Selon Crane (1991), les *Asteraceae* et les *Fabaceae* sont très nectarifères, ce qui explique l'importance de ces deux familles dans les miels étudiés. Aussi, il est rapporté que la famille des *Fabaceae* regroupe des plantes d'importance pour l'apiculture, connues par une production souvent abondante de nectar (Melin, 2011).

Tableau 12 : Richesse des familles en taxons (types polliniques)

| Famille                | Type pollinique                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Famille                     | Type pollinique                                                                                                                                               |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Acanthaceae</i>     | 1 ( <i>Justicia</i> t)                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <i>Arecaceae</i>            | 2 ( <i>Chamaerops</i> ,<br><i>Phoenix dactylifera</i> )                                                                                                       |
| <i>Anacardiaceae</i>   | 1 ( <i>Pistacia</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <i>Papaveraceae</i>         | 1 ( <i>Papaver rhoeas</i> t)                                                                                                                                  |
| <i>Asparagaceae</i>    | 3 ( <i>Agave</i> , <i>Asparagus</i> t, <i>Muscari comosum</i> )                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Plantaginaceae</i>       | 1 ( <i>Plantago</i> )                                                                                                                                         |
| <i>Apiaceae</i>        | 8 ( <i>Apium nodiflorum</i> t, <i>Ammi majus</i> t,<br><i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Eryngium</i><br><i>campestre</i> t, <i>Foeniculum vulgare</i> t<br><i>Pimpinella anisum</i> t, <i>Thapsia garganica</i><br>,autre <i>Apiaceae</i> )                                                             | <i>Pinaceae</i>             | 1 ( <i>Pinus</i> )                                                                                                                                            |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Lythraceae</i>           | 1 ( <i>Punica granatum</i> )                                                                                                                                  |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Rhamnaceae</i>           | 2 ( <i>Ziziphus lotus</i> ,<br><i>Rhamnus alaternus</i> )                                                                                                     |
| <i>Astreacea</i>       | 14 ( <i>Artemisia</i> t, <i>Bellis</i> t, <i>Carduus</i> t,<br><i>Centaurea</i> t <i>Chrysanthemum</i> t <i>Echinops</i> t,<br><i>Helianthus annuus</i> t, <i>Scorzonera</i> t,<br><i>Taraxacum officinale</i> t, <i>Cichorium</i> t,<br><i>Arctium</i> t, <i>Ambrosia</i> t, autre <i>Astreacea</i> ) | <i>Rosaceae</i>             | 4 ( <i>Eriobotrya japonica</i> ,<br><i>Malus</i> t, <i>Prunus</i> t, <i>Rubus</i> )                                                                           |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Rutaceae</i>             | 1 ( <i>Citrus</i> )                                                                                                                                           |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Poaceae</i>              |                                                                                                                                                               |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Salicaceae</i>           | 1 ( <i>Salix</i> )                                                                                                                                            |
| <i>Boraginaceae</i>    | 4 ( <i>Borago officinalis</i> , <i>Echium</i> , <i>Phacelia</i> )                                                                                                                                                                                                                                      | <i>Simaroubaceae</i>        | 1 ( <i>Ailanthus altissima</i> )                                                                                                                              |
| <i>Brassicaceae</i>    | 3 ( <i>Brassica napus</i> t, <i>Sinapis alba</i> t,<br><i>Raphanus rapahnistrum</i> t)                                                                                                                                                                                                                 | <i>Smilacaceae</i>          | 1 ( <i>Smilax</i> )                                                                                                                                           |
| <i>Buxaceae</i>        | 1 ( <i>Buxus sempervirens</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Tamaricaceae</i>         | 1 ( <i>Tamarix</i> )                                                                                                                                          |
| <i>Cactaceae</i>       | 1 ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                      | <i>Urticaceae</i>           | <i>Urticaceae</i>                                                                                                                                             |
| <i>Caryophyllaceae</i> | 1 ( <i>Paronychia argentea</i> t)                                                                                                                                                                                                                                                                      | <i>Verbenaceae</i>          | 1 ( <i>Lantana</i> t)                                                                                                                                         |
| <i>Casuarinaceae</i>   | 1 ( <i>Casuarina</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <i>Vitaceae</i>             | 1 ( <i>Vitis</i> )                                                                                                                                            |
| <i>Chenopodiaceae</i>  | 1 ( <i>Chenopodium</i> t)                                                                                                                                                                                                                                                                              | <i>Nitrariaceae</i>         | 1 ( <i>Peganum harmala</i> )                                                                                                                                  |
| <i>Cistaceae</i>       | 1 ( <i>Cistus</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <i>Amaryllidaceae</i>       | 1 ( <i>Allium</i> )                                                                                                                                           |
| <i>Convolvulaceae</i>  | 1 ( <i>Convolvulus</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                               | <i>Thymelaeaceae</i>        | 1 ( <i>Daphne gnidium</i> )                                                                                                                                   |
| <i>Cucurbitaceae</i>   | 1( <i>Bryonia cretica</i> , <i>Cucumis sativus</i> )                                                                                                                                                                                                                                                   | <i>Cannabaceae</i>          | 1 ( <i>Cannabis</i> )                                                                                                                                         |
| <i>Cyperaceae</i>      | 1 ( <i>Cyperus</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <i>Capparaceae</i>          | 1 ( <i>Capparis</i> )                                                                                                                                         |
| <i>Caprifoliaceae</i>  | 1 ( <i>Scabiosa</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <i>Globulariaceae</i>       | 1 ( <i>Globularia</i> )                                                                                                                                       |
| <i>Ericaceae</i>       | 1 ( <i>Erica arborea</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                             | <i>Iridaceae</i>            | 1 ( <i>Crocus</i> t)                                                                                                                                          |
| <i>Ephedraceae</i>     | 1 ( <i>Ephedra</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <i>Polygonaceae</i>         | 1 ( <i>Rumex</i> )                                                                                                                                            |
| <i>Euphorbiaceae</i>   | 2 ( <i>Chrozophora tinctoria</i> , <i>Euphorbia</i> t)                                                                                                                                                                                                                                                 | <i>Meliaceae</i>            |                                                                                                                                                               |
| <i>Fabaceae</i>        | 12 ( <i>Acacia</i> , <i>Ceratonia siliqua</i><br><i>Galega officinalis</i> , <i>Genista</i> t,<br><i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Lotus</i> t, <i>Melilotus</i><br>t, <i>Ononis natrix</i> , <i>Trifolium repens</i> t, <i>Vicia</i> t<br><i>Psoralea</i> t, <i>Onobrychis</i> )                      | <i>Myrtaceae</i>            | 1 ( <i>Eucalyptus</i> )                                                                                                                                       |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Xanthorrhoeacea</i><br>e | 1 ( <i>Asphodelus</i> )                                                                                                                                       |
|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <i>Lamiaceae</i>            | 6 ( <i>Lamium</i> t,<br><i>Lavandula</i> t, <i>Mentha</i> t,<br><i>Rosmarinus officinalis</i> t,<br><i>Thymus</i> t <i>Teucrium</i><br><i>scorodonia</i> t t) |
| <i>Fagaceae</i>        | 1 ( <i>Quercus</i> , 1 ( <i>Castanea</i> )                                                                                                                                                                                                                                                             | <i>Oleaceae</i>             | 1 <i>Olea europea</i>                                                                                                                                         |

#### IV.1.2.5. Spectre pollinique des miels selon, les étages bioclimatiques de leurs zones de production

La présence des 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 de leurs zones de production (Annexe 2), il est bien constaté que *Eucalyptus* soit très fréquent dans toutes les zones étudiées. Il est toutefois plus abondant dans les zones semi-arides des régions telliennes, plus particulièrement dans la région de Mostaganem, où cette forme pollinique présente une dominance dans le spectre de 5 sur 13 miels analysés, mais également dans la région d'El-Taref (subhumide). L'espèce *Ziziphus lotus* est omniprésente dans tous les miels provenant des régions steppiques, ce qui confirme son importance en tant que source mellifère pour les abeilles dans cette zone. De même, *Olea europea* est retrouvé dans tous les échantillons provenant des zones arides et a même présenté une dominance dans l'échantillon E<sub>6</sub>. Bien que cette plante soit exclusivement pollinifère, elle est cependant très appréciée et visitée par les abeilles en raison de son pollen abondant, en plus de leur répartition qui pourrait être importante dans les territoires étudiés. *Hedysarum coronarium* est très fréquente dans les miels provenant des zones semi-arides, mais elle est plus abondante dans les régions steppiques avec une maximale de 46% du spectre pollinique de l'échantillon (E<sub>43</sub>) provenant de la région de Tébessa. Les formes polliniques appartenant à la famille des *Apiaceae*, notamment *Foeniculum vulgare* type, *Coriandrum sativa* et *Pimpinella anisum* sont plus fréquentes et plus abondantes dans les zones subhumides avec des maxima de 82, 52,14 et 29,8%, respectivement. Le pollen d'*Echium* est présent dans la majorité des échantillons, mais il est sous-représenté, ce qui suppose la probabilité de rencontrer des miels monofloraux d'*echium* produit dans d'autres zones. *Tamarix* est plus fréquent et abondant dans les régions steppiques, alors que *Gernista* est très fréquente dans les zones semi-arides des régions telliennes (Mostaganem) et des zones humides d'El-taref, où elle est dominante. Ces résultats montrent la diversité des bioressources utilisées par les abeilles dans les différentes zones d'études. La composition en pollens dépend aussi bien de l'origine végétale que géographique, ainsi qu'avec d'autres facteurs tels que les conditions climatiques, le type du sol, l'activité de l'apiculteur et la période de floraison (Ait Abderrahim et al., 2015). Les résultats sont en accord avec ceux de Lobreau-Callen et Damblon (1994) ; dans la région méditerranéenne, la strate herbacée produit la majeure partie du nectar utilisé par les abeilles, à l'exception de quelques plantes introduites ou cultivées telles que l'*Eucalyptus* utilisées à la fin de la saison humide ou au début de la saison sèche. Plusieurs travaux ont été réalisés sur la flore

mellifère algérienne. En effet, l'étude du spectre pollinique des miels de la région steppique de Djelfa réalisée par Mekious et al. (2015) révèle une prédominance de l'espèce *ziziphus lotus*. D'après Makhloufi et al. (2010), les miels algériens sont caractérisés par des spectres polliniques dominés par *Eucalyptus*, *Hedysarum*, *pimpinella*, *cistus*, *tamarix*, *rubus*, *daucus carota*, *vicia*, *citrus*, *centaurea*, *crassulaceae* et *sedum type*. En outre, selon Benaziza-Bouchema et al. (2010), les espèces végétales les plus fréquentes dans la région d'El-Taref sont *Eucalyptus* sp., *Hedysarum coronarium*, *Lathyrus* sp. Tandis que l'étude du spectre pollinique de 76 miels d'Algérie réalisée par Zarrouk (2014) montre une prédominance des espèces *Eucalyptus*, *Trifolium*, *Echium*, *Hedysarium coronarium* et dans une moindre mesure, *Rubus* et *Citrus*. Les spectres polliniques des miels du nord algérien ont été rapportés par plusieurs auteurs. Ils sont caractérisés par des spectres polliniques dominés par les taxons suivants : *Citrus*, *Eucalyptus*, *Hedysarum coronarium*, *Rubus* et *Rosmarinus Thymus vulgaris*, and *Lavandula angustifolia*, *Lathyrus* sp. (Louveaux et Abed al., 1984 ; Ouchemoukh et al., 2007 ; Nair et al., 2013). Les travaux de Mehdi (2016), sur des miels de l'ouest algérien, montrent une prédominance des types polliniques : *Eucalyptus* sp., *Foeniculum vulgare*, *Hedysarium coronarium*, *Olea europea*, *Ziziphus lotus*, *Daucus carota*, *Genista*, *Taraxacum officinale*, *Brassicnapus*, *Chenopodiacees* et *Papaverrhoeas*.

#### IV.1.2.6. Origine botanique et typicité des miels algériens

D'après Louveaux et al. (1978) ; Von Der Ohe et al. (2004), 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. Selon les mêmes auteurs, il existe des variations au niveau des types polliniques qui peuvent être, en fonction de l'espèce, sous- ou surreprésentés. En effet, certaines espèces sont très pollinifères, car leur pollen est très abondant, mais secrètent peu de nectar et donc peuvent être surreprésentées dans le miel. D'autres, en revanche, produisent très peu de pollen, mais sont très nectarifères et peuvent donc être sous-représentés dans le miel. 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.

Dans cette étude, sur les 63 échantillons de miels analysés, 40 ont été caractérisés comme miels monofloraux (63,5%) et 20 comme polyfloraux (Tab.13). Trois miels (03) ont été classés comme des miels de miellat. Les miels monofloraux sont répartis en 17 origines botaniques

différentes à savoir ; les miels d'*eucalyptus* (n = 08), provenant essentiellement des zones semi-arides des régions telliennes, notamment dans la région de Mostaganem (E<sub>8</sub>, E<sub>20</sub>, E<sub>52</sub>, E<sub>59</sub>), la région de Mascara (E<sub>10</sub>), mais également aperçus dans les zones humides et subhumides comme celles d'El-Taref (E<sub>38</sub>, E<sub>41</sub>) et Souk Ahras (E<sub>37</sub>). Les miels d'agrumes (*Citrus*, n = 05), sont majoritairement issus des zones semi-arides des régions telliennes (Mostaganem, Mascara et Relizane). Un des échantillons (E<sub>06</sub>) provient d'une zone aride « Béchar ». Les miels de fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare*, n = 04) sont originaires d'Ain Témouchent (E<sub>53</sub>), Tizi-Ouzou (E<sub>51</sub>), Blida (E<sub>05</sub>) et Guelma (E<sub>28</sub>). Les miels de jujubier ou sedra (*Ziziphus lotus*, n = 04) sont natifs des régions de Naâma (E<sub>32</sub>), Saida (E<sub>35</sub>), Tlemcen (E<sub>22</sub>) et Médéa (E<sub>30</sub>). Les miels de grenadier (*Punica granatum*, n = 03) sont originaires de Laghouat (E<sub>58</sub>), Mostaganem (E<sub>11</sub>) et Guelma (E<sub>26</sub>). Alors que ceux de colza (*Brassica napus* t, n = 03) sont de M'sila (E<sub>44</sub>, E<sub>45</sub>) et de Naâma (E<sub>17</sub>), de bruyère (*Erica aroborea*) de la région d'El Taref (E<sub>39</sub>, E<sub>40</sub>), de câprier (*capparis*) de Saida (E<sub>18</sub>) et Mostaganem (E<sub>01</sub>). Les miels à dominance des *Apiaceae* (n = 02) proviennent de la région de Boumerdès (E<sub>54</sub>) et Relizane (E<sub>23</sub>). Les miels de chardon (*Centaurea*), *Genista*, tamarix, coriandre (*Coriandrum sativum* t) découlent, respectivement, des régions de Saida (E<sub>19</sub>), Mostaganem (E<sub>03</sub>), Tlemcen (E<sub>48</sub>) et Médéa (E<sub>56</sub>). Les miels de Sulla ou sainfoin d'Italie (*Hedysarum coronarium*, E<sub>56</sub>), de romarin (*Rosmarinus officinalis*, E<sub>57</sub>), sont originaires de la région de Tébessa, le miel de néflier (*Eriobotrya japonica*, E<sub>62</sub>) et le miel de mélilot (*Melilotus*, E<sub>61</sub>) sont originaires de la région de Sidi Bel Abbès. Cette diversité en miels reflète le potentiel de l'Algérie en ressources mellifères. Malgré la dominance des grains de pollen d'*Eucalyptus* dans les spectres polliniques de certains miels analysés à savoir les échantillons E<sub>25</sub> (50,5%), E<sub>43</sub> (46,11%) et E<sub>63</sub> (51,42%), ces derniers ont été caractérisés comme miels polyfloraux. Ceci s'explique par le fait que le pollen d'*Eucalyptus* est sur-représenté dans le miel. Un seuil minimal de 60%, selon Louveaux et al. (1978), est admis pour l'appellation de miels monofloraux d'*Eucalyptus*. Le reste des échantillons classés en tant que miels polyfloraux sont dépourvus de pollens dominants et renferment des pollens d'accompagnement constitués de 1 à 3 taxons maximum avec des fréquences polliniques entre 16 et 45%, dont *Eucalyptus*, *Tamarix*, *Coriandrum sativum* t, *Ziziphus lotus*, *Tamarix*, *Hedysarum coronarium*, *Asparagus*, *Foeniculum vulgare* t, *Globularia*, *Schinus molle* t, *Brassicnapus* et *Melilotus* t. Pour le reste des taxons, leurs pollens se répartissent dans les deux classes de fréquences polliniques à pollens isolés importants et isolés rares. Les échantillons classés comme polyfloraux sont le plus souvent des miels de forêts (E<sub>13</sub>, E<sub>14</sub>, E<sub>24</sub> et E<sub>25</sub>) ou de montagne (E<sub>12</sub> et E<sub>29</sub>). Selon Ouchemoukh (2012), la présence de miels polyfloraux peut s'expliquer par



l'absence des monocultures à grande échelle dans les localités où la récolte est effectuée et par le manque de formation des apiculteurs sur les techniques apicoles.

**Tableau 13** : Authenticité de l'origine botanique des miels analysés

| Code miel       | O.B présumé       | O.B après analyse (%) |                          | Code Miel       | O.B présumé       | O.B après analyse (%) |                                  |
|-----------------|-------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|----------------------------------|
|                 |                   | Nom commun            | Nom scientifique         |                 |                   | Nom Commun            | Nom scientifique                 |
| E <sub>01</sub> | Retam             | Câprier               | <i>Capparis</i> 38,3     | E <sub>33</sub> | Jujubier          | Agrumes               | <i>Citrus</i> 23,1               |
| E <sub>02</sub> | Agrumes           | Agrumes               | <i>Citrus</i> 30,2       | E <sub>34</sub> | Polyfloral        | Miellat               | Miellat                          |
| E <sub>03</sub> | Agrumes           | <i>Genista t</i>      | <i>Genista t</i> 79,9    | E <sub>35</sub> | Jujubier          | <i>Jujubier</i>       | <i>Z. lotus</i> 69,4             |
| E <sub>04</sub> | Agrumes           | Agrumes               | <i>Citrus</i> 14,5       | E <sub>36</sub> | Agrumes           | Agrume                | <i>Citrus</i> 17,2               |
| E <sub>05</sub> | Agrumes           | Fenouil               | <i>F. vulgare t</i> 85,9 | E <sub>37</sub> | Polyfloral        | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 76             |
| E <sub>06</sub> | Polyfloral        | Agumes                | <i>Citrus</i> 25         | E <sub>38</sub> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 84,8           |
| E <sub>07</sub> | Agrumes           | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>39</sub> | Polyfloral        | <i>Bruyère</i>        | <i>E.rborea</i> 56,1             |
| E <sub>08</sub> | Forêt             | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 66,5   | E <sub>40</sub> | Polyfloral        | <i>Bruyère</i>        | <i>E.arborea</i> 55,3%           |
| E <sub>09</sub> | Polyfloral        | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>41</sub> | <i>Eucalyptus</i> | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 86,1           |
| E <sub>10</sub> | Forêt             | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 76     | E <sub>42</sub> | Polyfloral        | Sulla/<br>sainfoin    | <i>Hedysarum coronarium</i> 48,4 |
| E <sub>11</sub> | Forêt             | Grenadier             | <i>P.granatum</i> 52     | E <sub>43</sub> | <i>Eucalyptus</i> |                       | Polyfloral                       |
| E <sub>12</sub> | Polyfloral        | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>44</sub> | Armoise blanche   | Colza                 | <i>B. napus t</i> 69,7           |
| E <sub>13</sub> | Forêt             | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>45</sub> | Jujubier          | Colza                 | <i>B. napust</i> 65,8            |
| E <sub>14</sub> | Polyfloral        | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>46</sub> | Polyfloral        |                       | Polyfloral                       |
| E <sub>15</sub> | <i>Eucalyptus</i> | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>47</sub> | Polyfloral        |                       | Polyfloral                       |
| E <sub>16</sub> | <i>Eucalyptus</i> | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>48</sub> | Polyfloral        | Tamarix               | Tamarix 61,8                     |
| E <sub>17</sub> | Polyfloral        | Colza                 | <i>B. napus t</i> 77,9   | E <sub>49</sub> | Polyfloral        |                       | Polyfloral                       |
| E <sub>18</sub> | Polyfloral        | Câprier               | <i>Capparis</i> 48,3     | E <sub>50</sub> | <i>Eucalyptus</i> |                       | Polyfloral                       |
| E <sub>19</sub> | Forêt             | Chardon               | <i>Centaurea t</i> 24,9  | E <sub>51</sub> | Foret             | <i>Fenouil</i>        | <i>F.vulgare t</i> 26,4          |
| E <sub>20</sub> | Polyfloral        | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 69,5%  | E <sub>52</sub> | Forêt             | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 92,2           |
| E <sub>21</sub> | Foret             |                       | Polyfloral               | E <sub>53</sub> | Forêt             | <i>Fenouil</i>        | <i>F. vulgare t</i> 58,7         |
| E <sub>22</sub> | Thym              | Jujubier /sedra       | <i>Z. lotus</i> 65,6%    | E <sub>54</sub> | Carotte sauvage   |                       | Apiaceae                         |
| E <sub>23</sub> | Agrume            | Apiacées              | Apiaceae                 | E <sub>55</sub> |                   | Polyfloral            | Polyfloral                       |
| E <sub>24</sub> | Polyfloral        |                       | Polyfloral               | E <sub>56</sub> | Polyfloral        | <i>Coriande</i>       | <i>C. sativum t</i> 53,9         |
| E <sub>25</sub> | Polyfloral        | Polyfloral            | Polyfloral               | E <sub>57</sub> | Romarin           | <i>Romarin</i>        | <i>R. officinalis t</i> 16,2     |
| E <sub>26</sub> | Polyfloral        | Grenadier             | <i>P. granatum</i> 45,9  | E <sub>58</sub> | Foret             | <i>Grenadier</i>      | <i>P. granatum</i> 61,2          |
| E <sub>27</sub> | Polyfloral        |                       | Polyfloral               | E <sub>59</sub> | Acacia            | <i>Eucalyptus</i>     | <i>Eucalyptus</i> 61,2           |
| E <sub>28</sub> | Jujubier          | Fenouil sauvage       | <i>F. vulage</i> 30,3    | E <sub>60</sub> | Agrume            | Miellat               | Miellat                          |
| E <sub>29</sub> | Montagne          |                       | Polyfloral               | E <sub>61</sub> | Euphorbe          | <i>Mélilot</i>        | <i>Melilotus t</i> 71,2          |
| E <sub>30</sub> | Jujubier          | Jujubier              | <i>Z. lotus</i> 44,9     | E <sub>62</sub> | Polyfloral        | <i>Néflier</i>        | <i>E. japonica</i> 75,4          |
| E <sub>31</sub> | Foret             | Miellat               | Polyfloral               | E <sub>63</sub> | -                 | Polyfloral            | Polyfloral                       |
| E <sub>32</sub> | Dattier           | Jujubier              | <i>Z. lotus</i> 81,9     |                 |                   |                       |                                  |

Les éléments de miellat n'ont pas été considérés, cependant trois échantillons ont été caractérisés comme miels de miellat à savoir les miels E<sub>31</sub>, E<sub>34</sub> et E<sub>60</sub>, en raison de la forte teneur en éléments de miellat (HDE), notamment des champignons et des moisissures par rapport au nombre de pollens. Tous les miels de miellat étudiés contiennent des pourcentages importants de pollen d'*Eucalyptus*. D'autres types de pollens sont également bien représentés tels que *Melilotus* dans le E<sub>31</sub>, celui provenant de la région de Naâma (Forêt), et *Ziziphus lotus* pour l'échantillon E<sub>60</sub> issu de la région de Médéa (Seghouane). Selon plusieurs auteurs, l'étude en détail des spores de champignon indique que les éléments de miellat les plus couramment observés sont *Cladosporium*, *Alternaria* et *Stemphylium* (Méndez et al., 1997 ; Sabariego et al., 2004 ; Seijo et al., 2011).

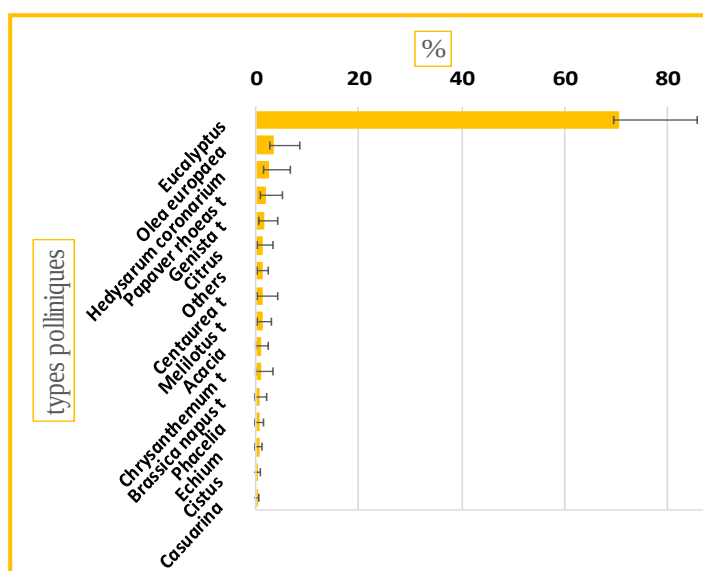
En comparant les données des origines florales obtenues après analyse pollinique avec celles annoncées par les apiculteurs, il est constaté que seuls 43% des miels correspondent aux appellations présumées. Ces appellations fallacieuses n'ont pas de conséquences pour le consommateur. Cependant, elles constituent une tromperie à son encontre, parfois elle a pour objectif de répondre aux préférences de la clientèle. Au niveau international, la non-conformité de ces dénominations est considérée comme une fraude. En Algérie, l'absence de loi concernant la commercialisation du miel encourage ces allégations. L'absence de laboratoire d'analyses pousse également les apiculteurs à donner des appellations fantaisistes selon leurs connaissances des zones de butinage des abeilles. Or, dans les faits, seule une étude palynologique peut confirmer l'origine botanique des miels de manière fiable.

#### II.1.2.6.1. Typicité des miels monofloraux

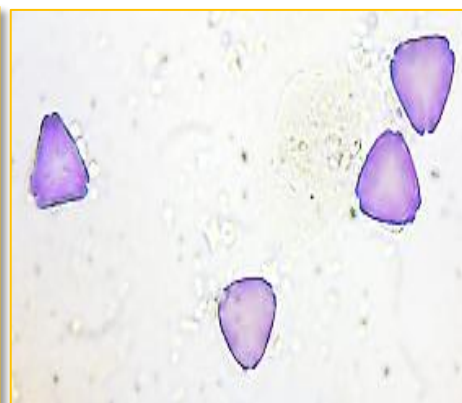
##### - Miel d'*Eucalyptus*

La dominance des grains de pollen d'*Eucalyptus* a été mise en évidence dans 13% du nombre total des miels. Ces types sont produits en saison d'été dans les zones forestières. Ces résultats révèlent l'importance de cette plante dans l'apiculture algérienne et particulièrement dans le nord du pays. Cette constatation est rapportée par plusieurs auteurs (Louveaux et Abed, 1984 ; Amri, 2015). Le pollen d'*Eucalyptus*, ainsi que toutes les myrtacées sont fortement sur-représentées dans les miels (Louveaux et al., 1978). D'après le même auteur ce phénomène est lié à la petite taille de ce pollen et à son abondance naturelle dans les fleurs. D'après Boquet (1997), le pourcentage de pollen dans les miels monofloraux est souvent élevé, proche de 90% et que les plus purs sont d'origine australienne. Leur spectre pollinique peut contenir 100% de grains de pollens de cette plante. Dans la présente étude, la fréquence relative du pollen d'*Eucalyptus* variait de 61 à 92%, avec une moyenne de 70,66± 15%. Ce pourcentage est

légèrement inférieur à celui constaté par [Zerrouk et al. \(2014\)](#) dans les miels d'*Eucalyptus* produits en Algérie (82%). Les miels étudiés ont été caractérisés par la présence des espèces *O. europea* et plusieurs autres espèces telles que *hedysarum coronarium*, *papaver*, *genista*, *Citrus pinica*, *acacia*, entant que pollen rare. [Ricciardelli d'albore et Vorwohl \(1980\)](#) ont constaté les espèces d'*Acacia*, *Gleditsia* et *Hedysarum coronarium* comme pollens accompagnants pour les miels de la Libye. Selon les mêmes auteurs, les miels d'*Eucalyptus* tunisiens étaient caractérisés par des espèces de *Citrus*, *Acacia*, *Erica*, *O. europaea*, et *H. coronarium* comme pollens accompagnant. Selon [Seijo et al. \(2003\)](#), les miels d'*Eucalyptus* espagnols se distinguent des autres miels d'*Eucalyptus* de la région de la Méditerranée occidentale en ayant *Cystus*, *Lotus*, *Salix*, *Rubus*, *Asteraceae* et *Scrophulariaceae* spp. Dans leur spectre de pollen.



**Figure 30** : Spectre pollinique des miels d'*Eucalyptus*

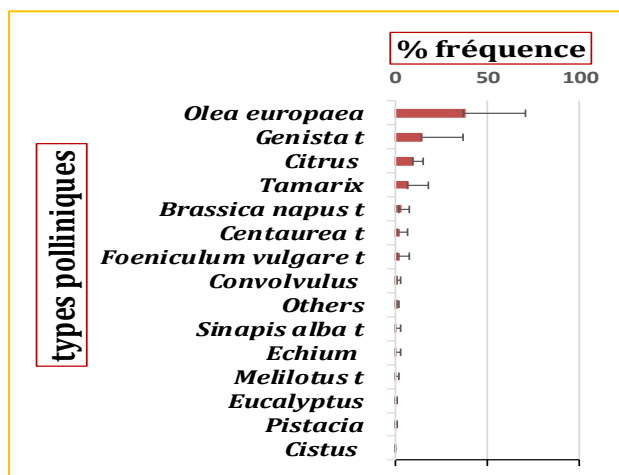


**Figure 31** : Pollen d'*Eucalyptus* (400X)

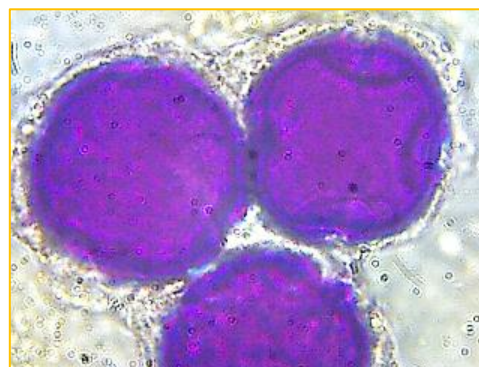
#### - Miel d'Agrumes

Huit pour cent des échantillons ont été caractérisés comme miels d'agrumes. Le pollen de *Citrus* est généralement sous-représenté dans le miel ([Louveaux et al., 1978](#) ; [Ricciardelli D'Albore, 1998](#) ; [Persano-Oddo et Piro, 2004](#)). Nous avons pris 10% comme limite inférieure pour considérer unifloraux les miels étudiés. La fréquence du pollen de *Citrus* dans les miels d'agrumes étudiés, en se basant sur les plantes nectarifères et non nectarifères, varie de 4 à 16,25%, avec une moyenne de l'ordre de 10,56%. Alors qu'elle oscille entre 14,5 et 30,2%, avec une moyenne de 38,07%, sur la base des plantes nectarifères seulement. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de [Benaziza et Schweitzer \(2010\)](#) qui notent que les miels d'agrumes produits dans la Mitidja varient entre 50,59 et 69%. Selon [Nair \(2014\)](#), la fréquence relative du pollen de *Citrus* dans les miels monofloraux d'agrumes est de 30 à 60% pour les échantillons

de l'ouest et 18 à 46% pour les échantillons du centre algérien. Par contre, [Zerrouk et al. \(2014\)](#) estiment un pourcentage entre 9 et 46%. Les miels d'agrumes espagnols présentent une teneur en grain de pollen de l'ordre de 10-60% ([Molins Marín et al., 1995](#)). Les miels d'agrumes algériens analysés se distinguent par la présence des grains de pollen de l'espèce pollinifère *O. europea*, avec une dominance dans certains échantillons. Ces derniers se distinguent également par la présence de *Tamarix* et *Genista* en pollen d'accompagnement.



**Figure 32 :** Spectre pollinique des miels d'agrumes.



**Figure 33 :** Pollen de *citrus* (1000X)

#### - Miel de fenouil sauvage

Six pour cent des échantillons ont été caractérisés comme miels monofloraux de fenouil sauvage. Ils présentent une dominance du pollen de l'espèce *Foeniculum vulgare* avec une moyenne de 50,32%. Ce type pollinique est sous-représenté dans le miel selon [Louveaux et al. \(1978\)](#). [Mehdi, \(2016\)](#) a signalé la présence de ce type de miel dans l'ouest Algérien. Nos échantillons sont caractérisés par la présence dans leurs spectres polliniques les espèces suivantes : *Phoenix dactylifera*, *Phacelia*, *Pimpinella anisium*, *myrtaceae*,

Figure Spectre pollinique du miel de Fenouil sauvage

#### - Miel de Jujubier

Au total 06% des échantillons ont été caractérisés comme miel de jujubier. Ces miels présentent une dominance du pollen de *Ziziphus lotus*, avec une fréquence située entre 45,3 et 93,7% du spectre pollinique et une moyenne de 70,9%. Ce pourcentage correspond aux valeurs retrouvées, en Chine, par [Song et al. \(2012\)](#) ; [Zhou et al. \(2013\)](#). Ce grain de pollen est considéré comme un pollen normalement représenté dans le miel ([Louveaux et al., 1978](#)). Les miels étudiés sont caractérisés par la présence des espèces *Hedysarium coronarium*, *Centaurea t*,

*Coriandrum sativum* t, *Eucalyptus*, *Brassica napus* t, *Ceratonia ciliqua*. Ce type de miel est très apprécié pour ses valeurs thérapeutiques et son goût. Il constitue un bon miel d'été.

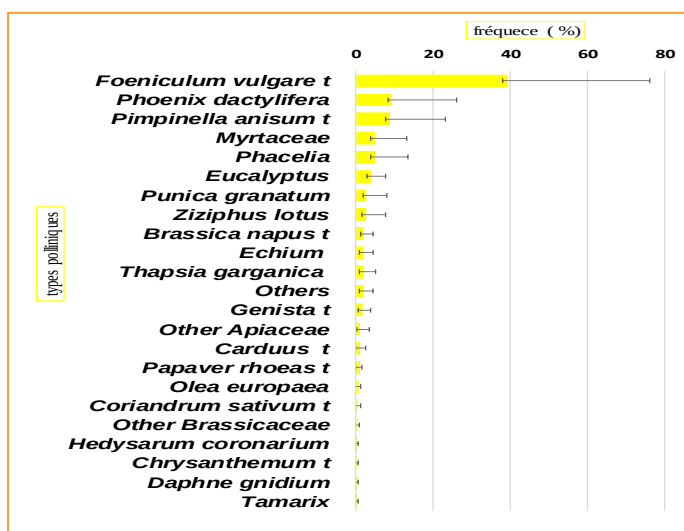


Figure 34 : Spectre pollinique du miel de Fenouil sauvage

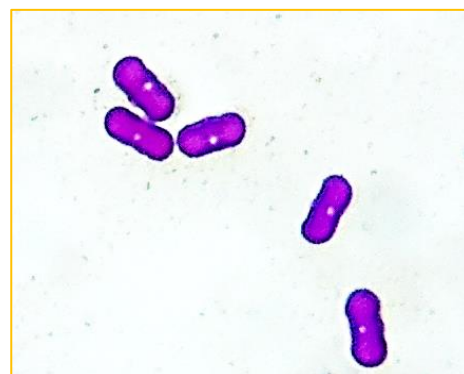


Figure 35 : Pollen de *foeniculum vulgare* (100X)

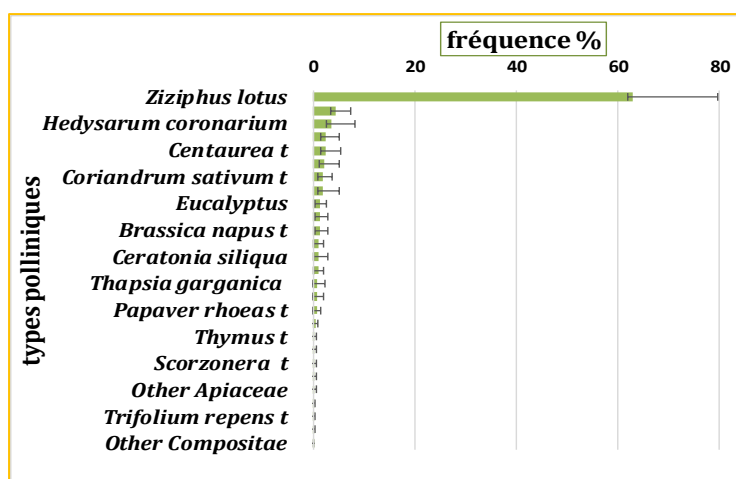


Figure 36 : Spectre pollinique des miels de jujubier

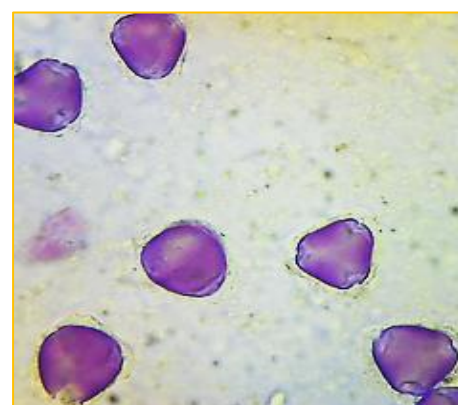


Figure 37 : Pollen de *Ziziphus lotus* (400X)

#### - Miels des *Apiaceae*

Les principales espèces de la famille des *Apiaceae* présentes dans les miels sont *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Coriandrum sativum*. Ces échantillons sont caractérisés par la présence de l'espèce *Ziziphus lotus* comme pollen d'accompagnement. *Pimpinella anisum* est une plante aromatique et odorante, leurs fleurs estivales, parfumées et mellifères, attirent les insectes pollinisateurs et les abeilles. D'après [Nair \(2014\)](#), cette espèce est très fréquente dans les miels du centre algérien. [Ricciardelli d'albore \(1998\)](#) signale la présence des miels monofloraux de *Pimpinella* en Turquie. Les miels de l'est algérien et les miels tunisiens sont riches en pollen de *Pimpinella* en association avec d'autres pollens tels que l'*Acacia* Sp.,



*Papaver*, *Olea europea*, *Mirtacea* et *Cistus* sp. (Makhloufi et al., 2010). Un cas de dominance de la coriandre (*Coriandrum sativum*) a été mis en évidence, avec une fréquence de 53,9%. Cet échantillon est caractérisé par la présence des espèces *Pimpinella anisum* et *Brassica napus* t. La coriandre est une plante originaire des pays méditerranéens, cultivée pour ses propriétés aromatisantes ; elle est notamment utilisée en cuisine. Cette plante joue un rôle majeur en tant que plante nectarifère pour les abeilles. Plusieurs effets thérapeutiques sont attribués à ce type de miels (antioxydante- immunoprophylactique-antifongique). Larran et al. (2001) ; Maghrabi et Hassan (2005) ; Dinkov et Ivanov (2010) signalent la présence du miel de coriandre, en Bulgarie

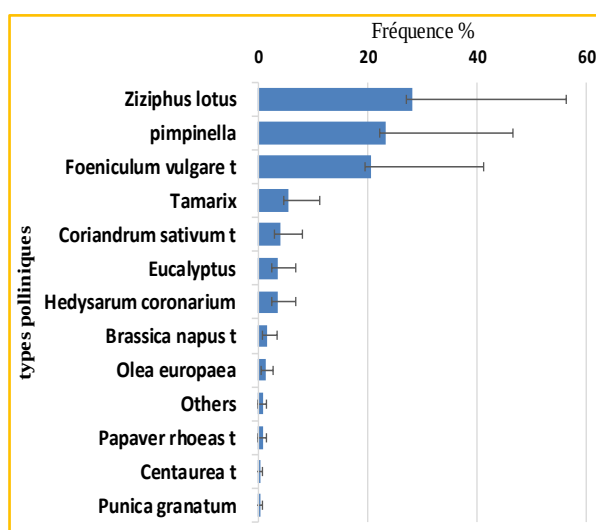


Figure 38 : Spectre pollinique du miel des *Apiaceae*

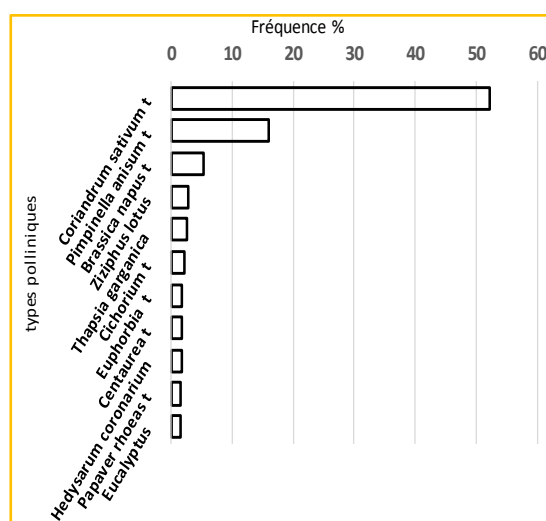


Figure 39 : Spectre pollinique du miel de coriandre

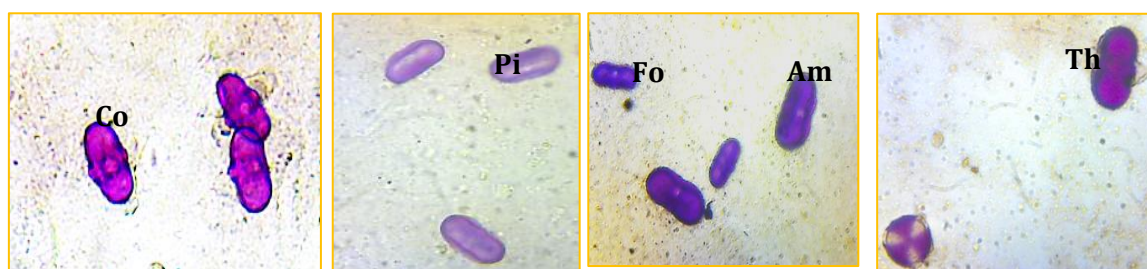


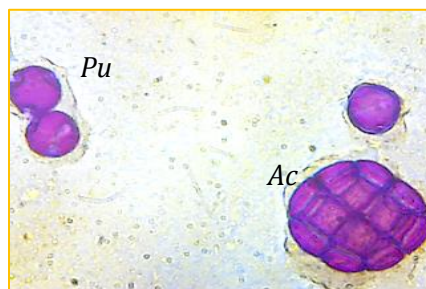
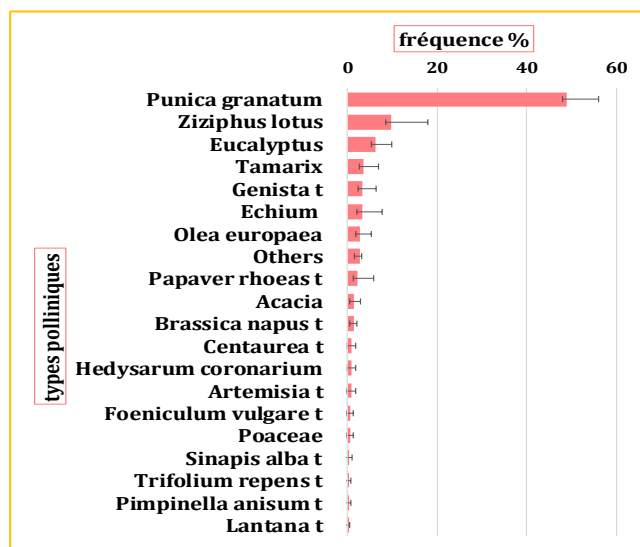
Figure 40 : Pollen des *apiaceae*. Co : *Coriandrum sativum*, Pi : *Pimpinella anisum* ; Fo : *Foeniculum vulgare* ; Am : *Ammi majus*, Th : *Thapsia garganica*

#### - Miel de grenadier

Au total, 5% des miels présentent une dominance du pollen *Punica granatum*. Cette espèce fruitière est largement cultivée dans les zones côtières du pays et constitue une bonne source de nectar pour la production de miel de printemps. Ces miels monofloraux se sont



distingué par la présence des espèces *Ziziphus lotus*, *Eucalyptus*, *Tamarix*, *Genista*, *Echium*, *O. europea*, *Papaver rhoes t* et *Acacia* dans leurs spectres polliniques.



**Figure 42 :** Pollen de *Punica granatum* (400X). Pu : p. granatum ; Ac : Acacia

**Figure 41 :** Spectre pollinique du miel de grenadier

#### - Miel de colza

Un taux de 06% des échantillons ont été définis comme miel de colza sauvage. Ils présentent une dominance du pollen de *Brassica napus t* avec une fréquence située entre 65,8 et 77,9% du spectre pollinique et une moyenne de 71,13%. Ce type de pollen est considéré comme un pollen normalement représenté (Louveaux et al., 1978). Les échantillons sélectionnés montrent, également, par la présence des pollens, *Artemisia t*, *Ziziphus lotus*, *Thymus t*, *lotus t*, *Euphorbia t* et *O. europea*.

#### - Miels de Bruyère blanche

Les miels monofloraux de la bruyère sont caractérisés par la présence de *Genista t*, *Onobrychis*, *Melilotus t*, et la famille des myrtacées principalement l'*Eucalyptus*. Le pollen d'*Erica arborea*, dans ce miel, domine avec une fréquence moyenne de  $55,7 \pm 0,58\%$ . Ce type de miel, récolté en été, est très recherché en raison de l'originalité de son goût qui ressemble à du caramel.

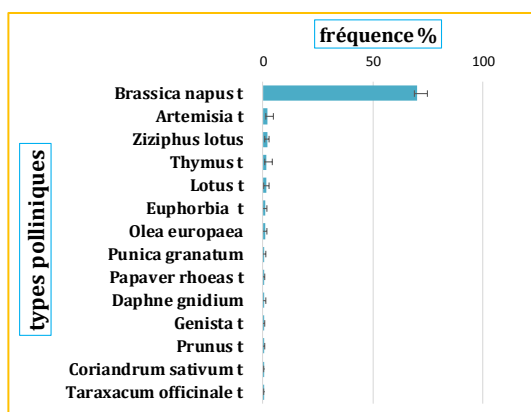


Figure 43 : Spectre pollinique du miel de colza

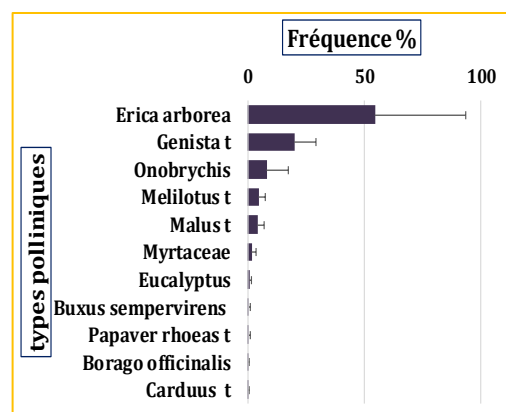
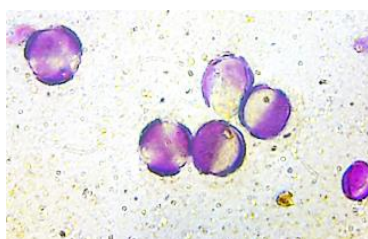
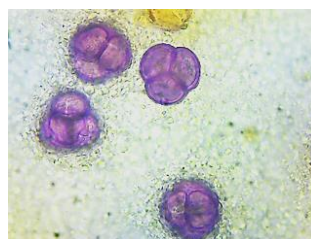
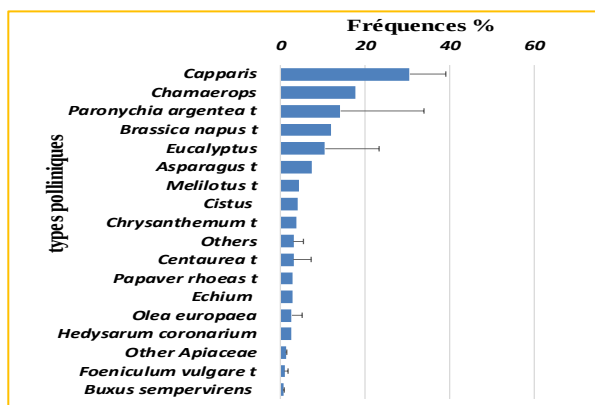
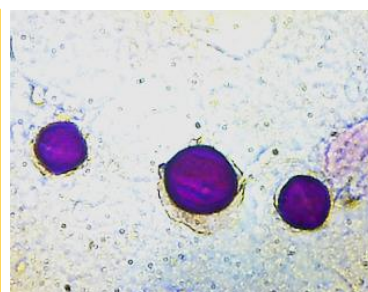


Figure 44 : Spectre pollinique du miel de bruyère

Figure 45 : Pollen de *Brassica napus* (400X)Figure 46 : Pollen de *Erica arborea* (400X)

#### - Miel de câpriers

Le *Capparis* est un arbuste, spontanée, répandu dans les régions méditerranéennes, cultivée et utilisée comme fourrage, plante mellifère et ornementale. Elle est également utilisée en médecine traditionnelle. Les miels de câprier étudiés, présentant une dominance du pollen *Capparis* et une fréquence moyenne de 43,3%, sont caractérisés par la présence de taxons pollinifères tels que *Camaerops*, *Paronychia argentea t*, *Brassica napus t*, *Eucalyptus asparagus*, *Melilotus* et des taxons pollinifères tels que *Cistus*, *Olea europea*, *Papaver rhoeas*. Le grain de pollen de *Capparis* est considéré comme un pollen sous-représenté dans le miel (Louveaux et al., 1978).

Figure 47 : Spectre pollinique du miel de *Capparis*Figure 48 : Pollen de *capparis* (400X)

- Les autres miels monofloraux

**Rosmarinus officinalis** est un arbuste aromatique très répandu dans les pays méditerranéens. Le pollen de cette espèce est, également, sous-représenté dans le miel (Louveaux et al., 1978). Son miel présente un pourcentage de 16,2% du pollen de cette espèce. Il est caractérisé par la présence de *Brassica napus* et *Hedysarium coronarium* comme pollens d'accompagnement.

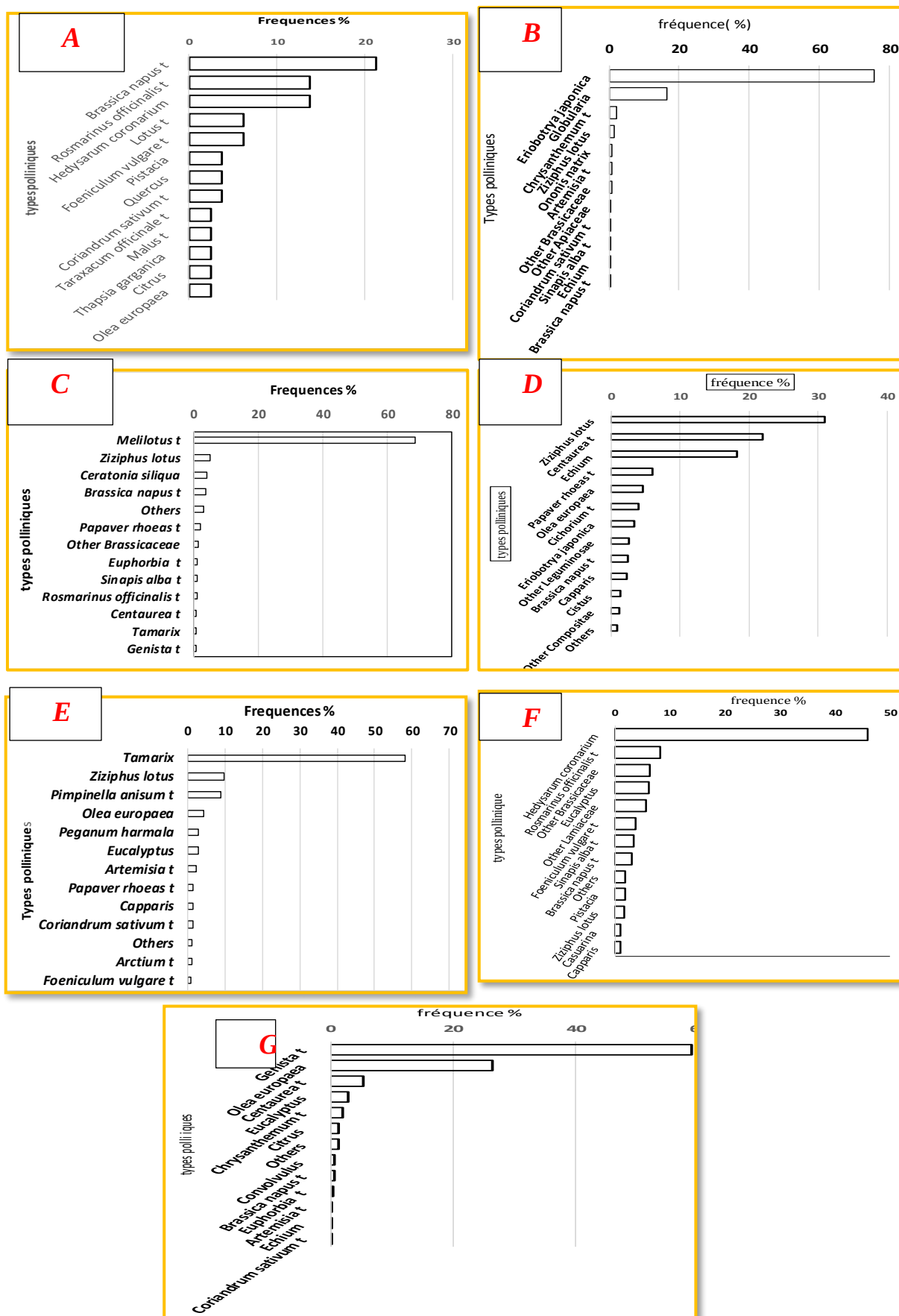
**Le miel de néflier** présente une dominance du pollen *Eriobotrya japonica* avec un pourcentage de 75,4%. Il est caractérisé par la présence, dans son spectre pollinique, des taxons *Globularia*, *Chrysanthemum*, *Ziziphus lotus* et *Ononis natrix*. Le néflier est un arbre fruitier, introduit de la chine vers, le bassin Méditerranéen, pour ces propriétés nutritionnelles et médicinales (Lin et al., 1999). Cette espèce produit du miel en abondance et fournit également un pollen en abondance, en hiver. La miellée se fait du début d'octobre jusqu'à la fin de décembre.

**Le miel de tamarix** analysé est caractérisé par la dominance de l'espèce *Tamarix* avec une fréquence de 61,3%. Les principaux pollens présents dans son spectre sont *Ziziphus lotus*, *Pimpinella anisum*, *Olea europea*, *Peganum harmala*. Selon Ricciardelli d'albore (1998), le miel de tamarix est inconnu dans la méditerranée, cependant Mekloufi signale la présence de ce type de miel dans les régions steppiques algériennes.

**Le pollen de type Centaurea** est généralement sous-représenté dans le miel (Louveaux et al., 1978). La fréquence du pollen de type *Centaurea* dans le miel de chardon étudié est de 24,9%. Il est caractérisé par la présence de *Ziziphus lotus*, *Echium*, *Papaver rhoeas*.

**Le miel de Sulla** ou sainfoin d'Italie présente une dominance du pollen de l'espèce *Hedysarium coronarium* avec une fréquence relative de 48,41%. L'échantillon est caractérisé par la présence dans son spectre pollinique des espèces *Rosmarinus officinalis*, *Foeniculum vulgare*, *Eucalyptus*, *Sinapis*, *Pistacia* et les familles des *Lamiaceae* et *Brassicaceae*. L'*Hedysarium coronarium* est une plante fourragère qui présente une grande importance par la qualité de son pollen autant que par sa quantité (Louveaux, 1968). C'est également une espèce réputée très nectarifère (Biri, 1981).

**Le Miel de mélilot** présente une dominance du pollen de *Melilotus* avec un pourcentage de 71,2 et se caractérise par la présence des espèces *Ziziphus lotus*, *Ceratonia siliqua* et *Brassica napus*. Un échantillon présente une dominance des grains de pollen du type *Genista* avec une fréquence de 79,9%. Ce miel est caractérisé par la présence des espèces *Olea europea*, *Centaurea*, *Eucalyptus*, *Chrysanthemum*.



**Figure 49** : Spectres polliniques de certains miels monofloraux A : *Romarin* ; B, ; E : *Tamarix* ; B : *neflier* ; D : *chardon* ; C : *mélilot* ; F : *sainfoin*, G : *Genista T*



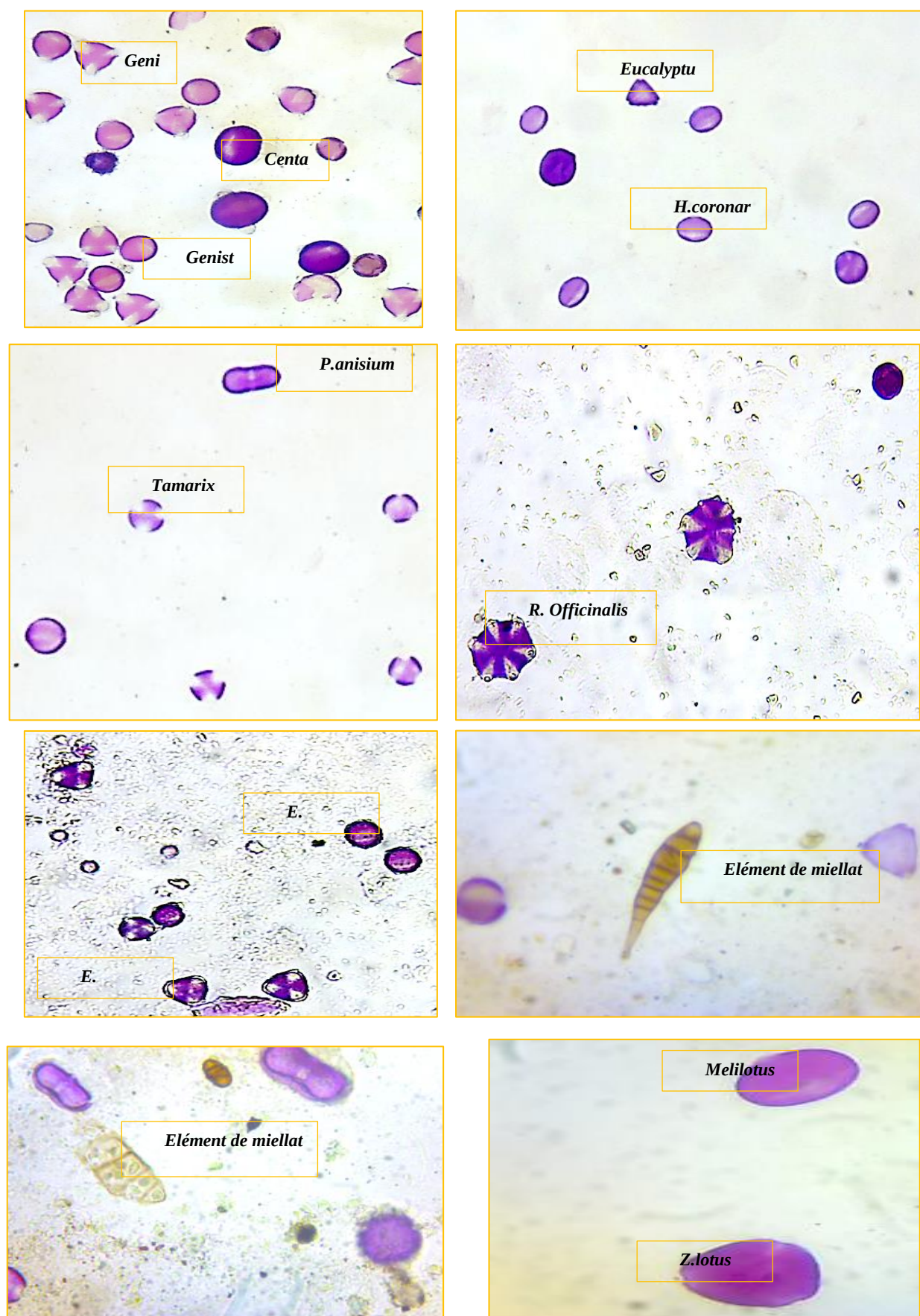
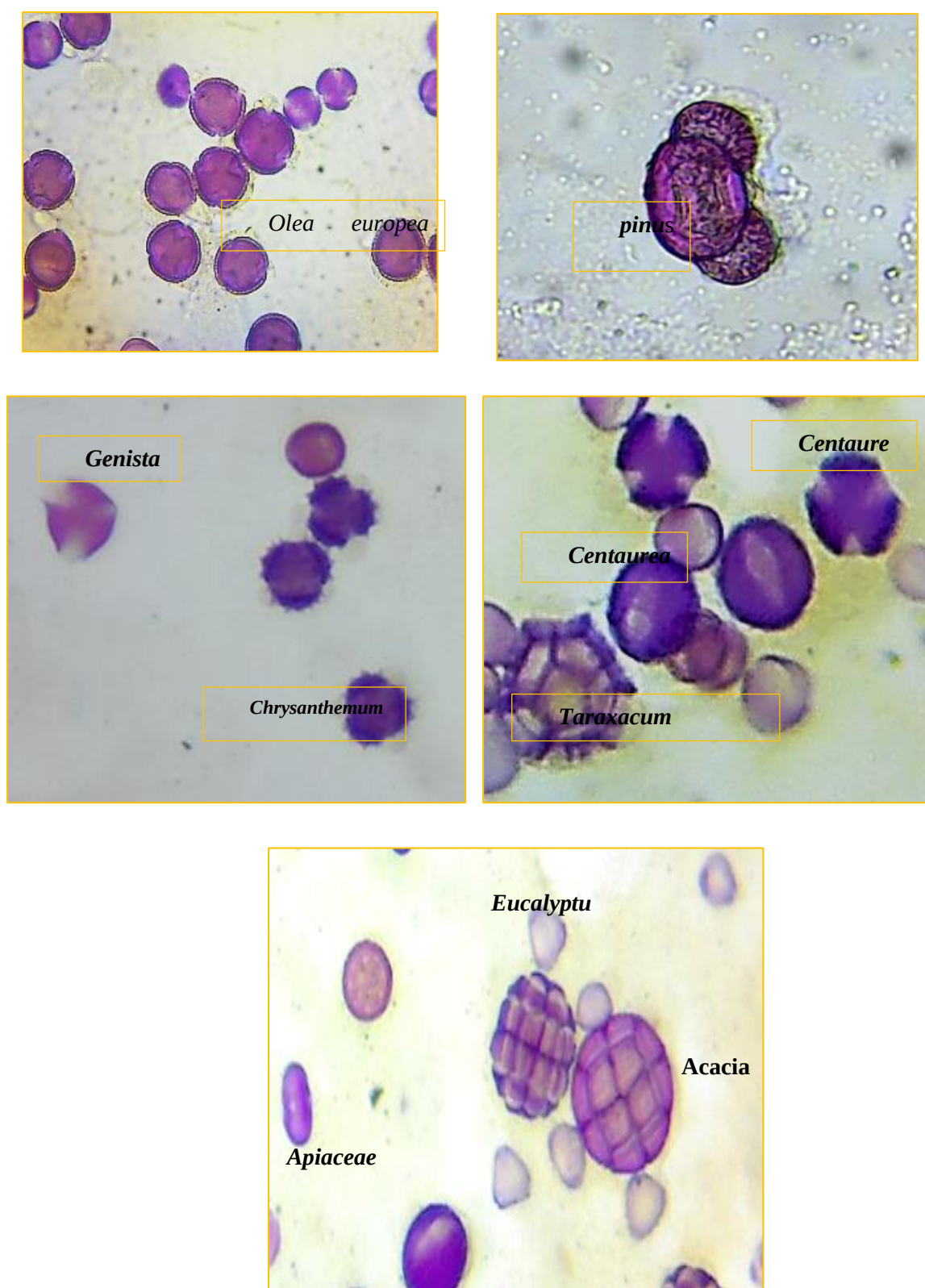


Figure 50 (1) : Aspect microscopiques des différents pollens trouvés dans les miels algériens



**Figure 50 (2) :** Aspect microscopiques des différents pollens trouvés dans les miels algériens





## **IV.2. Caractérisation physicochimique des miels algériens**

### **IV.2.1. Taux d'humidité (H°)**

Ce paramètre est un élément important pour l'évaluation du degré de maturité d'un miel et de sa durée de conservation pendant le stockage. La valeur moyenne enregistrée est de  $17,14 \pm 1,87\%$  (Annexe 04). Le miel E<sub>38</sub> d'El Taref contient le plus d'eau (25%), tandis que celui de Laghouat (E<sub>58</sub>), M'sila (E<sub>44</sub>) et Sidi Bel Abbès (E<sub>62</sub>) renferment le moins avec une moyenne de 14,6% chacun. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Marcucci et al. (2019), soit une valeur moyenne de  $17,2 \pm 1,46\%$  pour les miels brésiliens, mais sont différents de ceux trouvés par El Sohaimy et al. (2015) sur les miels égyptiens ( $18,32 \pm 0,67\%$ ), yéménites ( $16,28 \pm 0,22\%$ ), saoudiens, ( $15,64 \pm 0,03\%$ ) et kashmiris ( $14,73 \pm 0,36\%$ ). Selon Achour et Khali (2014), les teneurs en eau des miels algériens sont comprises entre 13 et 15%. En Malaisie, l'étude menée par Julika et al. (2019) révèle des teneurs allant de 19,4 à 30,9%. Quant à Conti et al. (2014), des valeurs de 15 à 19% sont notées pour les miels tchèques.

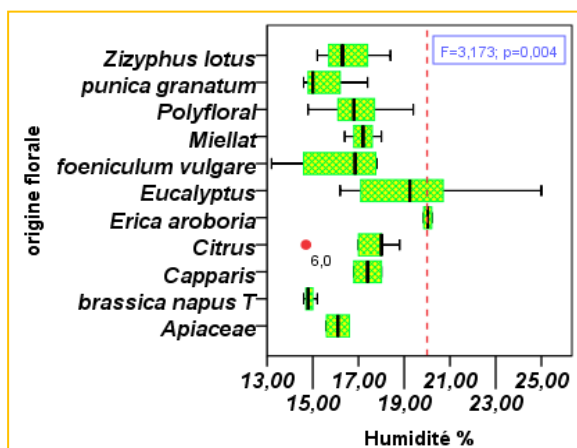
Sur les 63 miels analysés, 14 présentent des teneurs en eau supérieures à 18% et risquent donc de fermenter lors du stockage (Laredj et wafa, 2017). En effet, généralement, une quantité d'eau élevée provoque la fermentation du miel mais également une perte de sa saveur et de sa qualité. Elle pourrait aussi accélérer la cristallisation de certains types de miels c'est-à-dire à la séparation en deux phases, l'une liquide contenant le lévulose et qui fermente avec la plus grande facilité, l'autre solide est surtout constituée de glucose (Nair et Maghraoui, 2017). Du point de vue réglementaire, quatre miels dont 3 provenant de la région d'El-Taref (E<sub>38</sub>, E<sub>40</sub>, E<sub>41</sub>) présentent des teneurs supérieures à la limite maximale fixée par le *codex Alimentarius* (20%). Ces miels sont considérés donc de mauvaise qualité. La forte teneur en eau de certains miels peut s'expliquer par une récolte précoce, c'est-à-dire avant sa maturation ou aux mauvaises conditions d'extraction, d'entreposage et du conditionnement de stockage effectué par l'apiculteur, ce qui auraient engendré une réhydratation du miel (El Sohaimy et al., 2015). En effet, le miel a la capacité d'absorber l'humidité de l'air lorsqu'elle est supérieure à 55% (Dailly, 2008). De même, la température et le taux d'humidité qui règne dans la ruche lors de l'élaboration du miel par les abeilles influent sur la teneur finale en eau du miel (Ouchemoukh, 2012 ; Doukani et al., 2014). Sept échantillons présentent des teneurs inférieures à 15%, donc sont trop secs et visqueux et peuvent ralentir l'étape de diffusion des molécules de sucre et favorisent la cristallisation. Afin d'avoir des miels répondant aux normes, certaines techniques



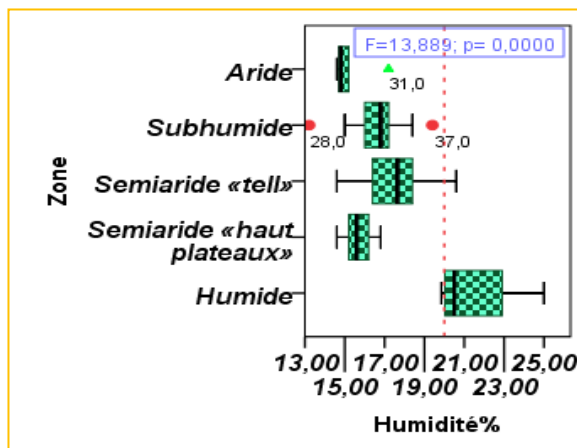
sont utilisées pour rectifier la teneur en eau, telles que la déshydratation ou bien la pasteurisation. Cependant, ces techniques sont très critiquées pour leurs conséquences sur les qualités diététiques et thérapeutiques du miel (Laallam, 2018).

Une variation significative ( $p=0$ ) de la teneur en eau des miels selon leurs zones de production a été constatée (Fig. 51). Les miels produits dans les zones arides et semi-arides des régions steppiques, où le climat est plus sec, les teneurs en eau sont les plus faibles, avec des valeurs moyennes de  $15,42\% \pm 1,01\%$  et  $15,76\% \pm 0,86\%$ , respectivement. Tandis que ceux provenant des zones humides semblent être les plus humidifiés ( $21,42 \pm 2,39\%$ ), suivis des zones subhumides ( $16,74 \pm 1,07\%$ ) et semi-arides des régions telliennes ( $17,46 \pm 1,46\%$ ), avec des oscillations comprises entre 19,85-25, 14,6-20,6, et 15-19,4%, respectivement. Ces résultats confirment l'influence du climat sur la teneur en eau des miels. L'influence de la nature du sol et la pluviosité explique en partie cette situation (Lewoyehu et Amare, 2019).

Plusieurs études ont également mis en évidence l'influence de l'origine botanique sur la teneur en eau des miels (Almasi et Sekarappa, 2019). Ceci semble être confirmé par le test statistique adopté. Ce dernier révèle une différence significative ( $p=0,004$ ) entre les échantillons selon le facteur "origine botanique" (Fig. 52). En moyenne, les plus humides sont les miels d'*E. arborea* ( $20,02 \pm 0,24\%$ ) suivis respectivement de ceux d'*Eucalyptus* ( $19,41 \pm 2,83\%$ ), *Capparis* ( $17,4 \pm 0,84\%$ ), *Citrus* ( $17,3 \pm 1,58\%$ ), *Miellat* ( $17,2 \pm 0,8\%$ ), polyfloraux ( $16,89 \pm 1,29\%$ ), *Z. lotus* ( $16,55 \pm 1,34\%$ ), *Apiacaea* ( $16,1 \pm 0,70\%$ ) et enfin les miels les plus secs (*P. granatum* =  $15,66 \pm 1,51\%$ ). Selon Laallam (2018), des valeurs moyennes de  $14,3 \pm 3,8$  -  $14,43 \pm 3,95$  et  $17,2\%$  concernent respectivement les miels d'*Eucalyptus*, *Z. lotus* et des fabacées récoltés dans les zones arides d'Algérie. Alors que les teneurs en eau des miels algériens de toutes fleurs et de *Z. lotus* produits dans les zones steppiques sont respectivement de l'ordre de  $14,06 \pm 0,65$  et  $13,93 \pm 0,66\%$  (Mekious et al., 2015). L'étude de Laredj et Waffa, (2017), sur dix échantillons de la région de Tiaret, montre des valeurs allant de 14,4 à 19,7%. La valeur moyenne en eau des miels de *Citrus* produits dans différentes régions du Pakistan est de  $18,83 \pm 1,25\%$ , tandis que ceux d'Égypte renferment  $19,74 \pm 0,26\%$  (Elenany, 2019 ; Sajid et al., 2019). D'après Seicho et al. (2019), la teneur en eau des miels de miellat collectés dans différentes régions d'Espagne est estimée à 17,056%. Bettar et al. (2015) enregistrent une amplitude de 15,8 à 21,7% dans les miels d'Euphorbe du Maroc. Les échantillons de miels de châtaigner corse présentent une teneur moyenne de 15,3 à 18,6% (Yang et al., 2012).



**Figure 52 :** Teneurs en eau des miels, selon leurs origines botaniques



**Figure 51 :** Teneurs en eau des miels, selon leurs zones de production

#### IV.2.2. pH

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu. Les miels sont généralement acides, en raison de la présence d'acides organiques, tels que les acides gluconiques provenant des sécrétions digestives des abeilles pendant l'élaboration du miel : l'acide pyruviques, l'acide maliques et l'acide citriques (Achouri et al.,

2015). Les pH des différents échantillons étudiés varient de  $3,58 \pm 0,01$  (E<sub>3</sub>) à  $4,66 \pm 0,00$  (E<sub>33</sub>) avec une moyenne de  $4,01 \pm 0,24$  (annexe 04). Des valeurs similaires ont été rapportés par d'autres auteurs pour les miels algériens (3,72 - 4,85), iraniens (4,1 - 5,5), marocains (3,52 - 5,13), malaisiens (3,22 - 4,03), éthiopiens (3,79 - 4,20), indiens ( $4,114 \pm 0,02$ ), égyptiens ( $4,415 \pm 0,09$ ), saoudiens ( $4,460 \pm 0,02$ ) et kashmiris ( $4,637 \pm 0,03$ ) (Chakir et al., 2011 ; Khalafi et al., 2016 ; Mehdi et al., 2016 ; Nabti et al., 2016 ; Laredj et Waffa, 2017 ; Mohammed et al., 2017 ; Lewoyehu et Amare, 2019; Selvaraju et al., 2019). Cependant, Azonwade et al. (2018) ainsi que Lokossou et al. (2017) enregistrent, dans les miels pakistanais, des valeurs plus élevées que ceux observés précédemment, soit 4,35 à 7,05. En Malaisie, Julika et al. (2019) signalent des pH plus acides (2,51 - 3,26).

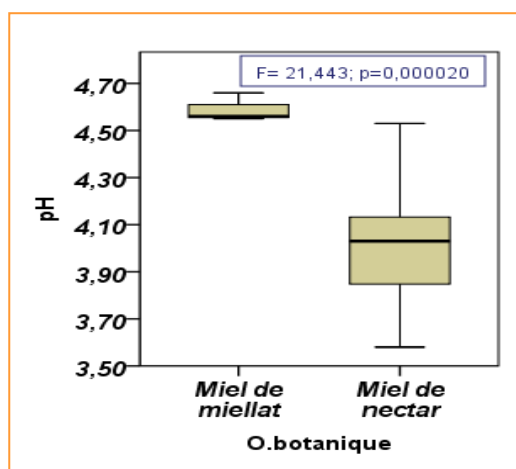
La mesure du pH d'un miel permet d'identifier sa nature (origine botanique). Les résultats indiquent des valeurs différentes. En effet, le pH moyen des miels issus du nectar est de  $3,98 \pm 0,20$  et celui du miellat est évalué à  $4,59 \pm 0,06$  (Fig. 53). Ces valeurs sont en accord avec les recommandations du *Codex Alimentarius* ; le pH varie de 3,5 à 4,5 et 4,5 à 5,5, respectivement pour les miels de nectar et de miellat. Ces valeurs sont comparables à ceux des miels marocains examinés par Chakir et al. (2011) ;  $4,93 \pm 0,21$  pour les miels de miellat et



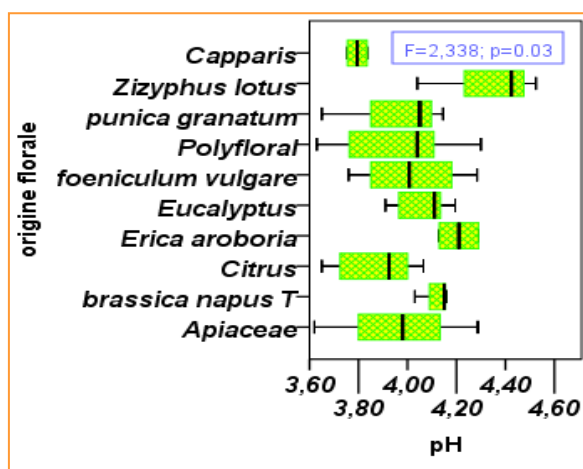
$3,91 \pm 0,04$  (miel de *Citrus*) à  $4,45 \pm 0,01$  (miel de Jujubier) dans les miels de nectar. Les résultats de l'analyse de 93 miels espagnols obtenus par Escuredo et al. (2019) se chiffrent à  $4,4 \pm 0,2$  pour les miels de miellats mais également pour les miels de nectar. Les miels indiens enregistrent des pH voisins de 3,78 et 3,45 pour les miels de miellat et de nectar, respectivement (Nayik et Nanda, 2015)

Un pH trop élevé, non conforme aux normes, indique une dégradation biochimique suite à de mauvaises conditions de récolte ou de conservation (Achour et Khalil., 2014). En outre, une augmentation de l'acidité d'un miel peut également être un indicateur de la fermentation de ce dernier (Rebiai et al., 2015 ; Selvaraju et al., 2019). Du point de vue thérapeutique, les miels à pH bas inhibent mieux la croissance et la prolifération des micro-organismes et donc présentent un meilleur pouvoir antibactérien (Julika et al., 2019). Selon Rebiai et al. (2015), le pH d'un miel est important au cours du processus d'extraction, car il affecte la texture du miel, sa stabilité et sa durée de vie.

Il a été constaté, également, une variation significative ( $p=0,03$ ) du pH entre les différentes origines florales des miels de nectars (Fig. 54). Les miels de *Z. lotus* sont les moins acides ( $pH = 4,42 \pm 0,27$ ) suivis successivement des miels d'*E. arborea* ( $4,21 \pm 0,11$ ), d'Apiaceae ( $4,13 \pm 0,22$ ) et de *B. napus* ( $4,11 \pm 0,72$ ). Les miels les plus acides sont ceux de *Capparis* ( $3,8 \pm 0,06$ ) et *Citrus* ( $3,86 \pm 0,2$ ). Ces résultats confirment l'influence de la flore butinée sur le pH (Khalafi et al., 2011 ; Almasi et Sekarappa, 2019). D'autres facteurs influent, également, sur la variation tels que, l'origine géographique, les conditions du sol, la sécrétion salivaire de l'abeille et le processus enzymatique qui se produit pendant la transformation de la matière première et la teneur en minéraux (Khiati, 2014 ; El-Metwally, 2015).



**Figure 53 :** Variation du pH de l'ensemble des miels analysés



**Figure 54 :** pH des miels issus du nectar



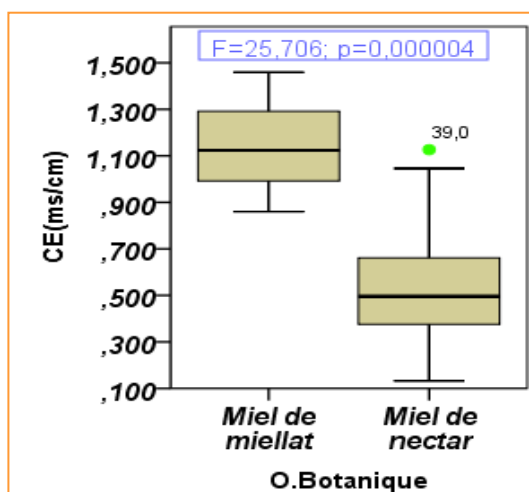
### IV.2.3. Conductivité électrique (CE, en mS/cm)

La conductivité des miels analysés enregistre des valeurs se situant entre  $0,132 \pm 0,002$  et  $1,459 \pm 0,00$  mS/cm, avec une moyenne de  $0,556 \pm 0,26$  mS/cm (annexe 04). L'amplitude des résultats est beaucoup plus large par rapport à celles rapportées par Bettar et al. (2015) et Boussaid et al. (2014) sur les miels marocains (0,22 à 0,87 mS/cm) et tunisiens (0,39 à 0,89 mS/cm), respectivement. Le miel de la Polynésie française présente une conductivité électrique très élevée allant de 0,756 à 1,535 mS/cm (Rogers, 2017). Selon Ouchemoukh et al. (2007) ; Makhoulfi et al. (2010) ; Benaziz et Schweitzer (2010) ; Bendeddouche et Dahmani (2011) ; Draiaia et al. (2014) et laallam (2018), les résultats de 330 miels algériens sont compris entre 0,10 et 2,56 mS/cm).

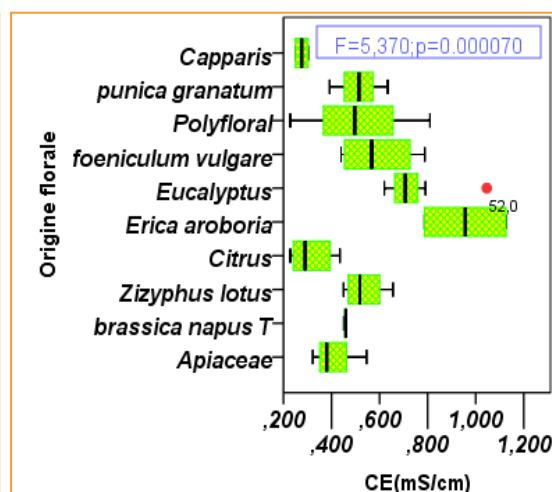
La mesure de la conductivité permet de différencier le miel de nectar des miels de miellat et elle est désignée aujourd'hui comme un paramètre de qualité fiable lors des contrôles de routine, qui remplace la teneur en cendres (Bettar et al., 2015). Selon Chouia (2014), cette dernière est plus longue, coûteuse et comporte des erreurs plus élevées. De plus, la teneur en cendres représente une mesure directe de résidus inorganiques après carbonisation du miel, tandis que la conductivité électrique mesure toutes substances organiques et inorganiques (Silva et al., 2017a). Comme le montre la figure 55, les miels issus du miellat présentent les valeurs les plus élevées ( $1,148 \pm 0,3$  mS/cm), tandis que ceux issus du nectar montrent des valeurs faibles : 0,133 (E<sub>42</sub>, miel d'*H. coronarium*) à  $1,126 \pm 0,02$  (E<sub>39</sub>, miel d'*E. arborea*), avec une moyenne de  $0,517 \pm 0,206$  mS/cm. Hormis les miels de nectars E<sub>52</sub> et E<sub>39</sub> (Conductivité >0,8 mS/cm), toutes les valeurs sont en accord avec les normes établies par le *codex alimentarius* qui préconise une valeur seuil fixée à <0,8 mS/cm pour le miel de nectar et >0,8 mS/cm en ce qui concerne le miellat. Cela peut s'expliquer par le fait que les miels de couleur foncé (E<sub>32</sub>) ou bien riches en pollens (E<sub>52</sub>) sont généralement plus abondants en matière minérale ionisable et sont donc de bons conducteurs de courant, ce qui leur permet de présenter des conductivités plus élevées. En outre, il est possible que ces miels soient des miels mixtes c'est-à-dire un mélange de miellat et de nectar (Codex Alimentarius, 2001 ; EU, 2001 ; Bogdanov, 2002). Comparativement, les conductivités électriques des miels espagnols sont légèrement plus élevées ( $0,540 \pm 0,2$  mS/cm) que ceux issus de nectars mais sont plus faibles ( $0,830 \pm 0,2$  mS/cm) par rapport à ceux issus de miellats (Escuredo et al., 2012). D'après Chakir et al. (2016), les conductivités des miels de nectar marocains sont moyennement comprises entre  $0,129 \pm 0,1$  (miel de romarin) et  $0,9 \pm 0,1$  mS/cm (miel de caroube), tandis que celles de miellats varient



entre 0,497 et 1,741 mS/cm. De plus, une variation significative ( $p=0,00004$ ) a également été constatée entre les différentes variétés de miels de nectar (Fig. 56). En effet, la conductivité des miels de nectars est, principalement, sous la dépendance de leur source florale ; constatation prouvée par plusieurs auteurs (Khalafi et al., 2016 ; Marcucci et al., 2019 ; Razieh et Sekarappa, 2019). Les conductivités les plus élevées ( $4,420 \pm 0,27$  mS/cm) sont observées par les miels d'*E. arborea*, suivies d'*Eucalyptus* ( $0,747 \pm 0,144$  mS/cm), des *F. vulgare* ( $0,590 \pm 0,166$  mS/cm) et des *Z. lotus* ( $0,535 \pm 0,08$  mS/cm). Les miels de *Capparis* et *Citrus* se sont montrés les moins conductibles avec des moyennes de  $0,276 \pm 0,01$  et  $0,317 \pm 0,09$  mS/cm, respectivement. Ceci laisse penser que les miels d'*E. arborea* sont les plus riches en minéraux. En effet, selon Majewska et al. (2019), une corrélation linéaire est conclue entre la conductivité électrique et la teneur en matières minérales d'un miel. D'autres facteurs influent, également, sur la variabilité de la conductivité tels que l'acidité, sa composition en protéines et autres substances ionisables, la variabilité de l'origine botanique de ces miels ainsi que les conditions climatiques de la région de récolte (Fechner et al., 2016).



**Figure 55 :** Variation de la Conductivité électrique des miels analysés



**Figure 56 :** Conductivité électrique des miels issus du nectar

#### IV.2.4. Teneur en Hydroxyméthyl-furfural

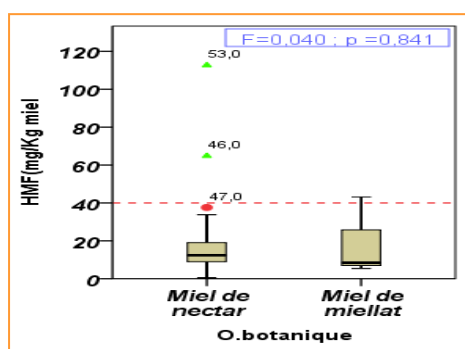
La dégradation des fructoses, en présence d'un acide, peut amener à la formation d'un dérivé hétérocyclique à fonction carbonylée qui est l'Hydroxyméthyl-5-furfural ou HMF (Rabeharifara, 2011). Selon Makhoulfi et al. (2010), ce composé organique (HMF) est naturellement présent, dans tous les miels à la récolte, à l'état de trace (1 à 3mg/kg). Son taux augmente lentement et naturellement avec le temps lors du stockage, cependant un traitement thermique accélère sa formation (Achour et Khalil., 2014). D'autres facteurs tels que l'acidité



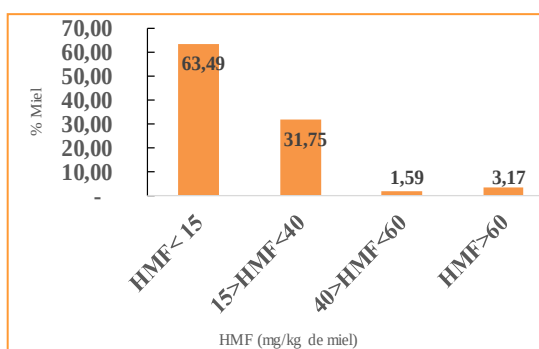


et la teneur en eau élevée favorisent également sa formation (Rabeharifara, 2011). Ainsi, la détermination de la quantité de HMF est un excellent indicateur pour apprécier la qualité et la fraîcheur du miel (Khalafi et al., 2016). C'est un critère important pour évaluer le temps de stockage et les dommages causés par la chaleur, le surchauffage et le vieillissement du miel.

L'HMF des échantillons varie entre  $0,37 \pm 0,005$  et  $112,62 \pm 2,02$  mg/kg avec une moyenne de l'ordre de  $17,6 \pm 16,4$  mg/kg (annexe04, Fig. 57). Tous les échantillons sont conformes à la valeur seuil fixée par le *codex alimentaire* (40 mg/Kg), à l'exception de 3 (E<sub>42</sub>, E<sub>46</sub> et E<sub>60</sub>). En tenant compte de la norme réservée aux miels produits sous climats chauds (<60 mg/Kg), seul l'échantillon E<sub>42</sub> ( $112,62 \pm 2,02$  mg/kg) est exclu de cette norme de qualité. Le taux élevé de HMF dans ce miel pourrait être expliqué par le chauffage exagéré lors de l'extraction. Généralement, avant l'extraction, les apiculteurs pratiquent un préchauffage des hausses contenant le miel, pour accélérer son extraction et son écoulement rapide. Alors que d'autres exposent au soleil les hausses pendant plusieurs heures (Laallam, 2018). Parmi les 63 échantillons analysés, 40 affichent des taux inférieurs à 15 mg/kg (Fig. 58). Ce sont donc de très bonne qualité et correspondent aux normes de qualité optimale du miel. L'analyse des miels pakistanais (65 échantillons) a permis d'obtenir des valeurs variables allant de 24,45 à 40,68 et de 316,86 à 516,26 mg/kg, respectivement pour les miels frais et commercialisés (Sajid et al., 2019). Au Maroc, elles balancent entre 0,75 et 85,48 mg/Kg (Bettar et al., 2015). En outre, Al-Ghamdi et al. (2019) ; Kivrak et al. (2017) signalent des présences beaucoup très faibles dans les miels saoudiens et indiens (3,78 et 3,87 - 4,64 mg/kg, respectivement). Du fait de sa propriété extrinsèque, la teneur en HMF ne peut être utilisée pour la détermination de l'origine botanique des miels. Le HMF et ses dérivés confèrent de nombreux effets néfastes, notamment génotoxiques, mutagènes, cancérigènes, endommageant l'ADN, organotoxiques et inhibiteurs des enzymes (Shapla et al., 2018).



**Figure 57 :** le taux de HMF des miels analysés



**Figure 58 :** Répartition des miels, selon leurs teneurs en HMF



### IV.2.5. Indice diastasique

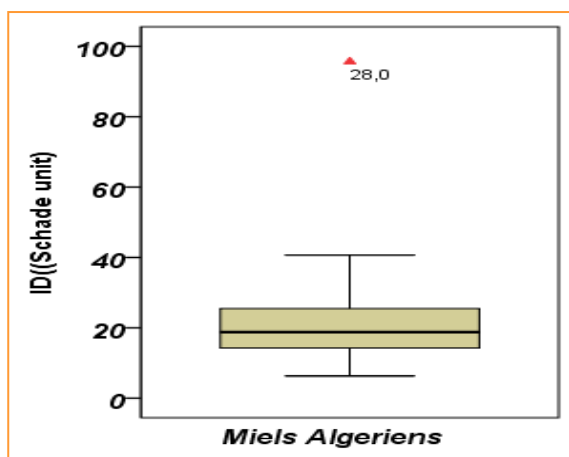
La diastase est une enzyme naturellement présente dans le miel. L'activité de la diastase constitue l'outil de mesure des activités combinées des deux enzymes ( $\alpha$ -amylase et  $\beta$ -amylase) sécrétées par les sécrétions salivaires des abeilles (Chua et al., 2014). L'importance de cette enzyme réside dans le fait que sa présence est considérée comme un indice de qualité (Kahraman et al., 2010). Ainsi, le Codex Alimentaire inclut sa détermination comme un standard de qualité (Aldcorn et al., 1985 ; Makhoulfi et al., 2007).

L'activité de la diastase est influencée par le stockage (plus le stockage est long, plus l'activité de diastase diminue) et le surchauffage du miel (Simsek et al., 2012). La diastase est une molécule très sensible au traitement thermique, mais sa vitesse de destruction à une température au-dessous de 15°C est très faible. À partir de 20°C, l'activité diastasique commence à diminuer et plus la température augmente plus les enzymes se dénaturent (Ahmed, 2014). Les valeurs de l'indice diastasique obtenues varient de 6,30 à 95,66 ; avec une moyenne de  $20,92 \pm 12,33$  Unités Schade (annexe 04, Fig. 59). Comparativement, les travaux de Draiaia et al. (2016), sur la richesse en amylase des miels algériens révèlent des valeurs plus basses comprises entre 0,391 et 14 avec une moyenne de  $20,98 \pm 15,6$  Unités Schade. Alors pour ceux éthiopiens, des données différentes sont publiées :  $36,5 \pm 1,93$  -  $4,85 \pm 2,36$  Unité de Schade (Belay et al., 2017). Quant aux miels marocains, des activités diastasiques de l'ordre de 4,3 et 24,6 Unité de Schade sont notées Chakir et al. (2011). La quasi-totalité des miels analysés (60) présentent des activités enzymatiques supérieures à la valeur minimale requise par la législation (8 Unités de schade), ce qui les caractérise comme miels frais. Ces derniers ont été stockés dans de bonnes conditions et/ou qu'ils n'ont pas été trop réchauffés. Les trois échantillons restants ( $E_{57}$ ,  $E_{42}$  et  $E_{46}$ ) montrent des activités diastasiques inférieures à la valeur minimale autorisée ( $< 8$  Unités de schade). Ces miels ne sont donc pas conformes aux normes et sont considérés comme étant de mauvaise qualité. Cependant, le miel de romarin ( $E_{57}$ ), en présence de  $9,06 \pm 0,41$  mg de HMF dans 100g peut être considéré comme étant conforme aux normes malgré sa faible activité diastasique (6,44 Unités de schade). En effet, la réglementation tolère jusqu'à 3%, pour certains miels dont la teneur naturelle en enzymes est basse (miel de romarin), à condition que le taux de HMF soit inférieur à 15 mg/kg (Parias et al., 2017). D'autres variétés font également partie de la catégorie des miels ayant naturellement une faible activité diastasique tels que le miel d'acacia (*Robinia*), d'oranger (*Citrus*), de pissenlit (*Taraxacum*), de bruyère (*Erica*) et d'arbousier (*Arbutus*), tandis que ceux de sainfoin d'Espagne (*Hedysarum*), de miellat, d'Eucalyptus (*Eucalyptus*), de châtaignier (*Castanea*) et de thym (*Thymus*)

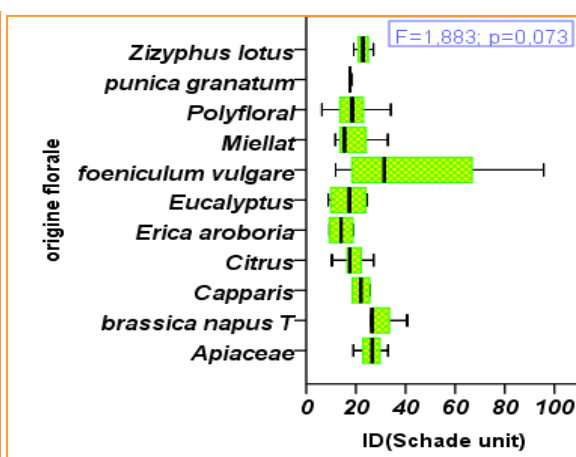


présentent un indice diastasique élevé (Persano-Oddo et al., 1990). En outre, les échantillons E<sub>42</sub> et E<sub>46</sub> procèdent respectivement des indices diastasiques de 6,71 et 6,31 avec des valeurs respectives en HMF de 112,62 et 64,79 mg/Kg, ce qui nous incite à penser que ces miels ont été chauffés ou bien ont subi un mauvais conditionnement.

D'un autre côté, plusieurs études ont mis en évidence le rapport entre l'origine botanique d'un miel est son activité enzymatique (Belay et al., 2017 ; Sajid et al., 2019). Cependant, ceci n'a pas pu être confirmé dans le cas de cette recherche ( $p = 0,073$ ) entre les miels originaires de différentes sources florales (Fig. 60). Ceci peut s'expliquer par le fait que l'activité enzymatique d'un miel de même origine florale peut éventuellement varier, en raison de la contribution de l'environnement dans laquelle les espèces de la flore à miel se développent et de la présence de différentes races d'abeilles principalement régies par des facteurs biotiques et abiotiques (Adgaba et al., 2017). D'autres facteurs peuvent influencer la teneur en enzymes des miels tels que l'âge des abeilles, l'intensité de flux de nectar et son contenu périodique en sucres (un débit élevé de nectar concentré conduit à une baisse de la teneur en enzymes), la performance physiologique de l'abeille et sa consommation de pollen (Khan et al., 2015 ; Silva et al., 2016). La faible activité de la diastase se produit lorsque les abeilles sont nourries artificiellement (Guler et al., 2014).



**Figure 59** : Variation de l'indice diastasique des miels analysés



**Figure 60** : Indices diastasiques des miels, selon leurs origines botaniques

#### IV.2.6. Dosage des sucres

Les sucres du miel sont responsables de nombreuses propriétés physicochimiques telles que la viscosité, l'hygroscopicité et la cristallisation (Cavia et al., 2002). La répartition entre les différents sucres donne de précieux renseignements permettant de prévoir la vitesse de cristallisation et la stabilité de la structure d'un miel (Pourtallier et al., 1970). Elle donnera

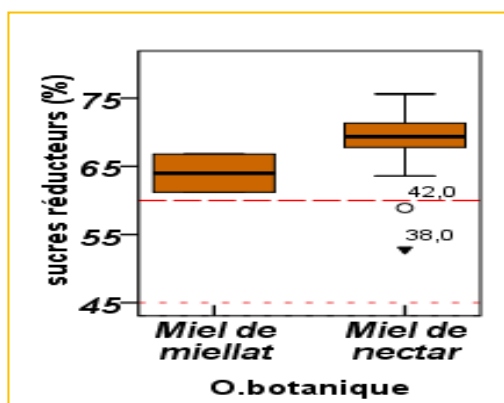


également des informations sur l'origine du miel. Pour cette raison de nombreux auteurs ont étudié le profil glucidique des miels de différentes origines, en utilisant plusieurs méthodes tels que l'HPLC et la RMN (Escuredo et al., 2014 ; Nayik et al., 2015 ; Missler et al., 2016 ; Belay et al., 2017; Marquele-oliveira et al., 2017).

Dans le présent travail, les sucres dosés à partir de 58 miels algériens par la méthode de la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) sont au nombre de dix : glucose, fructose, mannose (monosaccharide), saccharose, maltose, turanose, gentiobiose (disaccharides), mélézitose, maltotriose et raffinose (oligosaccharides). Les données sont illustrées dans les figures 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 et 70 et le tableau de l'annexe 05.

Le glucose et le fructose représentent les monosaccharides réducteurs de base des miels. Leurs présences est le résultat de l'action de l'enzyme invertase sur le saccharose (Clémence, 2005). Comme indiqué dans la figure 61, la teneur en sucres réducteurs des miels étudiés varie de 52,8 à 75,6% (moyenne = 69,16%) et 61,2 à 66,8% (moyenne =  $64,00 \pm 3,95$ ) pour les miels de nectar et de miellat, respectivement. Ces résultats justifient la dominance de ces constituants parmi les sucres (éléments majeurs du miel). Excepté l'échantillon E<sub>38</sub> (52,8%), toutes les valeurs obtenues sont en accord avec les normes établies par le *codex alimentarius* préconisant une valeur seuil fixée à >60% pour le miel de nectar et >45 g/100 g pour les miels de miellat. Il est possible que cette particularité soit un mélange de miellat et de nectar, du fait qu'il est issu d'un écosystème forestier. Les résultats obtenus se rapprochent de ceux récapitulés par Adjlane et al., 2014 (62,5-90,12%), sur d'autres miels algériens. Otmani et al. (2019) ont trouvé des valeurs moyennes de  $60,4 \pm 0,00$ . En Ethiopie, des résultats comparables ( $64,93 \pm 1,53\%$ ) ont été également annoncés par Lewoyehu et Amare (2019). Selon Selvaraju et al. (2019), la teneur en sucres réducteurs des miels malaisiens est comprise entre 40 et 92%. Ceux des saoudiens, kashmiris, égyptiens et yéménites présentent respectivement des totaux moyens de  $72,36 \pm 0,32$  -  $15,11 \pm 0,25$  -  $69,84 \pm 0,31$  et  $64,21 \pm 0,21$  g/100 g.

La variation observée est principalement due à la variation des sources végétales à partir desquelles les miels ont été produits. Cependant, d'autres facteurs influencent également cette variation, tels que le degré de maturation atteint par le miel dans la ruche ou la conversion des sucres en acides organiques (Cavia et al., 2007).



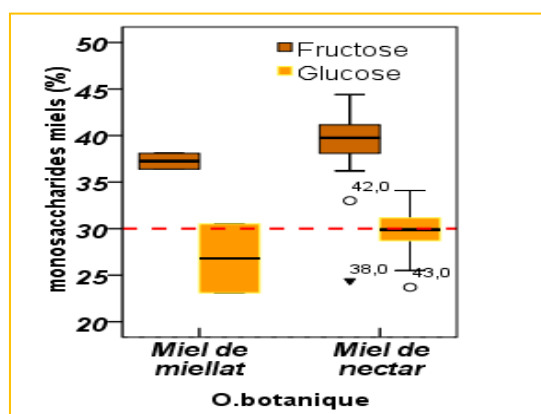
**Figure 61 :** Variation de la teneur en sucres réducteurs des miels Analysés

Comme la montre la [figure 62](#), quantitativement, la concentration en fructose des miels analysés est toujours le plus importante, elle varie de 24,4 à 44,4 avec une moyenne de  $39,37 \pm 2,89$  pour les miels de nectars et de 36,4 à 38,1 avec une moyenne de  $37,25 \pm 1,2$  pour les miels de miellats, tandis que celle du glucose est comprise entre 23,7 et 34,1% avec une moyenne  $29,78 \pm 2,04$  (miel de nectar) et entre 23,1 et 30,5 avec une moyenne de  $26,8 \pm 5,23$  (miel de miellat). Ces résultats correspondent à ceux montrés par [Boussaid et al. \(2014\)](#) en Tunisie ( $37,84 \pm 0,04$  -  $35,78 \pm 0,04$ ), [Combarros-Fuertes et al. \(2018\)](#) en Espagne ( $34,89 \pm 0,99$  -  $38,97 \pm 1,79$ ), [Khalafi et al. \(2016\)](#) en Iran ( $31,5 \pm 0,6$  -  $37,5 \pm 0,3$ ) et [El Sohaimy et al. \(2015\)](#) pour les miels saoudiens ( $50,78 \pm 0,41$  -  $21,58 \pm 0,18$ ), égyptiens ( $43,30 \pm 0,24$  -  $26,54 \pm 0,31$ ), yéménites ( $38,76 \pm 0,20$  -  $25,45 \pm 0,22$ ) et Kachemiris ( $4,48 \pm 0,31$  -  $10,63 \pm 0,32\%$ ). Lorsque la concentration du glucose est supérieure à 30%, le miel a une plus grande tendance à se cristalliser ([Rogers, 2017](#)). Parmi les échantillons analysés, Vingt-sept (27) montrent des concentrations supérieures à 30% (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>7</sub>, E<sub>8</sub>, E<sub>9</sub>, E<sub>10</sub>, E<sub>19</sub>, E<sub>22</sub>, E<sub>23</sub>, E<sub>24</sub>, E<sub>25</sub>, E<sub>26</sub>, E<sub>27</sub>, E<sub>28</sub>, E<sub>33</sub>, E<sub>36</sub>, E<sub>40</sub>, E<sub>41</sub>, E<sub>45</sub>, E<sub>50</sub>, E<sub>51</sub>, E<sub>57</sub>, E<sub>60</sub>, E<sub>61</sub>, E<sub>62</sub> ([Fig. 63](#)). Les facteurs de la zone de récolte et de l'origine florale n'ont montré aucune variation significative sur la quantité de glucose ([Fig. 64](#)), contrairement, au fructose ( $p=0,001$ ). Selon leurs zones de récolte, les miels produits dans les zones humides présentent les plus faibles concentrations en fructose avec une moyenne de  $34,2 \pm 6,56\%$  suivies des régions steppiques des zones semiarides ( $37,42 \pm 3,03\%$ ) ([Fig. 64](#)). Les miels produits dans les zones arides, semiarides des régions steppiques et subhumides présentent respectivement des valeurs moyennes de  $39,9 \pm 0,45$  ;  $39,42 \pm 1,92$  et  $40,33 \pm 1,98\%$ .

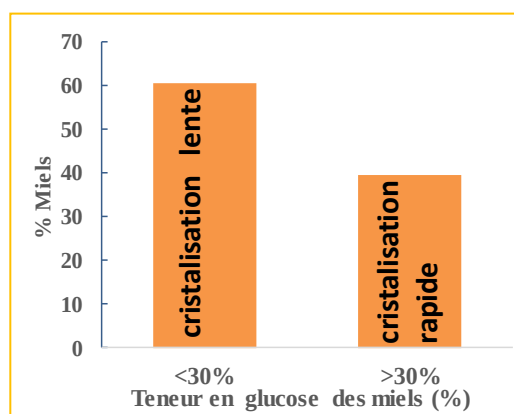
[Louveaux \(1985\)](#) rapporte que le rapport glucose/eau (G/E) est plus approprié que le rapport F/G pour la prédiction de la cristallisation du miel. La cristallisation du miel est lente



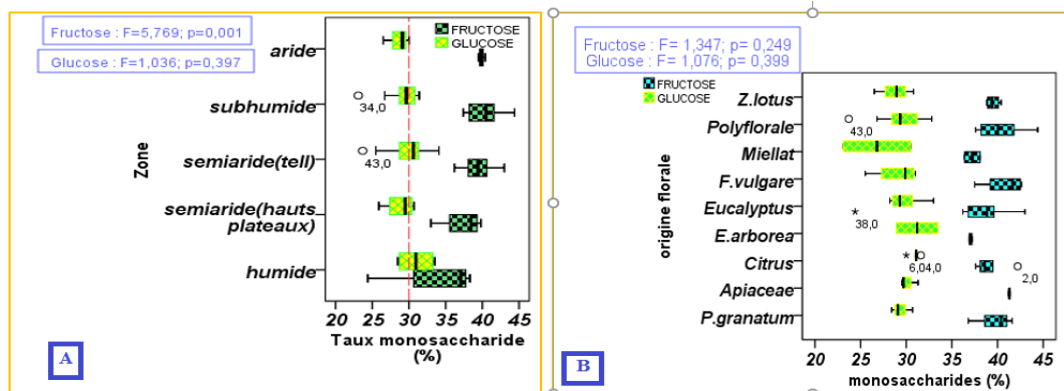
ou nulle lorsque le rapport G/E est inférieur à 1,6, et elle est complète et rapide lorsque le rapport est supérieur à 2,2 (Dailly, 2008). Selon les résultats, 26,98% des échantillons présentent des ratios inférieurs à 1,6 et 3,17% révèlent des rapports supérieurs à 2,2 ce qui les rend plus sensibles à la cristallisation, car la teneur en eau est faible et les molécules de glucose ont tendance à se regrouper rapidement pour former des cristaux (Fig. 65). Ainsi, 68,25% des miels cristallisent lentement. Outre les ratios F/G et G/E, plusieurs facteurs, notamment la poussière, les grains de pollens, l'agitation, les bulles d'air et la température de stockage pourraient influencer sur le processus de cristallisation (Buba et al., 2013 ; EL-Metwally, 2015). Au cours du vieillissement, une perte de dextrose et de lévulose et une augmentation significative du nombre de disaccharides réducteurs (comme le maltose) sont observées, ce qui entraîne par conséquent une modification du rapport F/G (Amir et al., 2010)



**Figure 62 :** Variation de la teneur monosaccharides des miels analysés



**Figure 63 :** cristallisation des miels, selon leurs teneurs en glucose



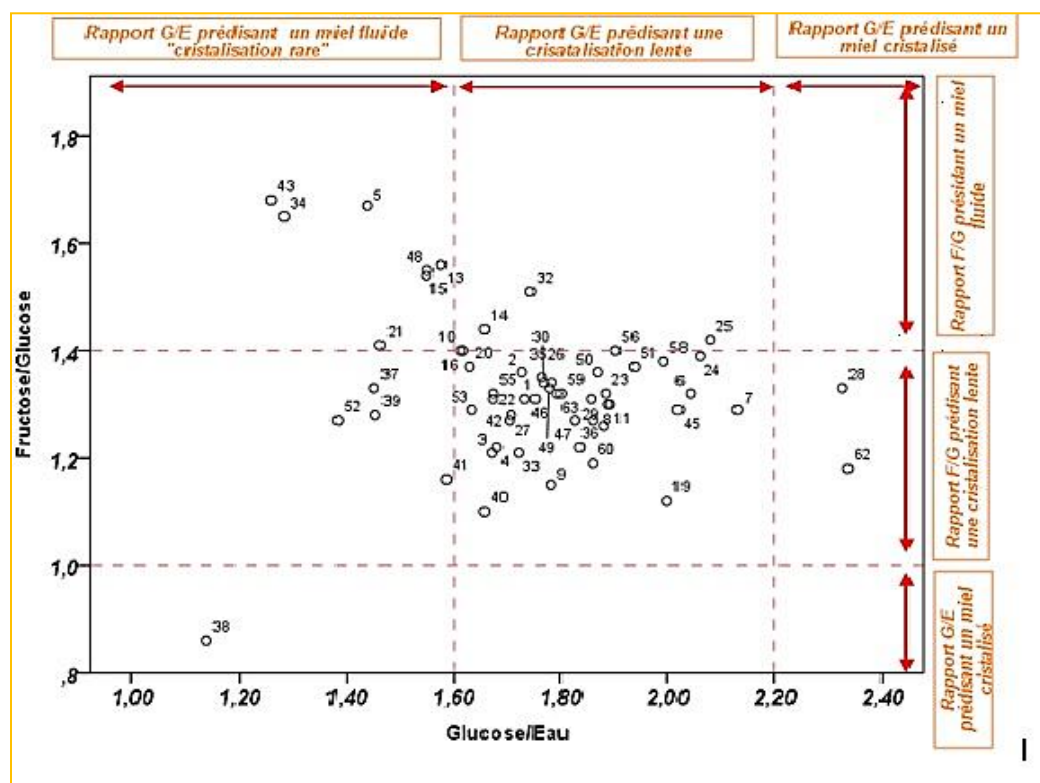
**Figure 64 :** Teneurs en monosaccharides des miels algériens selon leurs origines. A : Zones de production, B : Origines florales.

Le mannose est également un monosaccharide communément quantifié dans les miels. Sa présence en quantité importante est un excellent marqueur d'adultération ou bien de





falsification par ajout de sirop spécifique (Missler et al., 2016). Dans cette étude, le mannose n'est nullement détecté.



**Figure 65 :** Vitesse de cristallisation des miels algériens, selon le rapport F/G et G/E

Les disaccharides détectés dans les miels analysés sont le saccharose, le maltose et le turanose. Le saccharose est un mélange de fructose et glucose et sa teneur dans un miel est un paramètre d'authenticité. Sur les 59 échantillons de miels analysés, le saccharose n'est détecté que dans 20 d'entre eux (E<sub>3</sub>, E<sub>6</sub>, E<sub>7</sub>, E<sub>9</sub>, E<sub>19</sub>, E<sub>25</sub>, E<sub>27</sub>, E<sub>29</sub>, E<sub>30</sub>, E<sub>32</sub>, E<sub>33</sub>, E<sub>34</sub>, E<sub>35</sub>, E<sub>41</sub>, E<sub>43</sub>, E<sub>47</sub>, E<sub>57</sub>, E<sub>58</sub>, E<sub>62</sub>, E<sub>63</sub>.) avec un minimum de 0,5 (E<sub>27</sub>, E<sub>58</sub>) et un maximum de 3,3% (E<sub>6</sub>), soit une valeur moyenne de l'ordre de  $1,25 \pm 0,5\%$  (Annexe 05, Fig. 66). Tous les échantillons répondent aux recommandations établies par le *codex Alimentarius* dont la limite maximale est de 5%. Ces résultats prouvent la conformité des miels (aucune falsification), et qu'ils ont été récoltés à un stade idéal de maturité. Également, l'alimentation des abeilles par un sirop de saccharose est soit peu utilisée soit très bien contrôlée. En effet, une teneur élevée en saccharose peut être attribuée à des raisons telles que l'ajout de sucre commercial, ou une récolte précoce de miels, dans laquelle le saccharose n'a pas été entièrement transformé en glucose et fructose ou une suralimentation des abeilles avec du sirop de saccharose (Belhaj et al., 2015). En comparaison avec à ces résultats, des données plus élevées (2,75 - 4,08%) sont enregistrées par Doukani et al. (2014). De même, Belhaj et al. (2015) signalent, également, des valeurs supérieures, elles



varient entre 2,15 à 3,10%. Certains miels monofloraux comme ceux des agrumes, *Hedysarum*, les *Medicago* et *Robinia* peuvent contenir naturellement jusqu'à 10% de saccharose, alors que jusqu'à 15% peut être accumulés pour les miels de *Lavandula* (Bogdanov et al., 1999). Ceci peut expliquer la forte teneur en saccharose de l'échantillon E<sub>06</sub>, (miel d'agrumes) par rapport aux autres miels analysés.

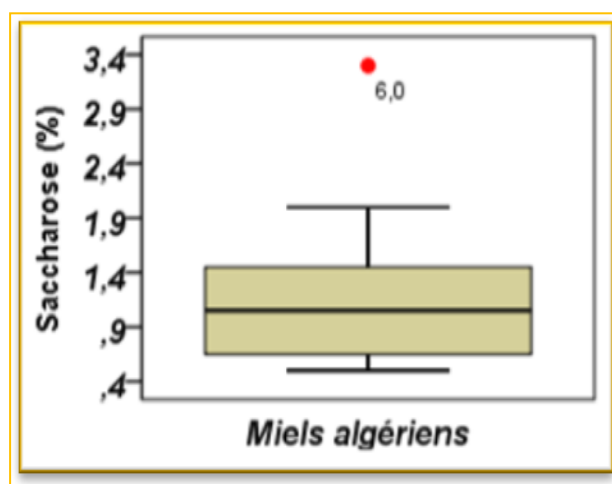


Figure 66 : Variation de la teneur en saccharose des miels analysés

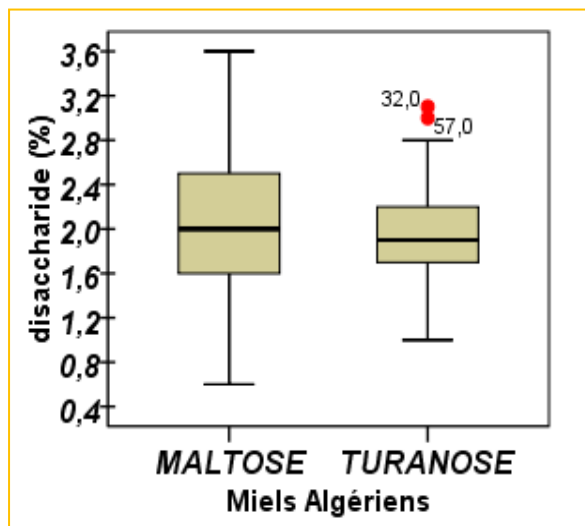
Le maltose est détecté dans tous les miels analysés. Sa concentration varie de 0,6 (E<sub>14</sub>) à 3,6% (E<sub>29</sub>) avec une moyenne atteignant  $2,05 \pm 0,63\%$  (Annexe 05, Fig. 67). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Belay et al. (2017) dans les miels éthiopiens ( $0,6 \pm 0,3$  à  $2,0 \pm 0,5$  g/100 g). Cependant, ils sont inférieurs à ceux rapportés par Mékious et al. (2015) sur les miels algériens (2,21 à 5,98%). Selon Nayik et al. (2015), le pourcentage du maltose dans les miels indiens varie de  $1,07 \pm 0,02$  à  $1,36 \pm 0,09\%$ . Agwu et al. (1989) constatent l'absence totale du maltose dans certains miels nigériens.

D'après Ahmed et al. (2012) et Devillers et al. (2004), la teneur en maltose des miels naturels est généralement inférieure à 30 mg/g, excepté certains provenant de certaines plantes qui peuvent atteindre jusqu'à 50 mg/g. Toutefois, aucune réglementation n'exige un seuil limite. Une concentration trop élevée en maltose peut être un indicateur de falsification. En effet, certains apiculteurs utilisent le maltose comme additif pour augmenter son goût sucré (Fujita, 2012). Selon Low et al. (1986), le nectar n'est pas la source de synthèse du maltose, mais il provient de l'activité de la trans-glycosylation des enzymes  $\alpha$ - et  $\beta$ -glucosidases apportées par les abeilles au cours du processus de fabrication du miel.

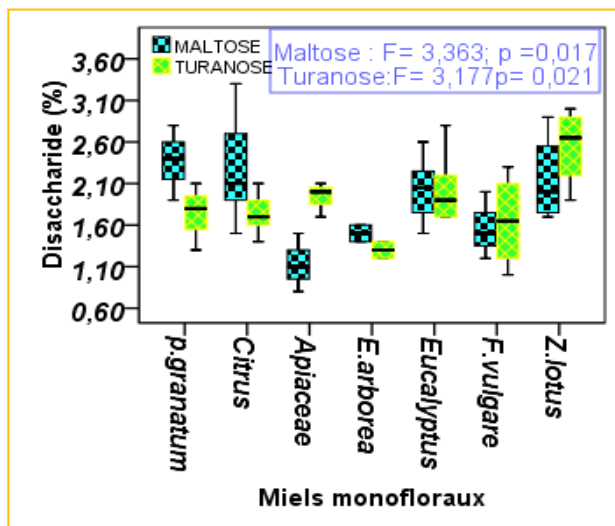


Le test ANOVA révèle l'existence d'une différence significative ( $p = 0,017$ ) entre les miels monofloraux, ceux de *P. granatum* et de *Citrus* sont les plus riches en maltose ( $2,36 \pm 0,45$  et  $2,3 \pm 0,7\%$ , respectivement). Cependant, les miels où prédomine la famille des *Apiaceae* sont les moins riches (Fig. 68). Ceci confirme l'influence de l'origine florale sur la teneur en maltose des miels. Saleh et al. (2013) signalent des concentrations plus élevées (moyenne =  $4,6 \pm 0,05\%$ ) dans les miels de *Citrus* iraniens que celles trouvés au cours de la présente étude. Par ailleurs, elle est égale à  $1,36 \pm 0,04$  et  $4,31 \pm 0,05\%$  dans les miels de *Citrus* et d'*Eucalyptus* tunisiens (Boussaid et al., 2014). Le maltose est, généralement, en faible concentration dans le miellat (Escuredo et al., 2014). Ceci n'a pas été confirmé dans cette étude puisque qu'aucune différence de concentration en maltose n'a été trouvée entre les miels de miellat ( $2,05 \pm 0,63\%$ ) et ceux de nectar ( $2,05 \pm 0,63\%$ ).

Le turanose et le gentiobiose sont d'autres disaccharides communément analysés. Ces sucres sont fréquemment présents dans les miellats (Gašić et al., 2014a). La concentration de turanose varie de 1 à 3% avec la concentration maximale attribué à l'échantillon E<sub>32</sub> provenant de la région de Naâma (Annexe 05, Fig. 67). L'analyse statistique décèle une variation significative entre les teneurs des miels monofloraux ( $p = 0,021$ ). Ceux de *Ziziphus lotus* et de d'*Eucalyptus* présentent les concentrations maxima avec respectivement  $2,55 \pm 0,47$  et  $2,03 \pm 0,38\%$ , alors que les minima (moyenne =  $1,3 \pm 0,14\%$ ) sont observés par les miels d'*E. arborea* (Fig. 68). Les miels d'*Apiaceae*, *Citrus*, *P. granatum* et *F. vulgare* dévoilent des concentrations moyennes de l'ordre de  $1,93 \pm 0,2\%$  -  $1,74 \pm 0,27$  -  $1,73 \pm 0,4$  et  $1,65 \pm 0,56\%$ , respectivement. Des observations comparables sont apportées par Belay et al. (2017). Ainsi, le pourcentage du turanose variait significativement entre les miels monofloraux éthiopiens, ceux d'*Eucalyptus globulus* présentaient les plus fortes concentrations avec une moyenne de  $1,7 \pm 0,4$  g / 100 g tandis que les miels de *Schefflera abyssinica* présentaient les plus faibles concentrations avec une moyenne de  $33 \pm 0,36$ ,  $33 \pm 0,36\%$ . Il est à noter qu'aucune trace de gentiobiose n'est détectée lors de cette étude.



**Figure 67 :** Variation de la teneur en disaccharides des miels analysés.

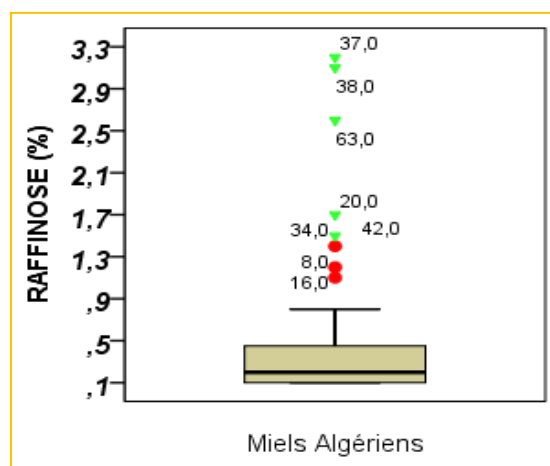


**Figure 68 :** Teneurs en disaccharides des miels monofloraux

Les Trisaccharides (Oligosaccharides) sont des sucres à structure plus complexe qui comprend plus de deux anneaux. Ces sucres sont généralement façonnés par l'interaction d'enzymes d'abeilles. Ils ont tendance à être attribués au miellat ou indiquent une adultération (Rogers, 2017).

D'après les résultats, à l'exception du raffinose détecté dans 56 échantillons parmi les 58 analysés et le maltotriose par l'échantillon (E<sub>34</sub>) provenant de la région de Médéa, les miels algériens étudiés n'en contiennent pas ce groupe de sucres (trisaccharides). La présence du maltotriose confirme bien qu'il s'agit d'un miel de miellat. La concentration en raffinose dans les miels varie de 0 à 3,3% (Annexe 05, Fig. 69). Ces valeurs s'avèrent plus élevées que celles rapportées par [Nayik et al. \(2015\)](#), [Da Costa Leite et al. \(2000\)](#) et [De La Fuente et al. \(2011\)](#) sur les miels indiens (0,04 à 0,10%), brésiliens (0,02 à 0,08%) et espagnols (0,02-0,08%), respectivement. Le raffinose peut être soit un composant du nectar, une contamination par le miellat, ou même une adultération du sucre ([Nayik et al., 2015](#)).

Le mélézitose est généralement produit par des insectes se nourrissant de la sève, ce qui suggère une présence de miellat dans le miel. Ce sucre peut causer une cristallisation du miel et se solidifier, les abeilles n'aimant pas s'en nourrir. Le maltotriose est formé par l'interaction d'enzymes d'abeilles avec du maltose, et ce sucre est généralement présent en très faible quantité.



**Figure 69** : Variation de la teneur en Raffinose des miels analysés

#### IV.2.7. Détermination de la couleur

D'après [El Sohaimy et al. \(2015\)](#), la couleur du miel est un facteur déterminant son acceptabilité par le consommateur, par conséquent son prix est lié dans une large mesure à sa couleur.

##### IV.2.7.1. Système Pfund

Les valeurs de la couleur obtenues, selon l'Indice de Pfund, se situent entre 13 et 150 mm, avec une moyenne de  $28,98 \pm 31,6$  mm ([Fig. 70, annexe 04](#)). L'indice le plus élevé est attribué à l'échantillon E<sub>53</sub> produit dans la région d'Ain-témouchent, celui dominé par l'espèce *F. vulgare*. En revanche, l'indice le plus faible est noté par le miel de romarin produit dans la région de Tébessa (E<sub>57</sub>). En comparaison, les miels de provenances de Burkina Faso ([Escriche et al., 2016](#); [Schweitzer et al., 2013](#)) et Pakistan ([Sajid et al., 2019](#)) indiquent des indices de Pfund entre 22 - 150 mm et 27,95 - 52,67 mm, respectivement. De même, [El Sohaimy et al. \(2015\)](#) signalent des valeurs moyennes respectives de  $113,82 \pm 2,19$  -  $56,40 \pm 2,32$  -  $73,88 \pm 2,29$  et  $89,45 \pm 1,17$  mm pour les miels saoudiens, yéménites, égyptiens et Kachemiris. Des travaux antérieurs portant sur les miels algériens rapportent que l'intervalle de couleur Pfund est situé dans la gamme comprise entre 18 et 119 mm ([Ouchemoukh et al., 2007](#) ; [Makhloufi et al., 2010](#) ; [Rebiai et al., 2015](#)). Ces résultats corroborent ceux trouvés.

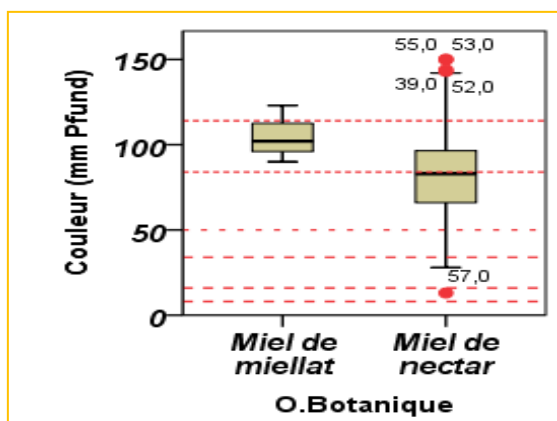
Selon l'échelle de Pfund, 1,59% des miels examinés, soit un seul échantillon, est de couleur extra blanche, 9,52% (6 échantillons) sont de couleur blanche, 33,33% (21 échantillons) sont ambrés extra claires, 33,33% (21 échantillons) de couleur ambrée claire, 7,94% (5 échantillons) sont ambrés et 14, 29 (9 échantillons) sont de couleur foncée ([Fig. 71 et 72](#)). La perception des couleurs de miels blancs, ambrés extra claires et ambrés claires correspondant à



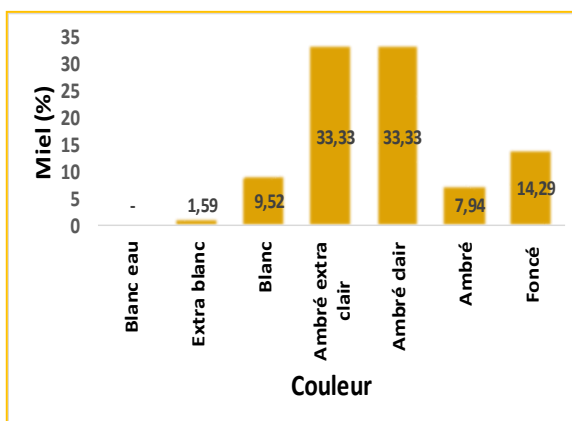
77,37% des échantillons paraissent à l'œil nu claire (Makhloufi, 2010). Ceci montre que les miels algériens sont généralement et relativement de couleur claire. D'après Lequet (2010), un miel foncé est souvent associé à des arômes prononcés, alors qu'un miel clair possédera des arômes plus subtils.

Le test de l'intensité de la couleur montre une variation significative ( $p=0,005$ ) entre les miels monofloraux (Fig. 73), ceux d'*E. arborea* présentent les couleurs les plus foncées avec une moyenne de  $141,5 \pm 3,53$  mm, suivis respectivement des *F. vulgare* ( $108,51 \pm 27,91$  mm), *B. naps* ( $107,33 \pm 21,77$  mm) et *Eucalyptus* ( $93,87 \pm 29,85$  mm) ayant présentés des couleurs ambrées. Les miels de *Citrus*, *Capparis*, *P. granatum*, *Z. lotus*, *Apiacaea* notent les couleurs ambrés les plus claires, avec en moyennes  $55,6 \pm 22,78$  ;  $55,6 \pm 22,7$  ;  $68 \pm 39,59$  ;  $74 \pm 10,14$  ;  $74,5 \pm 7,32$  et  $77 \pm 1,41$ mm, respectivement (Fig. 73).

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Makhloufi (2010) ainsi que Mekious et al. (2015), sur les miels algériens. Ils ont signalé des couleurs claires pour les miels à dominance des espèces des genres *Citrus* et *Hedysarum* et des couleurs marron foncé pour les miels à dominance des genres *Eucalyptus*, *Daucus*, *Rubus* et les miels de jujubier. La couleur du miel varie naturellement dans une large gamme de tons, allant du jaune clair à l'ambré, en passant par l'ambré foncé et le noir, dans les cas extrêmes, et parfois même des nuances de vert ou de rouge (Sohaimy et al., 2015).

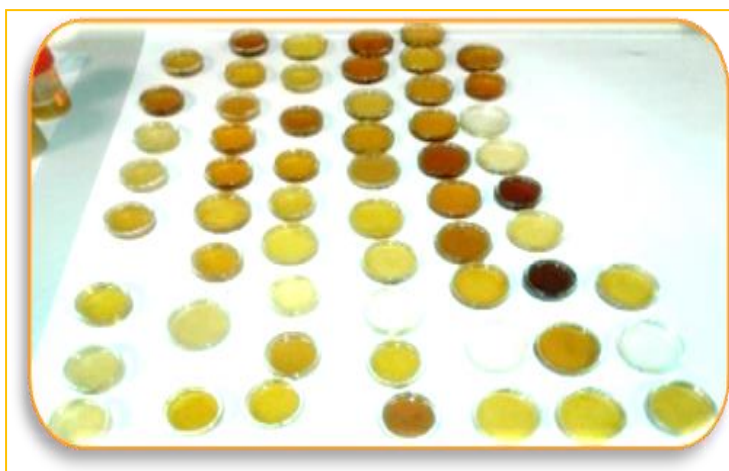


**Figure 70 :** Variation de la Couleur des miels analysés



**Figure 71 :** Répartition des miels, selon leurs couleurs





**Figure 72 :** Aspect visuel de la couleur des miels analysés

Cette couleur dépend initialement de la source de nectar. En effet, plusieurs études antérieures ont montré que la coloration est une caractéristique physique dépendante de l'origine florale du produit (Makhloufi, 2010 ; Moniruzzaman et al., 2013 ; Mekious et al., 2015). C'est la principale caractéristique de la classification des miels monofloraux destinés à des activités commerciales, conformément aux normes de couleur approuvées par l'USDA (Khalil et al., 2012). Les miels de couleur pâle proviennent traditionnellement de source florale hautement chargée en nectar tels que les agrumes. Selon plusieurs auteurs, plus un miel est de couleur foncée plus sa teneur en phénols totaux, en matières minérales et en acides est élevée (Moniruzzaman et al., 2013 ; El-Metwally, 2015).

Par ailleurs, le miel s'assombrit généralement avec l'âge (Rodríguez-Flores et al., 2015). Cependant, d'autres facteurs peuvent modifier la couleur des miels tels que l'utilisation de vieux rayons, le contact avec des métaux, l'exposition à la lumière, les conditions, les différentes méthodes de conservation, la teneur en grains de pollen et la teneur en sucres (Terrab et al., 2004 ; González-Miret et al., 2005 ; Nombré et al., 2010). En raison de la réaction Maillard qui brise le fructose du miel lors d'un processus de caramélisation, le miel devient plus foncé avec le temps ainsi que lors d'entreposage à des températures plus élevées (Gonzales et al., 1999).

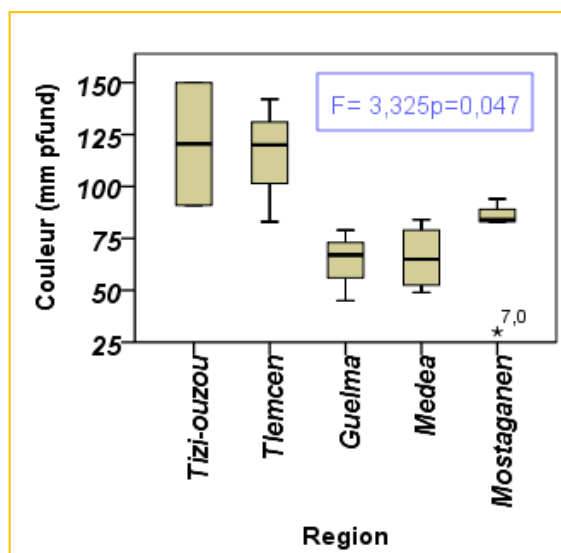
De nombreux travaux font référence à la couleur foncée du miel de miellat (Kirkwood et al., 1960 ; Rodríguez-Flores et al., 2015 ; Escuredo et al., 2019). Cependant, cette couleur foncée est commune à d'autres types de miels monofloraux (Rodríguez-Flores et al., 2015). Dans le cas présent, les miels de miellat présentent des couleurs foncées avec une valeur moyenne à l'échelle de Pfund de  $105,00 \pm 16,7$ . Cependant, les miels monofloraux d'*E. arborea* présentent des couleurs encore plus sombres (Fig. 73). Cette couleur foncée est signalée par



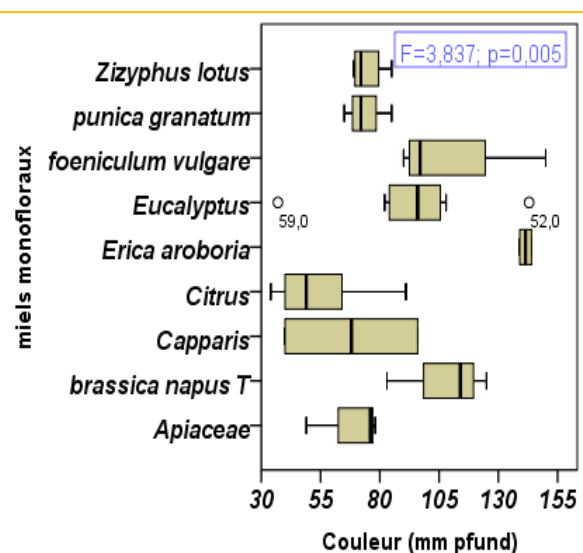
d'autres auteurs (Persano-Oddo et Piro, 2004 ; Tsigouri et al., 2004 ; Combarros-Fuertes et al., 2018 ; Escuredo et al., 2019).

Il est à noter qu'aucune différence de couleur, en fonction des différentes zones d'études, n'est observée. Contrairement, la couleur des miels polyfloraux varie significativement entre les différentes régions ( $p=0,047$ ). Ceux produits dans les régions de Tizi-ouzou et de Tlemcen montrent des couleurs foncées ( $120,5 \pm 41,71$  et  $115 \pm 29,81$ , respectivement), tandis que ceux de Guelma, Médéa et Mostaganem de couleurs ambrées claires présentent respectivement des valeurs moyennes de  $63,66 \pm 17,2$  ;  $65,75 \pm 16,09$  et  $76 \pm 26,08$  mm (Fig. 74). Ceci indique que la couleur peut être une caractéristique utile pour la différenciation des miels polyfloraux en Algérie, selon leurs régions de production. Selon Kaur et al. (2016), les miels polyfloraux produits dans le nord de l'Inde sont de couleurs ambrées claires avec des indices compris 30 et 51 mm. Les miels polyfloraux de la région de Djelfa présentent des couleurs allant de l'ambree claire à l'ambree (Mekious et al., 2015).

D'après Antony et al. (2000), le paramètre de la couleur peut être utilisé comme un indice fiable de la présence de pigments ayant une activité antioxydante tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes. En effet, l'augmentation de l'intensité de la couleur semble être liée à une augmentation des propriétés antioxydantes (Beretta et al., 2005). Ceci a également été confirmé dans cette étude (voir partie résultats et discussion de l'activité antioxydante).



**Figure 74 :** Couleurs des miels polyfloraux, selon leurs origines géographiques



**Figure 73 :** Couleurs des miels monofloraux

#### IV.2.7. 2. Système CIE LAB

La méthode standard utilisée pour la mesure de la couleur de miels est celle basée sur la comparaison optique utilisée par le colorimètre Pfund. Cependant, de nombreux auteurs (Terrab



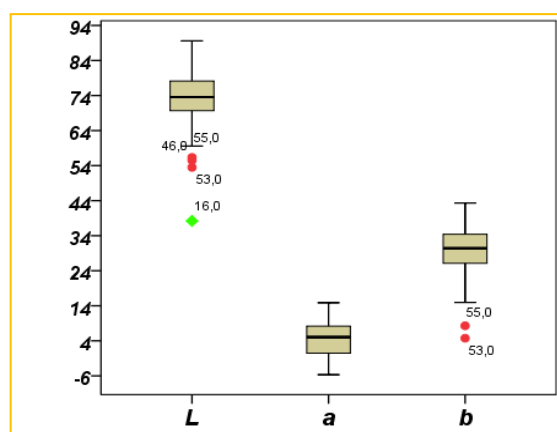
et al., 2002; Rodríguez et al., 2010; Tuberoso et al., 2014 ; Belay et al., 2017 ; Khalafi et al., 2016 ; Escuredo et al., 2019) proposent de mesurer la couleur dans le miel au moyen d'une caractérisation chromatique par réflexion diffuse et colorimétrie tristimulus (x, y, z) à l'aide d'espaces chromatiques uniformes (CIE-Lab), qui permettent de visualiser et de représenter des couleurs en deux et trois dimensions. Dans le but d'avoir un espace chromatique représentant mieux les écarts de couleurs entre les différents miels et avoir plus de précision, les paramètres colorimétriques CIElab ont été déterminés. Les résultats indiqués dans la [figure 75](#) montrent des différences de coordonnées chromatiques d'un échantillon à un autre. Le paramètre de la clarté  $L^*$  présentant les informations de la luminosité ( $L = 0$ , noir et  $L = 100$ , incolore) varient de 38,22 à 89,59 (moyenne =  $73,04 \pm 8,92$ ). L'échantillon toutes fleurs produit à Mostaganem ( $E_{16}$ ), caractérisé par la couleur ambrée selon l'échelle de Pfun, présente la luminosité la plus faible. Parallèlement, l'échantillon  $E_{57}$ , miel de romarin de la région de Tébessa caractérisé par la couleur extra blanc présente la luminosité la plus élevée. Les valeurs des paramètres  $a^*$  et  $b^*$  représentant la teinte sur le plan et défini par les axes  $a^*$  vert/rouge ( $a^* > 0$ , rouge et  $a^* < 0$ , vert) et  $b^*$  bleu/jaune ( $b^* > 0$ , jaune et  $b^* < 0$ , bleu) varient de  $-5,67$  ( $E_{54}$ ) à  $14,88$  ( $E_{46}$ ) et de  $4,73$  ( $E_{53}$ ) à  $43,32$  ( $E_4$ ) avec des moyennes respectives de  $4,32 \pm 5,39$  et  $29,5 \pm 7,21$ . Les valeurs positives des moyennes de  $a$  et  $b$  indiquent un penchant vers les proportions de couleurs rouge et jaune. Cependant, certains miels (Fig.  $E_{62}$ ,  $E_1$ ,  $E_2$ ) présentent de forte proportion de couleur verte ([Annexe. 04](#)).

Selon [Rodriguez et al. \(2012\)](#), les paramètres  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  de 14 échantillons de miels mexicains se situent entre 14,4 - 31,6 ; 0,1 -15,6 et 17,2 - 38,1, respectivement. Les données recueillies semblent être légèrement analogues à ceux trouvés dans la présente étude. Les composantes  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  sont comprises dans l'intervalle de 19–45,6 ; 2,3-23 et 21,8–60, respectivement dans les miels iraniens, tandis qu'elles sont situées respectivement dans l'intervalle de  $51,41 \pm 3,59$  –  $75,41 \pm 5,35$  ;  $2,55 \pm 4,42$  –  $10,89 \pm 2,10$  et  $7,45 \pm 2,98$  –  $27,54 \pm 3,45$  dans les miels monofloraux espagnols ([Khalafi e al., 2016 ; Escuredo et al., 2019](#)).

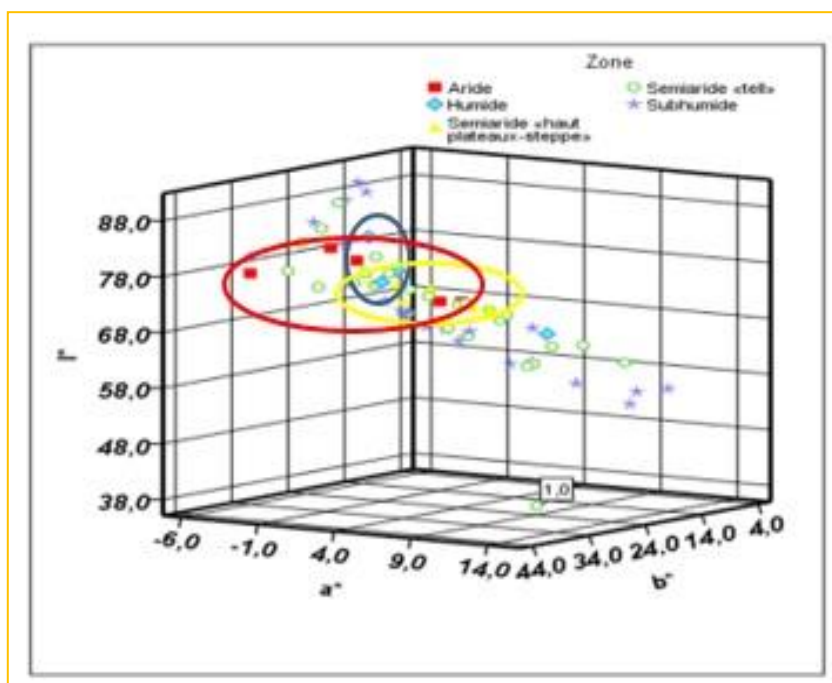
Les figures [76 et 77](#) montrent les valeurs de  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  des échantillons étudiés selon leurs zones de production et leurs origines florales, dont les axes de coordonnées définissent les trois dimensions (x, y, z). Il est constaté, dans l'espace, une hétérogénéité des miels produits en zones subhumides et semiarides des zones telliennes, de sorte que les couleurs dans les mêmes zones diffèrent considérablement selon cette échelle. Cependant, ceux produits dans les zones semiarides des zones steppiques et humides paraissent chacun groupé dans un même espace, ce qui explique le rapprochement de couleurs selon leurs zones de production. Ainsi, les miels



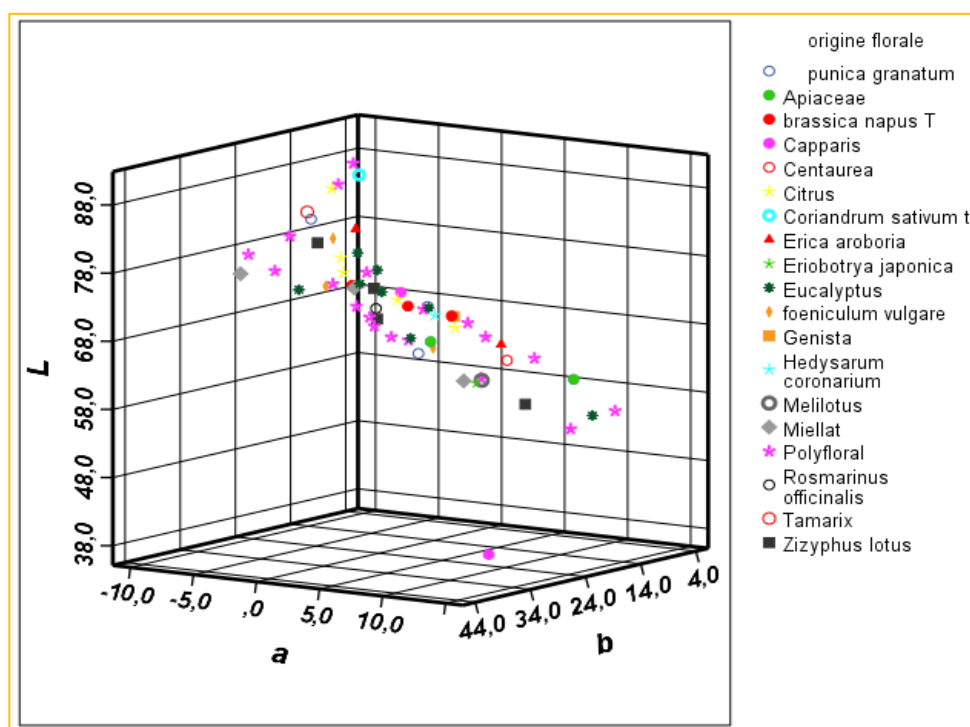
produits dans les zones arides présentent les plus fortes proportions de la teinte jaune ( $a=32,33$ ) et les plus faibles en couleur rouge ( $b= 1,10$ ). Ils sont également les plus claires en luminosité avec une valeur moyenne de ( $L= 77,3$ ). Selon leurs origines florales, les miels sont répartis dans l'espace de façon non homogène ce qui indique une variation de couleurs même entre ceux de la même origine. L'analyse statistique a cependant montré une variation significative pour les paramètres  $a^*$  ( $p= 0,005$ ) et  $L$  ( $p=0,048$ ) entre les miels monofloraux, ce qui indique la possibilité de différencier les miels selon ces paramètres.



**Figure 75:** variation de la couleur des miels analysés (CIE Lab)



**Figure 76:** Représentation graphique tridimensionnelle de la couleur des miels à l'échelle CIE Lab, selon leurs Zones de production



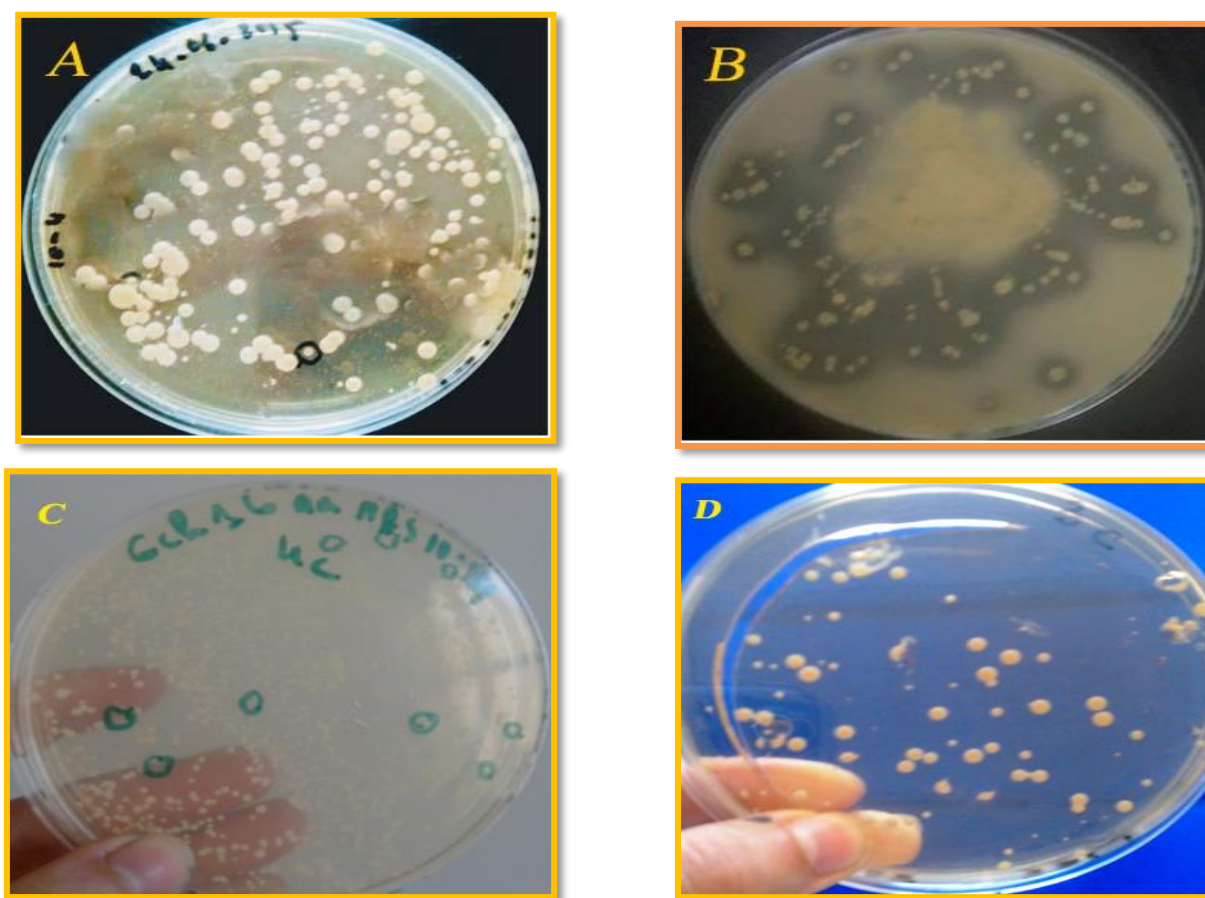
**Figure 77 :** Représentation graphique tridimensionnelle de la couleur des miels à l'échelle CIELab, selon leurs origines botaniques



### IV.3. Identification de lactobacilles isolés à partir de miels frais Algériens

#### IV.3.1. Isolement des lactobacilles

À l'issue du pré-enrichissement des échantillons des miels frais dans le bouillon MRS, suivi d'un ensemencement en masse sur quatre milieux solides différents (MRS, MRS supplémenté de 0,8% de  $\text{CaCO}_3$ , MRS supplémenté de 0,1% de cystéine et 2% de fructose et Rogosa), nous avons obtenu différentes colonies rondes ou de formes diffuses, de contours réguliers ou irréguliers, de couleurs pales transparentes et d'autres opaques (Fig. 78).



**Figure 78 :** Aspect macroscopique des colonies isolées à partir de miels frais sur différents milieux de culture. A : milieu MRS, B : MRS- $\text{CaCO}_3$ , C : MRS-fructose+cystéine, D : Rogosa

#### IV.3.1.1. Screening des bactéries du genre *Lactobacillus*

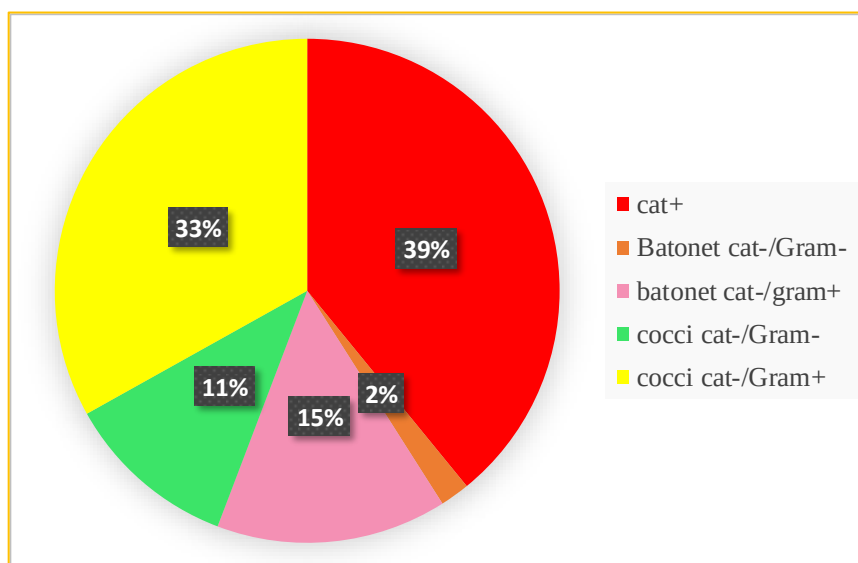
Environ 883 colonies développées sur les isolats, présentant l'aspect macroscopique caractéristique de la flore lactique, ont été purifiées puis soumises au test de la catalase. Ce test a révélé que 39% des colonies testées sont positives pour la réaction de la catalase et 61% sont





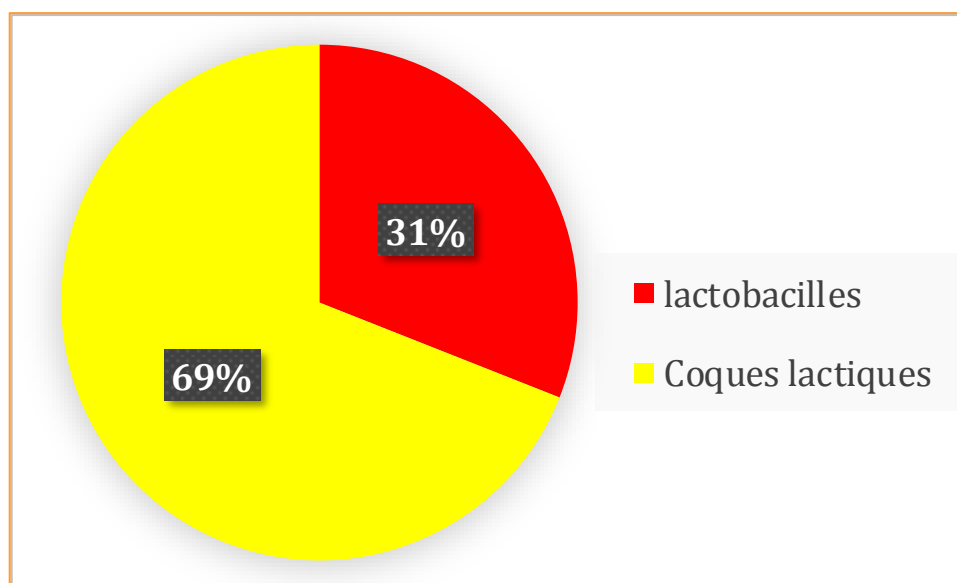
négatives (Fig. 79). Seules les colonies à activité catalasique négative ont été sélectionnées, repiquées sur bouillon MRS et testées pour la coloration de Gram.

L'aspect microscopique des isolats a ainsi révélé deux formes de cellules : coccidé ou bacillaire. Les coques sont disposées en paires (diplocoques) ou en courtes chainettes et à Gram positif (33%) ou négatif (11%), tandis que les bâtonnets présentent des cellules courtes, isolées associées en paire ou en petite chainette de type Gram positif (15%) ou négatif (2%) comme l'illustre la Figure 79.

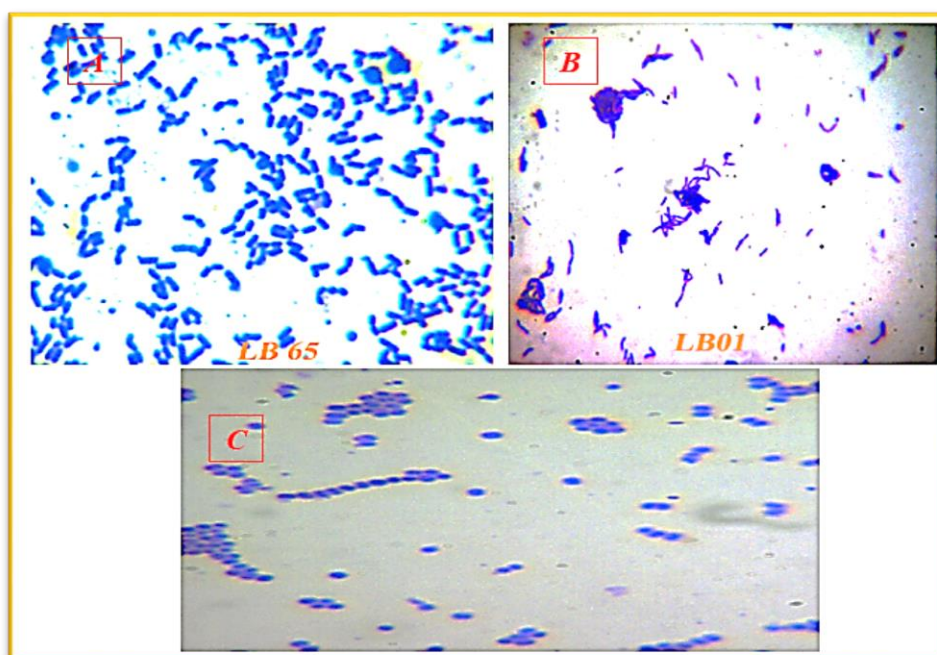


**Figure 79** : Répartition en pourcent des bactéries isolées à partir de miels frais

Au total 431 isolats ont été reconnus comme bactéries lactiques sur la base de l'absence d'une activité catalasique et un type Gram positif, dont 31% sont de forme bacillaire et sont présumés faisant partie du genre *lactobacillus* et 69% sont de forme coccidé et sont présumés faisant partie du genre entérocoque, streptocoque ou pédiocoque selon leurs différents modes d'association (Kandler et Weise, 1986 ; Stiles et Holzapfel, 1997) comme l'illustre les figures 80 et 81. Dans cette partie de notre recherche nous nous sommes intéressés uniquement aux bactéries lactiques du genre *lactobacillus*. Ces dernières ont donc été conservées dans le lait écrémé à la température de  $-20^{\circ}\text{C}$  pour des études approfondies.



**Figure 80 :** Répartition en % des bactéries lactiques isolées à partir de miels algériens



**Figure 81 :** Aspect microscopique après coloration de Gram de bactéries lactique isolée de miel (grossissement 100X). A : lactobacilles LB<sub>65</sub>, B : lactobacilles LB<sub>01</sub>, C : Coque lactique

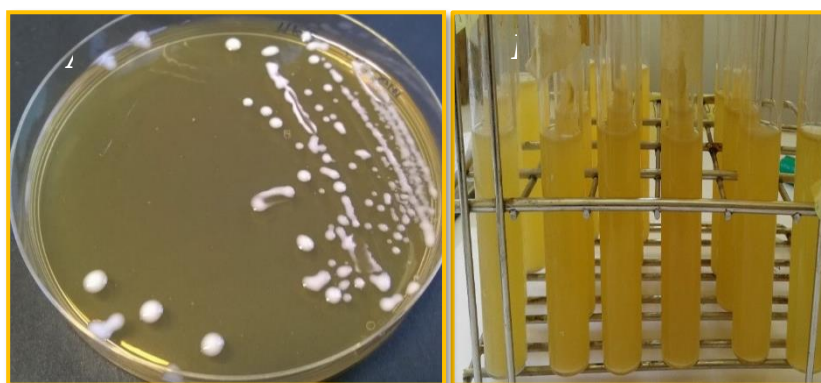
#### IV.3.1.2. Aspect macroscopique des isolats

L'observation macroscopique des colonies obtenues sur gélose MRS a montré qu'elles sont de couleur blanchâtre, de forme circulaire ou lenticulaire à contour régulier avec un



diamètre variant entre 2 à 5 mm (Fig. 82). Sur bouillon, les isolats présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques (Fig. 82).

En dépit des nombreuses propriétés antimicrobiennes du miel, ce dernier n'est pas un produit stérile. Il contient des microorganismes comprenant des espèces tant pathogènes que bénéfiques. Parmi les bactéries bénéfiques détectés, les plus recherchées sont les bactéries lactiques. La présente étude a permis de mettre évidence la présence de la flore lactique dans les miels frais algériens. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par certains chercheurs qui ont signalé la présence des bactéries lactiques dans le miel. (Ruiz et Rodriguez, 1975 ; Bahiru et al, 2006 ; Lee et al., 2008 ; Ibarguren et al., 2010 ; Tajabadi et al., 2013 ; Sinacori et al., 2014). On constate cependant que les coques lactiques sont dominantes par rapport aux lactobacilles. Ces bactéries peuvent être originaires des plantes (nectar et pollen), du sol ou bien de l'eau. En outre, le tube digestif des abeilles mellifères s'est révélé être une source importante de contamination microbienne du miel. En effet, au cours du processus de production du miel, les abeilles introduisent certaines bactéries dont les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Enterococcus*) dans le nectar à partir de leur microbiote intestinal (Silva et al., 2017b ; Tajabadi et al., 2011 ; Pajor et al., 2018).



**Figure 82 :** Aspect macroscopique de colonies de *lactobacillus* sur milieu MRS incubée à 37°C / 48h. A : MRS agar, B : MRS Bouillon

Actuellement, l'étude des bactéries lactiques du genre *lactobacillus* provenant de diverses sources naturelles dont le miel présente un intérêt croissant en raison de leurs activités métaboliques diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications à l'échelle industrielle (Streit et al., 2007). En industrie agro-alimentaire ces microorganismes représentent l'un des principaux groupes impliqués dans la fermentation souhaitable et contribuent à la bio-conservation des aliments (Pisano et al., 2014). Ils sont principalement utilisés en tant que « starter » dans les



produits alimentaires fermentés où ils permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques (Hugenholtz et Kleerebezem, 1999 ; Dortu et Thonart, 2009 ; Abee, 1995). D'après certains auteurs, certaines caractéristiques du miel tel que la saveur, l'arôme et la texture sont en partie dues aux métabolites produits par les bactéries lactiques présentes dans le jabot de l'abeille (Steinkraus 1995 ; Mato et al 2006 ; Olofsson et Vasquez 2008). En industrie pharmaceutique les lactobacilles sont exploités en tant que probiotique. En effet, ils constituent avec les bifidobactéries les deux principales sources de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (Heyman et Heuvelin, 2006). Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes qui sont correctement administrés pour conférer des avantages pour la santé (FAO / OMS, 2002). Ils apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et al., 2008). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan et al., 2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El-Ghaish et al., 2011). En apiculture, l'utilisation de lactobacilles isolées à partir d'estomacs d'abeilles comme complément alimentaire pour les abeilles en substitution de l'utilisation de produits chimiques (antibiotiques, pesticides) a permis le renforcement du système immunitaire des abeilles et s'est avérée efficace dans la lutte contre la maladie de la varroase (Mathialagan et al., 2018). Uehara et al. (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie. Dans l'industrie avicole, la supplémentation en probiotiques, en particulier *Lactobacillus*, s'est révélée efficace pour augmenter le poids, pour améliorer le taux de conversion des aliments et réduire la mortalité chez les poulets de chair (Huang et al., 2004). De plus, ces bactéries lactiques sont actuellement exploitées en médecine humaine et vétérinaire en tant que nouvel agent antimicrobien et médicament naturel pour lutter contre les maladies infectieuses, en substitution, aux traitements médicaux existant qui sont de moins en moins efficace en raison de la surutilisation d'antibiotiques et de l'apparition d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques.



### IV.3.2. Nombre de lactobacilles isolés du miel selon leurs origines et selon le milieu d'isolement utilisé

Le nombre de lactobacilles détectés dans chaque miel est illustré dans le [Tableau 14](#). On constate tout d'abord que les présumés *lactobacilles* ont été détectés dans 23 échantillons sur les 29 testés. Aucune bactérie catalase négative de forme bâtonnet n'a été détectée dans les miels E<sub>04</sub>, E<sub>06</sub>, E<sub>05</sub>, E<sub>15</sub>, E<sub>11</sub> et E<sub>22</sub>.

Les bactéries présentes dans le miel ne peuvent pas se multiplier et perdent leur viabilité au fil du temps. Le pré-enrichissement dans le bouillon MRS pendant 24 heures permet de régénérer les *lactobacilles* présents dans les échantillons de miel et favorise leur croissance. La détection de ces *lactobacilles* dans des échantillons de miel prouve leur capacité à survivre dans des produits à forte teneur en sucre, à faible activité de l'eau et à pH bas ([Aween et al., 2012](#)).

On constate également que la majorité des lactobacilles isolés, ont été détectés dans les miels de *brassica napus T* provenant des localités de Bou Saâda (E<sub>45</sub>) et Hammam Dhalaa (E<sub>44</sub>) dans la région de M'sila avec pour chacune 21 isolats, suivi du miel d'Eucalyptus provenant de la localité de Ouled Driss dans la région de Soukh-Ahras (E<sub>37</sub>) avec 15 isolats et le miel polyfloral (E<sub>29</sub>) provenant de la région de Ouamria dans la région de Médéa avec 10 isolats. Le nombre de *lactobacille* détecté dans les miels de *citrus* et de *z. lotus* est très faible et varie respectivement de 0 (E<sub>04</sub>, E<sub>06</sub>) à 5 (E<sub>33</sub>). Dans les miels de *F. vulgare*, il Varie de 0 (E<sub>02</sub>) à 2 (E<sub>30</sub>). Aucun *lactobacille* n'a été détecté dans les miels E<sub>15</sub> (*polyfloral*) et E<sub>11</sub> (*P. granatum*) produits dans la région de Mostaganem. Dans les autres miels le nombre d'isolats variait de 1 à 7 isolats.

La variation du nombre de lactobacilles détectée dans différents types de miels pourrait être attribuée à la quantité de nectar, à l'utilisation des produits chimiques dans les zones de butinage de l'abeille (antibiotique, pesticide ...etc.), à la qualité du miel (propriétés du miel), à la durée de stockage du miel, aux abeilles et à leur environnement et enfin au traitement du miel (chaleur, filtration...etc.) ([Kňazovická et al., 2015](#) ; [Tajabadi et al., 2013](#); [Olofsson et al., 2016](#) ; [Mathialagan et al., 2018](#)). Selon [Kňazovická et al. \(2015\)](#), la quantité de microorganismes dans le miel est variable et unique pour chaque échantillon de miel analysé.

Comme le montre la [figure 83](#), une grande partie des lactobacilles ont été détectés dans le milieu Rogosa (42%), suivie respectivement des milieux MRS-CaCO<sub>3</sub> (24%), MRS (20%) et MRS-cystéine + fructose (14%). L'isolement des lactobacilles des miels par des milieux classiques, tels que le MRS, couramment utilisé pour la plupart des produits alimentaires



(fermentés), est difficile à réaliser en raison de la concentration élevée de sucres dans les miels, limitant ainsi la détection de ces bactéries (Coeuret et al., 2003 ; Aween et al., 2012). L'utilisation de MRS additionné de  $\text{CaCO}_3$  a permis la détection et l'isolement des *lactobacilles*, cependant le milieu Rogosa a été plus efficace. Le nombre élevé de *lactobacillus sp* détectés sur le milieu Rogosa au cours de nos expériences, démontre sa capacité à permettre l'isolement de ce genre à partir des miels.

**Tableau 14 :** Nombre de lactobacilles isolés à partir des miels de différentes origines

| Miels           | O.botanique         | Localité                | Région         | Nombre d'isolats l. |
|-----------------|---------------------|-------------------------|----------------|---------------------|
| E <sub>44</sub> | <i>B.napus</i>      | Hammam Dhalaa           | M'Sila         | 21                  |
| E <sub>45</sub> | <i>B.napus</i>      | Bou Saâda               | M'Sila         | 21                  |
| E <sub>37</sub> | <i>Eucalyptus</i>   | Ouled Driss             | Soukh-Ahras    | 15                  |
| E <sub>29</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Ouamri                  | Medea          | 10                  |
| E <sub>02</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Touahria                | Mostaganen     | 7                   |
| E <sub>09</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Lamtar                  | Sidi bel abbes | 6                   |
| E <sub>33</sub> | <i>Citrus</i>       | Sidi Abdel moumane      | Mascara        | 5                   |
| E <sub>13</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Foret Ouledantar        | Medea          | 5                   |
| E <sub>21</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Foret des Zerrifa       | Mostaganen     | 5                   |
| E <sub>27</sub> | <i>Polyfloral</i>   | MedjezSfa               | Guelma         | 5                   |
| E <sub>28</sub> | <i>F.vulgare</i>    | Roknia                  | Guelma         | 4                   |
| E <sub>31</sub> | <i>Miellat</i>      | Sfissifa                | Naama          | 4                   |
| E <sub>1</sub>  | <i>Capparis</i>     | Boughirat               | Mostaganen     | 3                   |
| E <sub>10</sub> | <i>Eucalyptus</i>   | Ain fekan               | Mascara        | 3                   |
| E <sub>03</sub> | <i>Genista</i>      | Mazagran                | Mostaganen     | 3                   |
| E <sub>07</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Sirat                   | Mostaganen     | 3                   |
| E <sub>34</sub> | <i>Miellat</i>      | Seghouane               | Medea          | 2                   |
| E <sub>14</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Moudjbar                | Medea          | 2                   |
| E <sub>16</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Sirat                   | Mostaganen     | 2                   |
| E <sub>30</sub> | <i>Z.lotus</i>      | Ouamri                  | Medea          | 2                   |
| E <sub>17</sub> | <i>B.napus</i>      | Tiout                   | Naama          | 1                   |
| E <sub>08</sub> | <i>Eucalyptus</i>   | foret desour            | Mostaganen     | 1                   |
| E <sub>32</sub> | <i>Z.lotus</i>      | Tiout                   | Naama          | 1                   |
| E <sub>04</sub> | <i>Citrus</i>       | Mazagran                | Mostaganem     | 0                   |
| E <sub>06</sub> | <i>Citrus</i>       |                         | Bechar         | 0                   |
| E <sub>05</sub> | <i>F.vulgare</i>    | Blida                   | Blida          | 0                   |
| E <sub>15</sub> | <i>Polyfloral</i>   | Sirat                   | Mostaganem     | 0                   |
| E <sub>22</sub> | <i>Z.lotus</i>      | Beni Mester             | Tlemcen        | 0                   |
| E <sub>11</sub> | <i>P.granatunum</i> | Sirat « Djbel Mouzaia » | Mostaganem     | 0                   |

o : Origine l : lactique



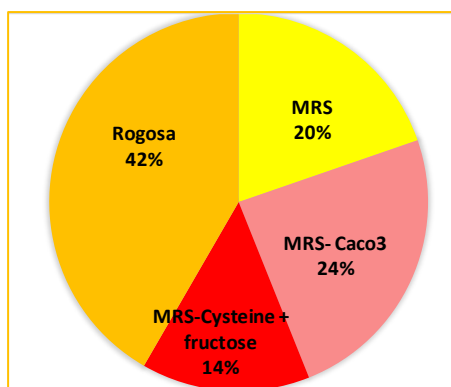


Figure 83 : Nombre de lactobacilles détectés selon leurs milieux

### IV.3.3. Identification des lactobacilles au niveau de l'espèce

Pour l'identification des isolats de lactobacilles au niveau de l'espèce nous avons utilisé deux approches, la première est une approche protéomique par la spectrométrie de masse MALDI-TOF et la deuxième est une approche génotypique l'utilisation de la biologie moléculaire.

#### IV.3.3.1. Identification par MALDI-TOF

L'identification microbienne par la méthode MALDI-TOF MS repose sur la génération d'un spectre de masse ou "empreinte protéique" spécifique à l'organisme examiné par rapport à une base de données de référence pour permettre l'identification de l'organisme (Ghotbi et al., 2011). Cette technique semble être une excellente alternative aux approches phénotypiques parce qu'elle est fiable, rapide et économique, et permet le regroupement de nombreux échantillons en une seule analyse. Au cours de la dernière décennie, la spectrométrie a été employée pour la caractérisation de différentes bactéries (Welker et Moore, 2011). Il y a eu quelques rapports sur l'utilisation de MALDI-TOF-MS pour l'identification des bactéries lactiques isolées de viande fermentée (Doan et al., 2012), de produits laitiers (Dusková et al., 2012 ; Angelakis et al., 2011), des espèces de *Lactococcus* (Tanigawa et al., 2010), *Leuconostoc* (De Bruyne et al., 2011) et *Lactobacillus* (Dec et al., 2014). Cependant dans la présente étude l'identification de 50 isolats par MALDI-TOF n'a pas été performante puisqu'elle nous a permis de confirmer l'appartenance de ces bactéries au genre *lactobacillus* mais n'a pas été concluante concernant l'espèce avec une incertitude de 99.9% entre les trois espèces suivantes : *lactobacillus pentosus*, *lactobacillus plantarum* et *lactobacillus paraplantarum*, indiquant la nécessité de tests supplémentaires ou de l'utilisation d'une autre méthode (Tab. 15). Par ailleurs, trois isolats de coque lactique isolés à partir de miel ont été identifiés par MALDI-TOF MS comme étant des *Enterococcus faecium*



Tableau 15 : Résultats de l'identification des isolats par MALFI-TOF

| Lb                      | miel | Identification<br>Maldi-tof                | %    | Lb               | miel | Identification<br>Maldi-tof                | %    |
|-------------------------|------|--------------------------------------------|------|------------------|------|--------------------------------------------|------|
| <b>33.3.m</b>           | 33   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>65</sub> | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>8pur1</b>            | 8    | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>66</sub> | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>21 R10</b>           | 21   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb76             | 2    | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>21R19</b>            | 21   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb84             | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>28 m03</b>           | 28   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | LB89             | 14   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>In</b>               | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb97             | 33   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>77</sub></b>  | 2    | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb98             | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>133</sub></b> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb99             | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>117</sub></b> | 28   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lc12             | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>67</sub></b>  | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lc2              | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>01</sub></b>  | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | 10p4             | 10   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>03</sub></b>  | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | 37r14            | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>06</sub></b>  | 9    | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>47</sub> | 16   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>07</sub></b>  | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>49</sub> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>08</sub></b>  | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>57</sub> | 30   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>09</sub></b>  | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>63</sub> | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>116</sub></b> | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | LB <sub>64</sub> | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>119</sub></b> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>42</sub> | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>12</sub></b>  | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>32</sub> | 45   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>120</sub></b> | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>35</sub> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>122</sub></b> | 28   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>38</sub> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>125</sub></b> | 17   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>39</sub> | 34   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>13</sub></b>  | 44   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 | Lb <sub>40</sub> | 37   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |
| <b>Lb<sub>27</sub></b>  | 09   | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |                  |      |                                            |      |
| <b>Lb<sub>29</sub></b>  |      | <i>lb. Pentoses-plantarum-paraplanarum</i> | 99,9 |                  |      |                                            |      |

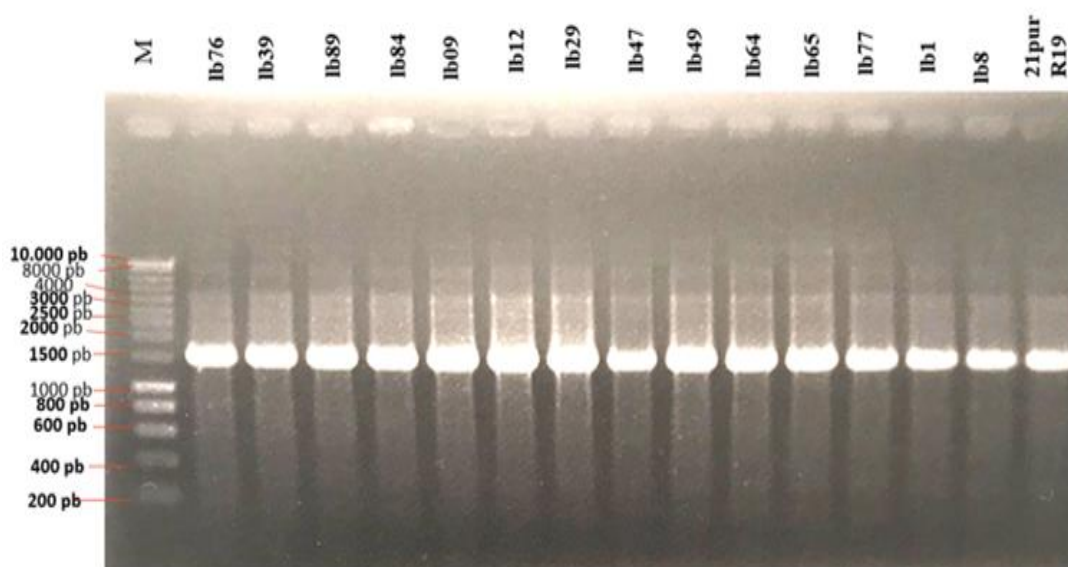


#### IV.3.3.2. Identification génotypique

La deuxième méthode d'identification utilisée est basée sur des techniques qui permettent le décryptage du génotype, Il s'agit de l'amplification par PCR et le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. C'est l'une des méthodes les plus appliquées pour obtenir une identification précise. Elle est fondée sur les relations phylogénétiques entre bactéries en comparant une partie stable de leur code génétique (Woese et al., 1985 ; Woese, 1987).

Après extraction de l'ADN de 15 isolats de lactobacilles isolés à partir des miels suivis d'une amplification du gène codant pour l'ARNr 16 S par PCR, la taille des amplicons obtenus pour chaque échantillon a été vérifiée et visualisée sur gel d'agarose par électrophorèse. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 84.

L'analyse du produit de PCR a montré chez toutes les souches l'apparition d'une bande nette et claire d'ADN sur le gel (une bande dans chaque puits) qui définit l'amplification d'un seul fragment d'ADN de 1500 pb, et elle correspond exactement à la taille attendue justifiant ainsi la pertinence de cette démarche expérimentale. On constate toutefois une légère différence dans leurs intensités (épaisseur), ce qui signifie une différence de rendement d'extraction pour chaque isolat. Par ailleurs, la méthode d'extraction d'ADN utilisée a montré une fiabilité importante, car elle nous a donné des rendements élevés avec une bonne pureté de l'ADN génomique des isolats, ainsi elle est rapide et ne nécessite pas beaucoup d'étapes, ni d'utilisation de solvants chimiques dangereux (phénol...)



**Figure 84 :** Électrophorèse des amplicons



Une fois avoir prouvée que l'amplification est correcte pour chaque échantillon, par électrophorèse, les amplicons de PCR ont été séquencés. Les mêmes amorces utilisées pour la PCR ont été également utilisées pour le séquençage. Les résultats des chromatogrammes de séquençage ont été analysés avec le programme de bio-informatique Chromas Lite 2.0, qui nous a permis de passer l'information à partir du séquençage de chaque chaîne au format FASTA. Les séquences de chaque échantillon examiné ont été comparées à d'autres souches de référence existant dans la base de données NCBI GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) à l'aide de l'outil BLAST. Après avoir confirmé l'identité des isolats, le pourcentage maximum d'homologie des espèces avec la GenBank a été établi. Comme il est montré dans l'annexe 06, les résultats du séquençage de 14 *Lactobacilles* isolées de miels nous ont permis d'identifier les espèces *lactobacillus plantarum* (11 isolats), *Lactobacille pentosus* (3 isolats) et un *Lactobacillus sp.* Avec des degrés d'homologie de 99 à 100%. Cette technique a donc montré une plus grande efficacité par rapport à la spectrométrie de masse qui s'est arrêtée au niveau du genre pour l'identification. La partie d'ADN actuellement la plus communément utilisée pour la taxonomie bactérienne est le gène ARNr 16S (Bottger, 1989 ; Garrity et Holt, 2001). La séquence du gène ARNr 16S est déterminée chez un grand nombre de bactéries et souches, et fait l'objet d'un enrichissement exponentiel des bases de données. Ainsi, par exemple dans la plus grande base de données, GenBank (NCBI), sur les 20 millions de séquences déposées, 90 000 sont des séquences du gène 16S rRNA (Clarridge, 2004).

Notre étude a révélé la prédominance des *lactobacillus plantarum* suivi des *lactobacillus pentosus*. Plusieurs souches de *lactobacillus plantarum* et *lactobacillus pentosus* ont été isolées à partir de différentes niches écologiques (Vasiee et al., 2014 ; Agaliya et Jeevaratnam, 2014 ; Powthong et Suntornthiticharoen, 2015 ; Aarti et al., 2016 ). Ces deux espèces de lactobacilles sont génétiquement proches et présentent des phénotypes très similaires (Tajabadi, et al., 2013) . *L. plantarum* est utilisé en stade final de la fermentation des fruits et légumes en raison de sa tolérance accrue à l'acide par rapport aux autres bactéries lactiques (Fleming, 1982). De plus, *L. plantarum* a été utilisé comme starter dans le pain au levain, les produits carnés et le vin. Ses souches peuvent également avoir des caractéristiques probiotiques et potentiellement plusieurs applications bio-thérapeutiques (Powthong et Suntornthiticharoen, 2015). *L. plantarum* a une tolérance élevée à un pH bas, démontrant sa résistance élevée aux conditions acides (Daeschel et Nes, 1995). Par conséquent, il prédomine souvent dans les aliments fermentés à l'acide lactique spontané où le pH est habituellement inférieur à 4,0. Il survit également dans les conditions acides de l'estomac humain (Johansson et al., 1993). *Lb plantarum* est presque toujours présent, principalement dans les aliments fermentés à l'acide



lactique, à base de matières végétales telles que les olives en saumure (Fernández Gonzalez et al., 1993), les câpres (Pulido et al., 2005), la choucroute. (Dedicatoria et al., 1981), cornichons salés (McDonald et al., 1993), levain (Lönner et Ahrné, 1995), et le manioc (Oyewole et Odunfa, 1990 ; Moorthy et Mathew, 1998). Cela indique que les personnes consommant des produits fermentés à base d'acide lactique d'origine végétale consomment également de grandes quantités de *L. plantarum*.

*Lactobacillus pentosus* est une bactérie lactique également couramment utilisée comme culture « starter » pour le processus de fermentation (Ruiz-Barba et al., 1994). Certaines souches de *L. pentosus* exercent des propriétés probiotiques, améliorent l'immunité des muqueuses et créent une résistance aux infections bactériennes (Kotani et al., 2010 ; Izumo et al., 2011).

Dans le but de comparer nos résultats avec ceux trouvés dans d'autres études antérieures et afin de mettre en évidence les liens phylogénétiques entre les différentes communautés bactériennes des miels, une analyse phylogénétique sur la base des séquences du gène ARNr 16S selon la méthode de Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987) des différents lactobacilles isolés à partir de miels, a été réalisée. Dans cette optique nous avons construit un arbre phylogénétique représentatif du genre *lactobacillus* par l'utilisation du logiciel Mega 4. (Fig. 85). D'après la figure, l'arbre regroupe trois clades avec des valeurs de bootstrap de 100%, le premier inclut toutes nos souches isolées à partir de miels frais algériens identifiées comme *lactobacillus plantarum* et *pentosus* et sont donc étroitement apparentés, le deuxième clade est composé de deux sous-branches : *lactobacillus sp* et *lactobacillus Melis* forment la première sous-branche avec une valeur de bootstrap de 100%. Ces souches semblent étroitement apparentées. La deuxième est formée par les isolats identifiés comme *lactobacillus brevis*, *melis*, *plantarum*, *pentosus* et *fermentum* avec une valeur bootstrap de 98%. Le troisième groupe est formé par deux souches de *lactobacillus plantarum*. D'autres chercheurs ont également étudié la flore lactique dans le miel, (Hasali et al., 2015) et ont signalé la présence de *Lb. Brevis* dans le miel de mélipionine, tandis qu'Aween et al. (2012) a détecté *Lb. acidophilus* dans les miels malaisien, libyen et saoudien. Dans des études plus récentes, Bulgasem et al. (2016) ont détecté *Lb. plantarum*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus* dans 10 des 15 échantillons de miel. À notre connaissance, aucune information sur les bactéries lactiques provenant de miels algériens n'a été rapportée. La variation de la diversité des espèces du genre *lactobacillus* détecté dans les miels peut être due à la diversité des espèces ou races d'abeilles mellifères. En Algérie, il existe une deux races d'abeille de l'espèce *Apis mellifica*, la première



est *Apis mellifica intermissa* que l'on trouve dans le nord du pays et la deuxième est *Apis mellifica sahariensis* que l'on trouve dans le sud. D'autres facteurs interviennent également dans cette variation telle que la source de nectar ou de pollen, la santé et l'âge de l'abeille, la présence d'autres micro-organismes, la saison de récolte (Olofsson et al., 2016). La non détection de certaines espèces peut être due soit à leur absence dans les miels étudiés ou bien à la méthode et les milieux d'isolement utilisés qui n'ont pas permis leur détection.

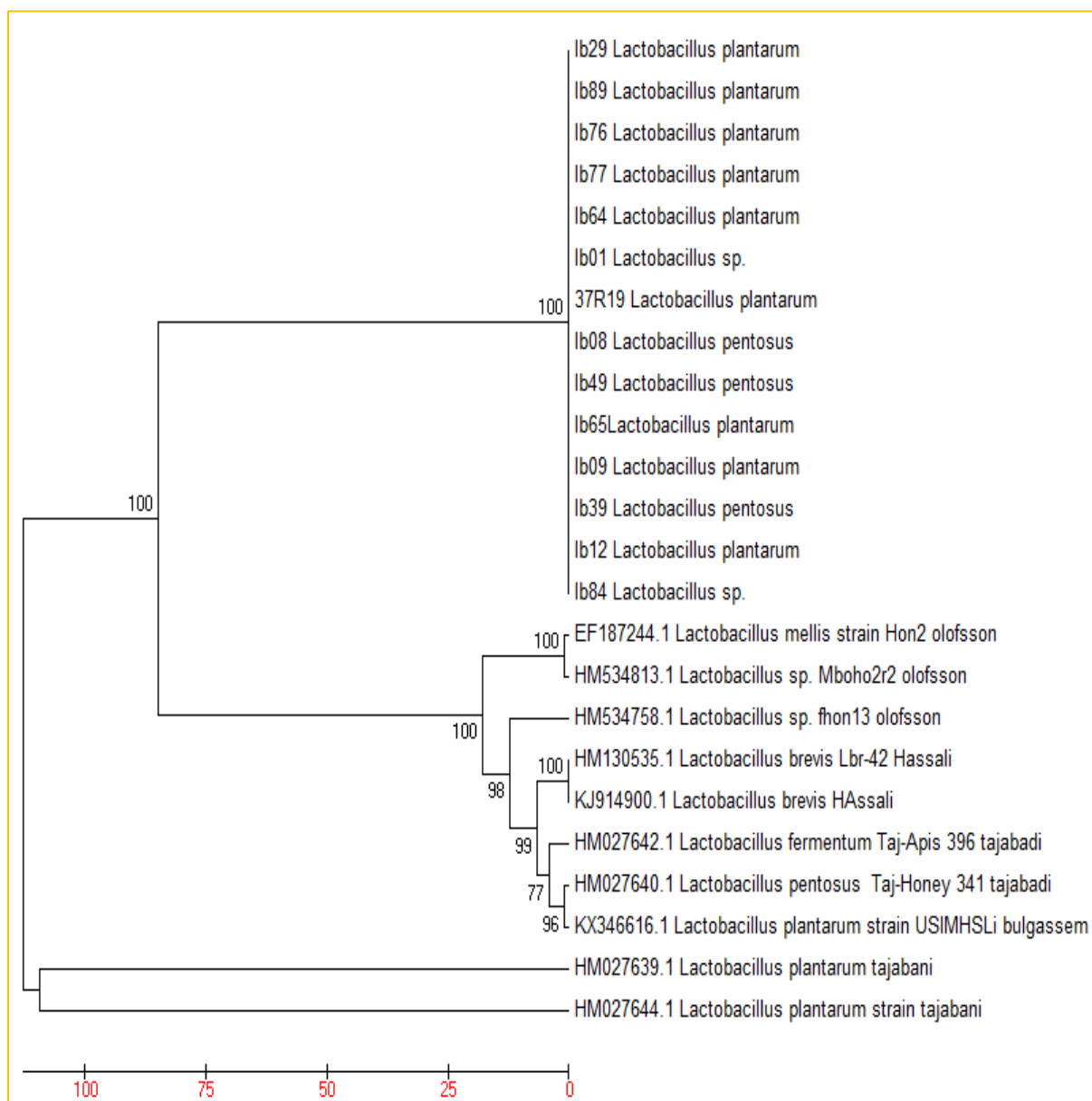


Figure 85 : Analyse phylogénétique de *Lactobacillus* isolées de miels





## IV.4. Etude des propriétés biologiques

### IV.4.1. Quantification des composés phénoliques et étude de l'activité antioxydante

Durant le processus de respiration cellulaire, les êtres vivants forment des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières peuvent provenir de plusieurs sources telles que la pollution, la radiation et les rayons ionisants. La production (ERO) est équilibrée par les antioxydants de l'organisme dans les conditions normales (Bouyahya et al., 2017). L'antioxydant joue un rôle vital dans la détérioration des radicaux libres dans l'organisme et la protection contre la dégradation oxydative. Le manque d'antioxydants dans le corps humain conduit à un phénomène appelé stress oxydatif (Noor et al., 2014). Ce dernier est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives de certains cancers et d'autres maladies chroniques telles que le diabète et l'ostéoporose (Massaux, 2014). Plusieurs recherches scientifiques ont démontré l'importance de la consommation régulière des aliments naturellement riches en antioxydants dans la diminution des risques d'apparition de ces maladies (Massaux, 2014).

Dans le but de valoriser les miels locaux, la quantification de leurs éléments bioactifs (polyphénols totaux et flavonoïdes) ainsi que l'étude de leurs activités antioxydantes ont été réalisés.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules peuvent être divisées en deux groupes, le premier est le groupe des acides phénoliques et les coumarines, le deuxième est celui des flavonoïdes avec les anthocyanes, flavones, flavonones, flavonols (Luchese et al., 2017). Ces dernières années, un intérêt particulier a été porté aux composés phénoliques, en raison des effets bénéfiques de ces derniers sur la santé humaine. Leurs contenus, dans les miels, diffèrent de manière quantitative et qualitative d'un échantillon à un autre (Luchese et al., 2017).

Le dosage des polyphénols totaux (PT) des échantillons a été réalisé en utilisant le réactif de folin -ciocalteu par la méthode colorimétrique de Singleton et al. (1999). Les résultats obtenus sont indiqués en annexe 07 et représentés sur les figures 86, 87, 88 et 89. Les concentrations, calculées à partir d'une courbe étalonnage (Fig. 90), sont exprimées en mg équivalent acide gallique.

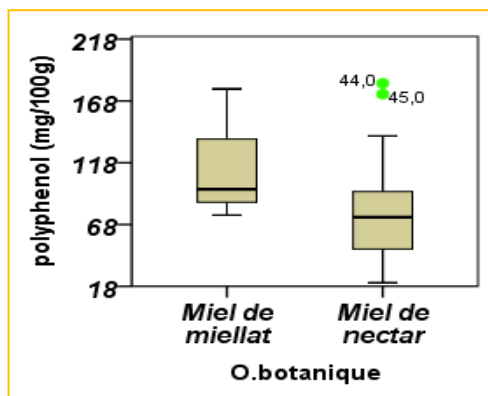


Les résultats obtenus indiquent des teneurs variables en polyphénols totaux. Ces derniers (annexe 07 et Fig. 86) oscillent entre  $20,890 \pm 0,00$  (miel E<sub>6</sub>, région de Bechar) et  $182,267 \pm 0,37$  mg EAG/100 g (E<sub>45</sub>, région de M'sila). Ces données sont presque similaires à celles obtenues par Boussaid et al. (2014) sur des échantillons de miels tunisiens (32,17-119,42 mg EAG/100 g). Comparativement aux travaux réalisés sur d'autres miels algériens, ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Ahmed (2014) et Mouhoubi-Tafinine et al. (2016) ; valeurs comprises entre 15,84-61,63 mg/100 g. Cependant, ils semblent être inférieurs (90,06 à 289,19 mg EAG/100 g) à ceux trouvés par Ouchemoukh (2012). D'après l'étude réalisée par Cabrera et al. (2017), la teneur en PT des miels argentins varie de 16,24 à 28,98 mg EAG/100 g. Alors que Tapia-Campos et al. (2017) signalent des concentrations allant de 62,13–136,84 mg/100 g sur les miels mexicains. Selvaraju et al. (2019) relèvent des concentrations variant de 6,567 et 11,438 mg GAE/100 g dans des miels Malaisiens.

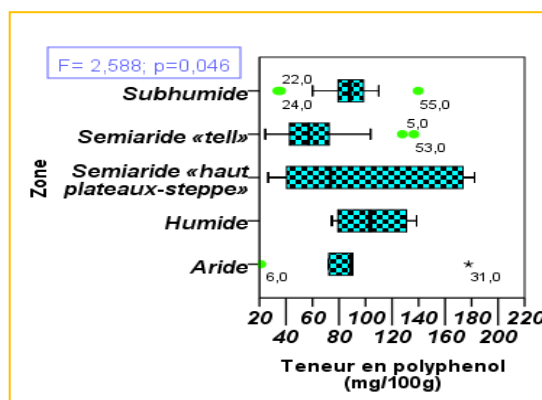
Les teneurs en PT peuvent être fortement influencés par l'origine florale, la localisation géographique et le climat (Kek et al., 2014). En effet, l'analyse statistique révèle une variation significative entre les miels monofloraux ( $p = 0,000048$ ), ils sont plus abondants dans les miels de *B. napus* ( $148,75 \pm 50,68$  mg EAG/100g) suivies respectivement d'*E. arborea* ( $130,84 \pm 10,82$  mg EAG/100 g) et *F. vulgare* ( $119,09 \pm 15,76$  mg EAG/100 g). Tandis que ceux de *Citrus* affichent une valeur moyenne de l'ordre de  $50,45 \pm 31,53$  mg EAG/100 g suivis respectivement des miels de *capparis* ( $63,38 \pm 28,57$  mg EAG/100 g) et de *Z. lotus* ( $63,71 \pm 21,69$  mg EAG/100 g) comme l'indique la Figure 87. Cette observation corrobore les résultats obtenus par Kuś et al. (2013) ayant signalé une variation significative entre les miels monofloraux polonais, ceux de bruyère et d'agrumes présentaient des concentrations moyennes de  $30,62 \pm 0,33$  et  $19,25 \pm 1,78$  mg GAE/100 g, respectivement. Selon Al-Farsi et al. (2018), la concentration phénolique totale de deux variétés de miels monofloraux d'Oman est au profit de ceux d'*Acacia* par rapport aux miels de « *Sidr* », avec respectivement des valeurs moyennes de 223,6 et 127 mg GAE/100 g. Parallèlement, comme indiqué dans la figure 88, en fonction de l'origine géographique des miels polyfloraux, le test ANOVA démontre, également, une différence significative ( $p=0,008$ ). Les produits de la région de Tizi-ouzou présentent les rations les plus élevées en PT avec une moyenne de  $117,15 \pm 31,89$  mg EAG/100 g, suivis respectivement de ceux de Tlemcen ( $94,19 \pm 12,25$  mg EAG/100 g) et Médéa ( $85,70 \pm 14,45$  mg EAG/100 g). Les miels polyfloraux de Mostaganem et Guelma notent les concentrations les plus faibles avec en moyennes  $51,52 \pm 22,26$  et  $56,60 \pm 19,30$  mg EAG/100 g, respectivement. Par ailleurs, une variation significative a également été constaté selon la zone de collecte ( $p=0,045$ ). Les produits des zones humides (Fig. 89) se sont avérés être les plus riches avec une teneur moyenne de  $105,04 \pm 3 0,68$  mg



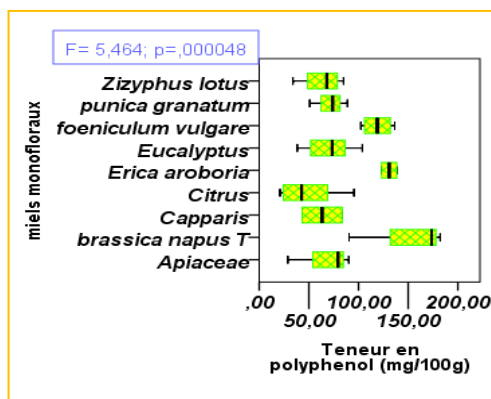
EAG/100 g, contrairement aux miels produits dans les zones semiarides telliennes ( $62,25 \pm 29,3$  mg EAG/100 g). L'étude menée par [Scripcă et al. \(2019\)](#), sur les miels polyfloraux collectés dans le nord de la Roumanie, justifie l'effet de la région de la collecte sur la teneur des PT. Les données enregistrées variaient de 6,54 à 12,81 mg EAG/100 g. De même, [Al-Farsi et al. \(2018\)](#) signalent une différence quantitative en PT des miels polyfloraux d'Oman. En ce qui concerne les miels serbes, [Gašić et al. \(2014b\)](#) ont également remarqué ces variations, entre les miels polyfloraux, en fonction de l'origine géographique.



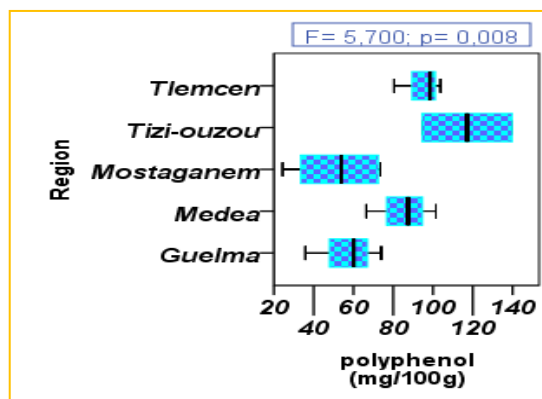
**Figure 86 :** Variation de la teneur en PT des miels analysés selon leurs origines botaniques



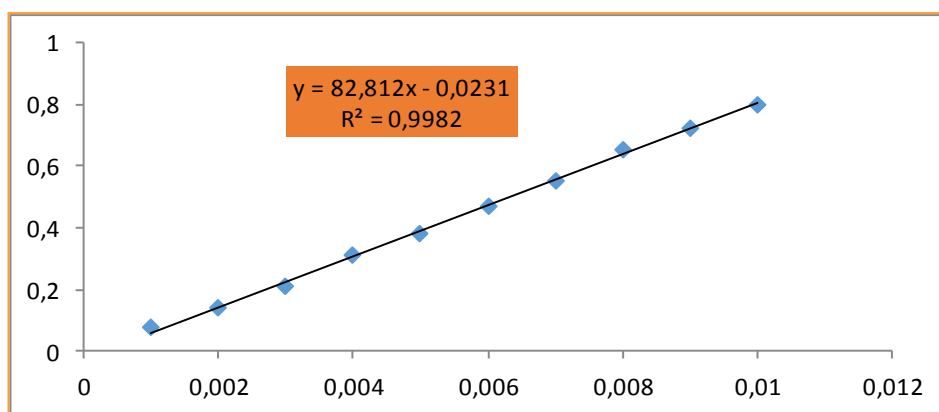
**Figure 89 : Teneurs en PT des miels, selon leurs zones de production**



**Figure 87 :** Teneurs en PT des miels monofloraux



**Figure 88 : Teneurs en PT des miels polyfloraux**



**Figure 90 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les flavonoïdes font partie du groupe les plus important des polyphénols totaux (Pontis et al., 2014). Ce sont les pigments responsables de la coloration des végétaux (Hadri, 2015). Certains flavonoïdes tels que kaempferol, quercétine, luteoline sont présents dans la majorité des miels. D'autre, en revanche, tels que l'hesperitine et la naringénine ne se trouvent que dans quelques variétés de miels (Petrus et al., 2011 ; Erejuwa et al., 2012).

Le dosage des flavonoïdes totaux (FT) a été effectué par la méthode colorimétrique, en utilisant le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La concentration de chacun des miels, exprimée en mg équivalent Quercétine par 100 g de miel (mg EQ/100 g) a été calculée à partir de la courbe étalon illustrée dans la Figure 95. Les résultats sont mentionnés dans l'annexe 07 et les figures 91, 92, 93 et 94.

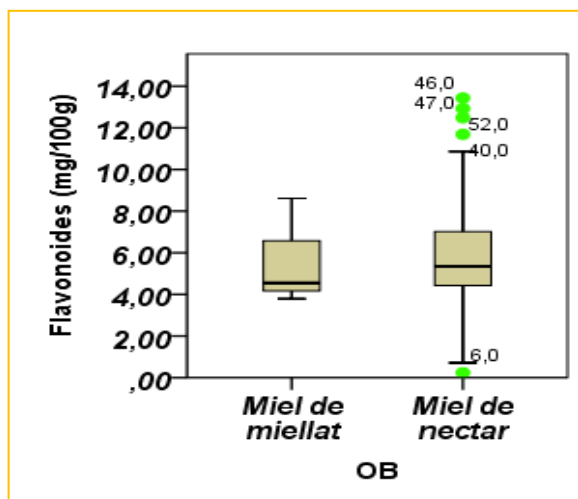
La valeur moyenne obtenue (Annexe 07, Fig. 91), au cours de ce travail, des flavonoïdes totaux ou FT des miels algériens est de  $5,86 \pm 2,96$  mg EQ/100 g, avec une teneur minimale de  $0,24 \pm 0,03$  mg EQ/100 g pour le miel  $E_6$  et une teneur maximale de  $13,4 \pm 0,61$  mg EQ/100g pour le miel  $E_{46}$ . Les écarts entre les valeurs extrêmes dénotent de l'existence d'une variabilité très importante parmi les miels algériens. Ces valeurs sont presque similaires à celles trouvées par Bouhlali et al., (2016) sur les miels marocains (1,17–17,91 mg RE/100g). Cependant, elles sont inférieures à celles trouvées par Ahmed (2014), ainsi que Ouchemoukh (2012) dans les miels algériens, avec des concentrations allant de 5,41 à 21,77 mg EC/100 et de 0,30 à 35,61 mg EC/100, respectivement. Une étude ultérieure montre que le contenu en flavonoïdes des miels argentins varie de 6,94–67.76 mg/100 g (Cabrera et al., 2017), alors que celui des miels tunisiens est compris entre 9,58 et 22,45 mg EQ/100 g (Boussaid et al., 2014).

Selon Turksitha et al. (2018), la composition en flavonoïdes des miels varie en fonction des espèces de l'abeille productrice de miels. Tout comme les polyphénols totaux, cette

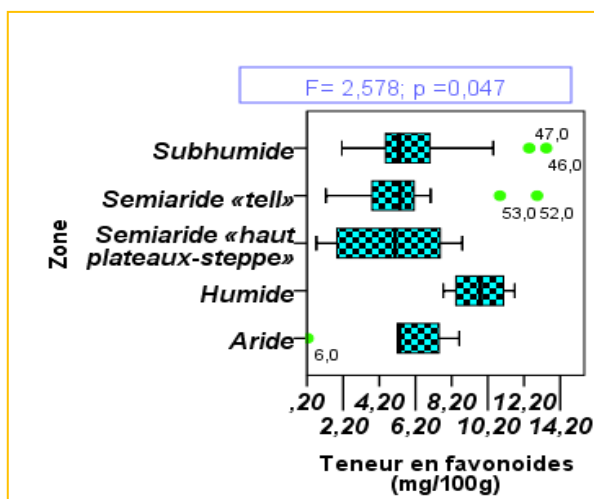


variation peut être également due à l'origine florale et à la situation géographique (Mouhoubi-Tafinine et al., 2016). En effet, ceci a été confirmé dans cette étude (Fig. 93). Il a été observé une variation significative entre les différents miels monofloraux ( $p=0,025$ ), ceux d'*E. arborea* présentent les concentrations les plus fortes ( $11,07 \pm 0,83$  mg EQ/100 g) suivi respectivement des miels de *F. vulgare* ( $8,65 \pm 2,44$  mg EQ/100 g), de *B. napus* ( $8,14 \pm 0,9$  mg EQ/100 g), à l'inverse des miels d'agrumes ayant fourni le moins ( $4,04 \pm 2,74$  EQ/100 g). De plus, l'analyse statistique des données a également dévoilé l'influence du facteur "origine géographique" sur la concentration des FT des miels polyfloraux étudiés ( $p=0,028$ ). Ceux originaires des régions de Tlemcen et de Tizi-ouzou sont les plus riches avec des moyennes de  $10,18 \pm 4,82$  et  $8,48 \pm 2,1$  mg EQ/100 g, tandis que les miels originaires de Médéa, Guelma et Mostaganem sont relativement les plus pauvres, avec respectivement des valeurs moyennes de l'ordre de  $4,51 \pm 1,30$  -  $4,64 \pm 0,78$  et  $4,88 \pm 1,31$  mg EQ/100 g (Fig.94). Selon l'origine des zones, l'étude indique l'existence de variations quantitatives dans le contenu en FT ( $p=0,047$ ). Il a été constaté des taux différents entre les moyennes allant de  $4,80 \pm 3,49$  mg EQ/100 g pour les zones semiarides steppiques à  $49,75 \pm 1,70$  mg EQ/100 g pour les zones humides (Fig. 92). Blasa et al. (2006) obtiennent une teneur moyenne de  $11,75 \pm 4,72$  mg CE/100 g de miel, avec des différences significatives entre les miels multifloraux provenant de différentes régions de l'Italie. D'après Ozkok al. (2018), la teneur moyenne en FT des miels de *Brassica napus* produit en Turquie est de 30,5 mg QE/kg tandis qu'elle est de 20,1 mg QE/kg pour les miels de *Citrus*. Les miels jordaniens de toutes fleurs, renferment des quantités de Flavonoïdes allant de  $1,52 \pm 0,087$  à  $5,74 \pm 0,145$ mg EQ/100 g (Al-Dabbas et al., 2019).

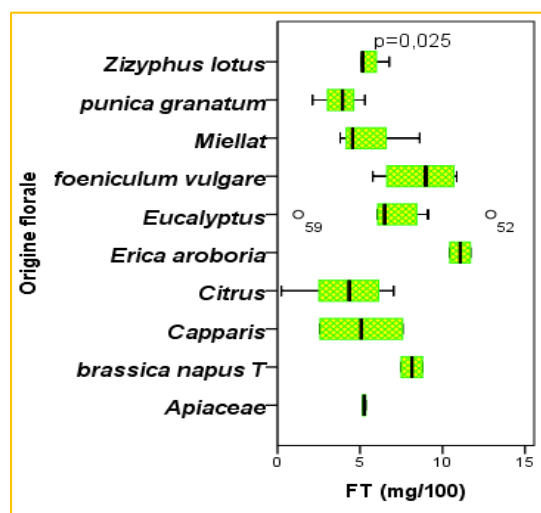
L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Pour la détermination du potentiel antioxydant du miel, de nombreuses méthodes analytiques ont été développées (Moniruzzaman et al., 2011). Les tests les plus couramment utilisés incluent DPPH (activité de piégeage 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) (Chua et al., 2013). Chaque test a ses avantages et ses inconvénients. Dans cette étude, la méthode du DPPH a été choisie en raison de la simplicité de son procédé et à la facilité de sa mise au point. Cependant, selon certains auteurs, il est plus sensible aux antioxydants lipophiles (Džugan et al., 2018). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Le DPPH\* est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène (Džugan et al., 2018).



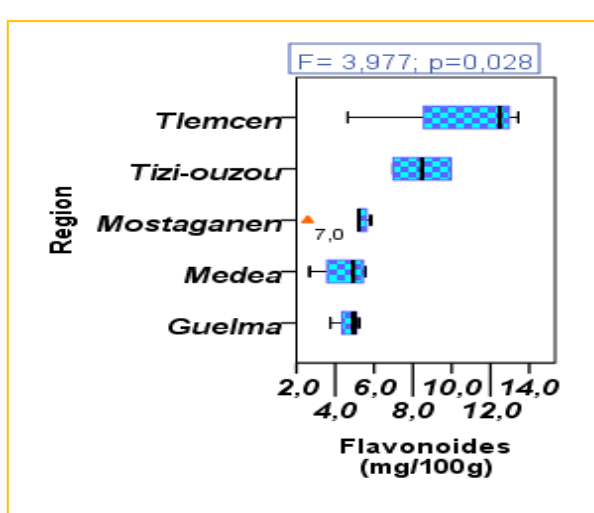
**Figure 91 :** Variation de la teneur en FT des miels analysés selon leurs origines botaniques



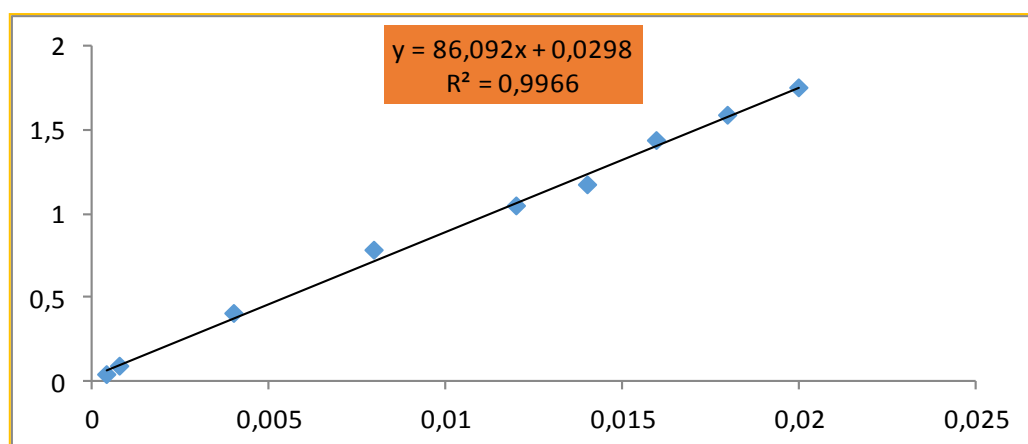
**Figure 92 :** Teneurs en FT des miels selon leurs zones de production



**Figure 93 :** Teneurs en FT des miels monofloraux



**Figure 94 :** Teneurs en FT des miels polyfloraux

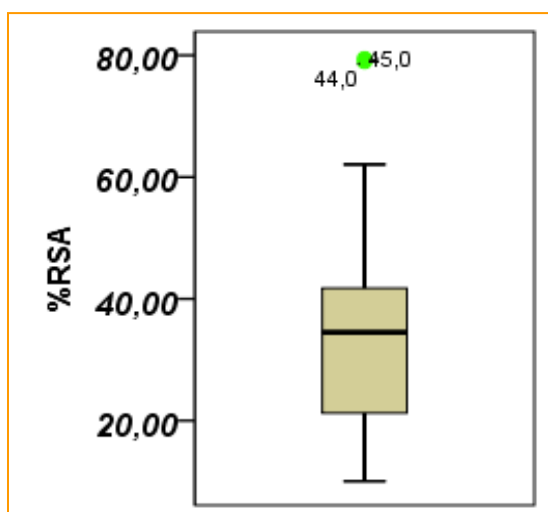


**Figure 95 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes

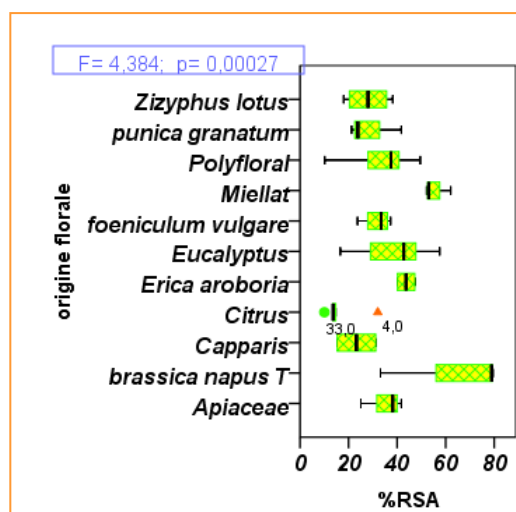




La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur jaune à une couleur violette. Une forte activité de piégeage du DPPH confère des niveaux élevés d'activité antioxydante de l'échantillon. Les résultats de l'effet antioxydant des miels analysés, réalisée par l'évaluation de leur activité antiradicalaire en utilisant la méthode de piégeage du radical libre et exprimés en% RSA (Radical Scavenging Activity) sont illustré dans l'annexe 07 et les Fig. 96, Fig. 97. D'après les données obtenus, les miels algériens étudiés présentent une activité antioxydante. Cependant, la puissance de cette activité varie considérablement, d'un échantillon à un autre. Ainsi, pour une concentration de 10%, la valeur moyenne du pouvoir antiradicalaire de tous les échantillons étudiés est de  $33,81 \pm 15,3\%$  (Fig. 96, Anexe 07). Le miel de Sidi Abdelmoumene dans la région de Mascara (E<sub>33</sub>) présente l'activité antiradicalaire la plus faible avec un pourcentage de  $10,04 \pm 0,92\%$ , tandis que les ceux de Hamma Dhalaa et Boussaâda dans la région de M'sila (E<sub>44</sub> et E<sub>45</sub>) exhibent les plus fortes activités avec respectivement  $79,5 \pm 0,30\%$  et  $78,9 \pm 0,48\%$ , soit 8 fois supérieure à la minimale. Comme indiqué dans la figure 97, les miels de *Brassica napus t.* présentent en moyenne les activités les plus fortes avec un pourcentage de  $63,86 \pm 26,60\%$  ( $p = 0,00027$ ), suivie respectivement de ceux d'*E. arborea* ( $43,71 \pm 5,04\%$ ) et d'*Eucalyptus* ( $39,14 \pm 13,42\%$ ). Contrairement, les miels de *Citrus* se sont montrés en moyenne les moins actifs avec seulement  $16,79 \pm 8,70\%$ . L'étude réalisée par Bouyahya et al. (2017), sur des miels Marocains, indique des pourcentages d'inhibition compris entre 36,38 et 61,94%. De même, par rapport à plusieurs variétés de miels iraniens, le pouvoir antiradicalaire observé par les miels de *Ziziphus lotus* présentait un meilleur potentiel antioxydant moyen de  $54,2 \pm 0,3\%$ . Tandis que ceux de *Citrus* montraient les plus faibles potentiels avec une valeur moyenne équivalent à  $46,2 \pm 0,0\%$  Khalafi et al. (2016). Selon Dżugan et al. (2018), l'activité du piégeage des radicaux libres des miels polonais de *Brassica napus* dilués à 20% (p/v) est de  $21,81 \pm 3,15\%$ , tandis que celle des miels de toutes fleurs est de  $39,89 \pm 15,08\%$ . Perna et al. (2013), sur des miels italiens, confirment ces variations ; l'activité de piégeage des radicaux variait de  $54,87 \pm 8,3\%$  pour les miels d'agrumes à  $78,89 \pm 9,87\%$  pour ceux de châtaignier. Celle-ci est, essentiellement, due à la complexité de la composition chimique des miels qui dépend de l'origine florale, des facteurs environnementaux et des conditions de stockage (Vinson et al., 1995).



**Figure 96** : Variation du pouvoir antioxydant des miels analysés



**Figure 97** : pouvoir antioxydant des miels de différentes origines florales

La concentration inhibitrice à 50% ou  $IC_{50}$  (aussi appelée  $EC_{50}$  pour Efficient Concentration 50%) exprimé en mg/ml qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres été calculée graphiquement par les régressions linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des miels testés. Les résultats obtenus des  $IC_{50}$  sont présentés dans l'annexe 07, Fig. 98, Fig.99.

Les données montrent que les  $IC_{50}$  sont inversement proportionnelles aux pourcentages du piégeage des radicaux libres et donc plus l' $IC_{50}$  est faible plus l'activité antioxydante du miel est élevée. Ces observations ont été apportées par plusieurs auteurs (Boussaid et al., 2014 ; Sarwar et al., 2015 ; Seijo-Rodríguez, 2017). La valeur moyenne de l' $IC_{50}$  des échantillons est de  $18,78 \pm 10,46$  mg/ml, avec un maximum de 49,28 mg/ml et un minimum de 6,28 mg/ml.

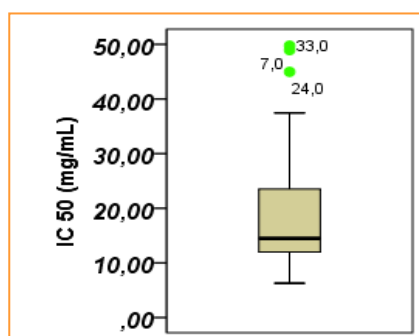
Statistiquement, le pourcentage du piégeage des radicaux libres est aussi bien corrélé avec la teneur des composés phénoliques totaux qu'avec les flavonoïdes totaux contenus dans les miels (Tab. 16), ce qui suggère que les polyphénols totaux sont les principales molécules antioxydantes bioactives présentes dans les miels. Cette observation a été rapportée par plusieurs auteurs (Sousa et al., 2016 ; Boussaid et al., 2014). Cependant, cette corrélation est plus importante avec les composés phénoliques totaux ( $r = 0,667$  ;  $p < 0,001$ ) que les flavonoïdes ( $r = 0,473$ ,  $P < 0,001$ ). Ceci prouve que les flavonoïdes ne sont pas les seuls composés phénoliques responsables du comportement antioxydant des miels. Les mêmes constatations ont été notées par Khalafi et al. (2016) montrant ainsi que le coefficient de corrélation entre les composés



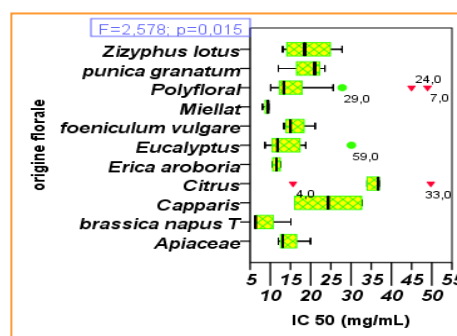
phénoliques et l'activité antioxydante est plus élevée ( $r = 0,955$ ) par rapport à celui trouvé en rapport avec les flavonoïdes ( $r = 0,812$ ). [Dong et al. \(2013\)](#) signalent l'existence d'une forte corrélation entre l'activité piégeant les radicaux du DPPH et les composés phénoliques ( $r = 0,89$ ) et les flavonoïdes ( $r = 0,71$ ), et déclaré par conséquent que les variations dans les activités antioxydantes des miels sont dues à la qualité et à la quantité des composés phénoliques responsables de cette activité. Cette dernière peut être affectée par de nombreux facteurs tels que la structure des composés phénoliques et en particulier les degrés et la position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule ([Balasandram et al., 2005](#) ; [Scherer et Gody, 2009](#)).

Par ailleurs, selon [Sousa et al. \(2016\)](#), les flavonoïdes et polyphénols testés seules dans un système *in vitro* ne reflètent nullement l'activité antioxydante totale du miel. Ainsi, la capacité antioxydante des miels pourrait être le résultat de l'activité combinée d'un large éventail de composés, notamment des composés phénoliques mais également des peptides, des acides organiques, des enzymes, des minéraux, des produits de réaction de Maillard et éventuellement d'autres composants mineurs ([Escuredo et al., 2013](#)).

Des corrélations élevées ont été également observées entre l'activité antioxydante et l'intensité de la couleur ( $r = 0,635$  ;  $p < 0,001$ ), les composés phénoliques et l'intensité de la couleur ( $r = 0,706$  ;  $p < 0,001$ ), ainsi que les composés flavonoïdes et l'intensité de la couleur ( $r = 0,878$  ;  $p < 0,001$ ). Le paramètre couleurs  $L^*$  montre des corrélations négatives avec la teneur en polyphénols totaux, les flavonoïdes, et de l'activité antioxydante. A l'inverse, le paramètre couleur  $a^*$  montre une corrélation positive avec les différents paramètres. Selon [Alvarez-Suarez et al. \(2010\)](#), l'intensité de la couleur du miel est liée aux pigments tels que les flavonoïdes, les caroténoïdes, etc., qui sont impliqués dans l'activité antioxydante des échantillons de miels. En général, les miels sombres ont une activité antioxydante supérieure à ceux de couleurs claires. Ces informations ont été rapportées par plusieurs auteurs ([Beretta et al., 2005](#) ; [Pontis et al., 2014](#) ; [Anand et al., 2018](#)).



**Figure 98 :** Variation du IC50 des miels analysés



**Figure 99 :** IC50 des miels de différentes origines botaniques



**Tableau16 :** Corrélations entre la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, activité antioxydante et la couleur des miels

|                  |                        | IC 50<br>(mg/mL) | %RSA            | FT<br>(mg/100g) | PT<br>(mg/100g) | L*              | a*              | b*     | Couleur<br>(mm Pfund) |
|------------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|-----------------------|
| IC 50<br>(mg/mL) | Corrélation de Pearson | 1                | <b>-0,876**</b> | <b>-0,500**</b> | <b>-0,635**</b> | <b>0,514**</b>  | <b>-0,580**</b> | -0,267 | <b>-0,671**</b>       |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,053  | 0,000                 |
|                  | N                      | 53               | 53              | 52              | 53              | 53              | 53              | 53     | 53                    |
| %RSA             | Corrélation de Pearson |                  | 1               | <b>0,473**</b>  | <b>0,667**</b>  | <b>-,496**</b>  | <b>0,565**</b>  | 0,210  | <b>0,635**</b>        |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,132  | 0,000                 |
|                  | N                      |                  | 53              | 52              | 53              | 53              | 53              | 53     | 53                    |
| FT<br>(mg/100g)  | Corrélation de Pearson |                  |                 | 1               | <b>0,672**</b>  | <b>-0,672**</b> | <b>0,733**</b>  | 0-,068 | <b>0,878**</b>        |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 |                 | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,630  | 0,000                 |
|                  | N                      |                  |                 | 52              | 52              | 52              | 52              | 52     | 52                    |
| PT<br>(mg/100g)  | Corrélation de Pearson |                  |                 |                 | 1               | <b>-0,522**</b> | <b>0,571**</b>  | 0,038  | <b>0,706**</b>        |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 |                 |                 | 0,000           | 0,000           | 0,788  | 0,000                 |
|                  | N                      |                  |                 |                 | 53              | 53              | 53              | 53     | 53                    |
| L*               | Corrélation de Pearson |                  |                 |                 |                 | 1               | <b>-0,866**</b> | 0,209  | <b>-0,790**</b>       |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 |                 |                 |                 | 0,000           | ,134   | ,000                  |
|                  | N                      |                  |                 |                 |                 | 53              | 53              | 53     | 53                    |
| a*               | Corrélation de Pearson |                  |                 |                 |                 |                 | 1               | -0,094 | <b>0,864**</b>        |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 |                 |                 |                 |                 | 0,501  | 0,000                 |
|                  | N                      |                  |                 |                 |                 |                 |                 | 53     | 53                    |
| b*               | Corrélation de Pearson |                  |                 |                 |                 |                 |                 | 1      | -,053                 |
|                  | Sig. (bilatérale)      |                  |                 |                 |                 |                 |                 |        | ,705                  |
|                  | N                      |                  |                 |                 |                 |                 |                 | 53     | 53                    |

\*\* . La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral), N : nombre d'échantillons



## IV.4.2. Etude de l'effet antibactérien des miels et de lactobacilles isolés à partir du miel

Dans cette partie nous avons testé, l'effet inhibiteur de miels et des lactobacilles isolés contre des bactéries pathogènes et/ou d'altération.

### IV.4.2.1. Profil de sensibilité de bactéries pathogènes et/ou d'altération aux antibiotiques

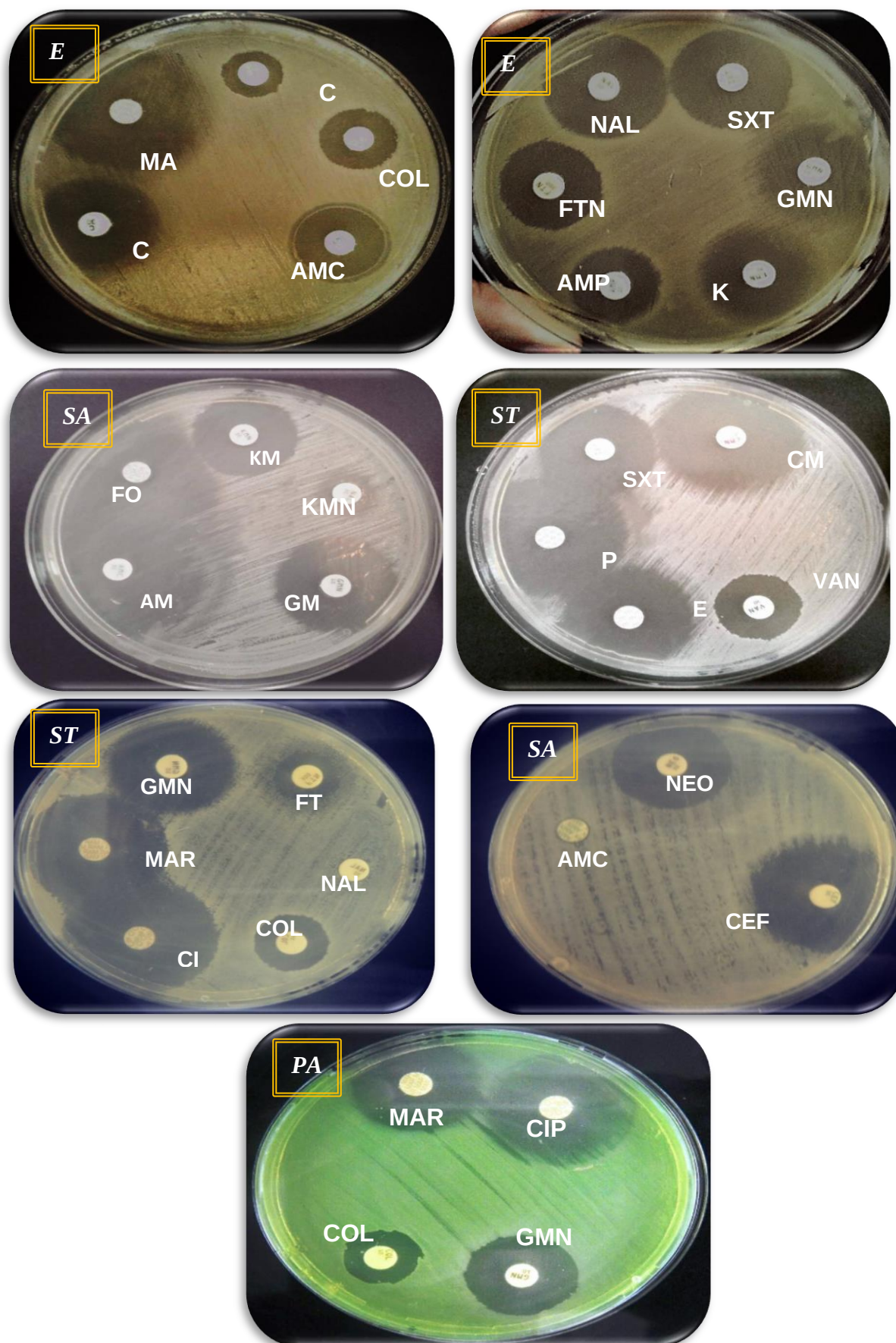
L'antibiogramme consiste à évaluer la sensibilité de souches bactériennes pathogènes et/ou d'altération, indicatrices pour les miels et les bactéries lactiques isolées de ces mêmes miels, vis-à-vis de différents antibiotiques. Nous avons testé l'activité de 22 antibiotiques par la méthode standard des disques. Pour chaque bactérie testée les antibiotiques adéquats ont été utilisés selon les recommandations de standardisation de l'antibiogramme (CLSI, 2016). Les mesures des zones d'inhibition sont rapportées dans le tableau 17. Un aspect des résultats est présenté en figure 100.

Tableau 17 : Résultats de l'antibiogramme

| ATB | Souches | <i>E.Coli</i> | <i>S.aureus</i> | <i>S.typhi</i> | <i>P.aeruginosa</i> |
|-----|---------|---------------|-----------------|----------------|---------------------|
|     | AM      | 21            | 30              | ND             | ND                  |
|     | AMP     | 18            | ND              | ND             | ND                  |
|     | AMX     | ND            | ND              | R              | ND                  |
|     | C       | 26            | ND              | -              | ND                  |
|     | CEF     | 12            | ND              | 31             | ND                  |
|     | CIP/C   | 28            | ND              | 33             | 29                  |
|     | CMN     | ND            | 33              | ND             | ND                  |
|     | COL     | 14            | ND              | 27             | 13                  |
|     | E       | ND            | 30              | ND             | ND                  |
|     | FOX     | ND            | 26              | ND             | ND                  |
|     | FTN     | 22            | ND              | 14             |                     |
|     | GMN     | 24,5          | 27              | 27             | 21                  |
|     | IET     | ND            | ND              | ND             | 24                  |
|     | KMN     | 25            | 23              | ND             | ND                  |
|     | NAL     | 27            | 11              | R              | ND                  |
|     | NEO     | ND            | ND              | 26             | ND                  |
|     | p       | ND            | 33              | ND             | ND                  |
|     | SXT     | 26            | 27              | ND             | ND                  |
|     | TMP     | ND            | ND              | ND             | 27                  |
|     | TPT     | ND            | ND              | ND             | 11                  |
|     | VAN     | ND            | 18              | ND             |                     |
|     | MAR     | 32            | ND              | 30             | 26                  |

Le diamètre de la zone d'inhibition est exprimé en mm, ND : Non déterminé





**Figure 100 :** Antibiogramme des différentes souches pathogènes. EC : *E. coli*, SA : *S. aureus*, ST : *S. typhi*, PA : *P. aeruginosa*

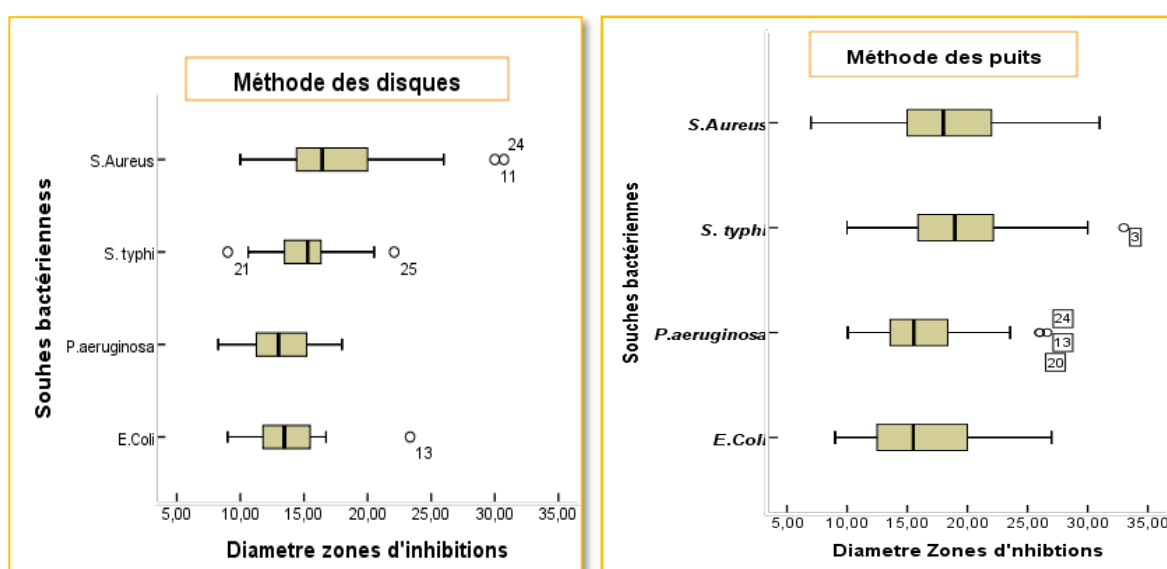




Les résultats du tableau montrent que les différents antibiotiques procèdent des effets différents sur les bactéries étudiées. Les souches sont sensibles aux antibiotiques avec une zone d'inhibition allant de 11 à 32 mm. Les antibiotiques MAR et CIP sont les plus efficaces vis-à-vis des souches. La souche *S. typhi* a montré une résistance aux antibiotiques NAL et AMX

#### IV.4.2.2. Test de l'activité antibactérienne des miels contre des bactéries pathogènes et/ou d'altération

Cette étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne des miels étudiés sur quatre espèces de bactéries pathogènes, à savoir, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* par la méthode de diffusion sur milieux gélosés en utilisant deux techniques, celle des puits et celle des disques. Les résultats de l'évaluation antibactérien des différents milieux gélosés, sont illustrés dans la [figure 101](#).



**Figure 101 :** Résultats des tests de sensibilité des souches indicatrices aux miels en milieux gélosés

À l'issue de ce test, on constate que tous les miels testés possèdent un pouvoir antibactérien avec toutefois des performances différentes d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique leurs larges spectres d'action antibactérienne. On constate également que dans les deux méthodes utilisées (diffusion en puits ou à partir de disques) se sont globalement les *S. Aureus* et *S. Typhi* qui sont les plus sensibles aux miels par rapport aux souches *E. Coli* et *P. aeruginosa* qui sont plus résistantes. Cependant les zones d'inhibition sont plus grandes dans la méthode des puits avec des moyennes de zones d'inhibition de  $16.43 \pm 4.08$  mm,  $18.38 \pm 5.32$  mm,  $16.38 \pm 3.83$  mm et  $19.5 \pm 5.33$  mm, tandis que dans la méthode



des disques elles sont de  $13.55 \pm 2.99$  mm,  $17.71 \pm 5.08$  mm,  $13.21 \pm 2.51$  mm,  $14.95 \pm 2.8$  vis à avis respectivement des souches *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *S. Typhi*. Dans la méthode des puits l'échantillon E<sub>3</sub> provenant de la localité de Mazagran (Mostaganem) enregistre la valeur de la zone d'inhibition la plus élevée contre *S. typhi* avec un diamètre 33 mm tandis que les échantillons E<sub>57</sub> et E<sub>60</sub> enregistrent les valeurs les plus faibles des zones d'inhibition contre la souche *S. aureus* avec un diamètre de 7 mm. Dans la méthode des disques la valeur des zones d'inhibition varie de 8,25 mm (contre *S. aureus*) pour l'échantillon E<sub>21</sub> provenant de la localité khadra à 30,72 mm (contre *S. aureus*) pour l'échantillon E<sub>24</sub> provenant de la localité de khezarras.

#### IV.4.2.2.1. Effet antibactérien des miels selon leurs origines botaniques

Les résultats des tests de sensibilité des souches indicatrices aux miels en fonction de leurs origines botaniques sont présentés dans les figures 102, 103, 104 et 105. Selon le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne, les différentes bactéries ont été considérées comme « sensibles » si la moyenne des zones d'inhibition est supérieure à 12 mm, « modérément sensibles » si elle est comprise entre 6 et 11 mm, résistantes si elle est inférieure à 5 mm.

L'effet inhibiteur des miels vis-à-vis de la souche *P. aeruginosa* varie de « modérément sensible » à « sensible ». Les types de miels qui ont montré une plus grande efficacité d'inhibition sont respectivement les miels d'eucalyptus ( $22,24 \pm 5,32$  mm), *F.vulgare* ( $18.2 \pm 1.28$  mm), Genista 16,56 et *P. granatum* ( $17,49 \pm 2,72$ ) dans la méthode des puits et dans la méthode des disques ce sont les miels de *F. vulgare* ( $16,55 \pm 1,43$  mm), Genista (14,47 mm) et *P. granatum* ( $14,86 \pm 0,15$  mm). On constate également une grande variation des valeurs de zones d'inhibition des miels polyfloraux avec des diamètres allant de 10 (E<sub>50</sub>) à 26 mm (E<sub>13</sub>) Les miels de *Capparis* et *Citrus* ont été les moins efficaces vis-à-vis de *P. aeruginosa*.

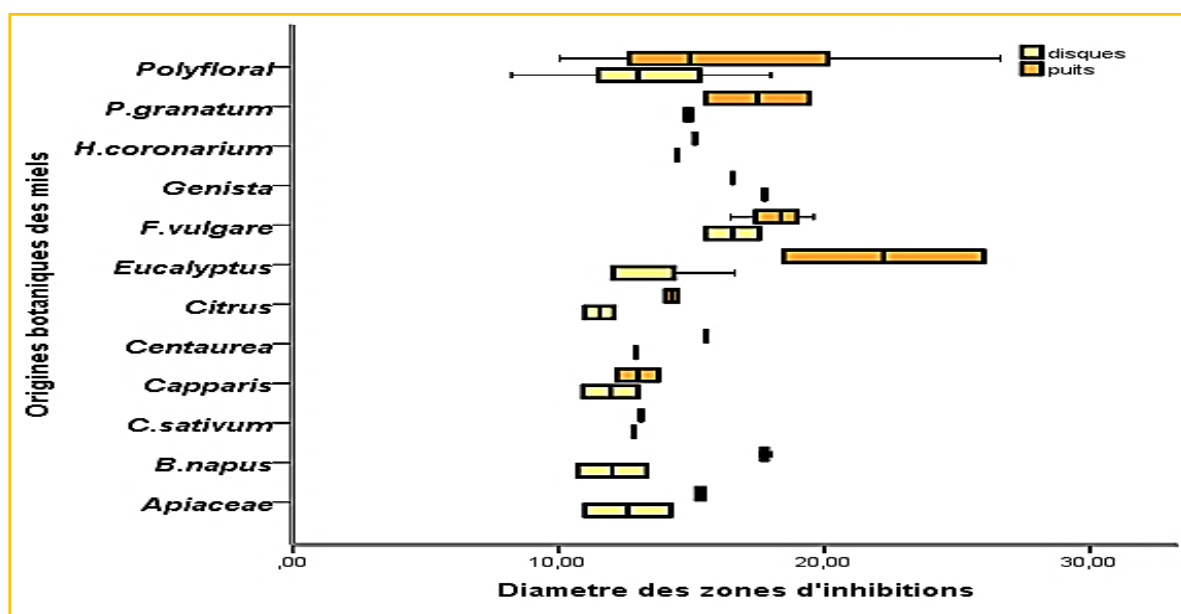
L'effet inhibiteur des miels vis-à-vis de la souche *E. coli* varie de « modérément sensible » à sensible. Les miels d'*Eucalyptus* présentent une forte activité antibactérienne par rapport aux autres variétés de miels vis à vis de la souche *E. Coli* avec une moyenne des diamètres des zones d'inhibition de  $15.87 \pm 1.22$  mm (méthode des disques) et  $24.92 \pm 2.83$  mm (méthode des puits), suivis des miels de *P. granatum* avec une moyenne des diamètres de zones d'inhibition de  $20.49 \pm 0.71$  mm (méthode des puits) et  $15,75 \pm 0.36$  mm (méthode des disques). Les miels de *Capparis* et de *Citrus* ont présenté globalement les plus faibles activités antibactériennes contre la souche *E. coli* avec respectivement une moyenne de diamètre de



12,46 ± 2,06 mm, 10,33 ± 1,05 mm (méthode des disques) et 11,49 ± 0,71 mm, 13,93 ± 1,41 mm (méthode des puits).

L'effet inhibiteur des miels contre la souche *S. aureus* varie de « modérément inhibiteur à inhibiteur. Cette souche a connu un plus grand effet d'inhibition sous traitement des miels à pollen de *Punica granatum* avec des valeurs moyennes de 27,5 ± 3,53 (méthode des disques) et 20,30 mm ± 7,21 (méthode de diffusion en puits) ainsi que les miels à pollen d'*eucalyptus* avec une valeur moyenne de 16,96 ± 4,30 mm (Méthode des disques) et 29 ± 2,82 mm (méthode de diffusion en puits). La souche *S. aureus* est moins sensible aux miels de *Citrus*. Les diamètres des zones d'inhibition de cette souche sont de 16,33 ± 1,88 mm dans la méthode des puits et de 13,28 ± 3,94 mm dans la méthode des disques.

L'effet inhibiteur des miels contre la souche *S. typhi* varie de « modérément sensible » à sensibles. Cette souche a connu globalement un plus grand effet d'inhibition sous traitement par des miels à pollen de *Genista* avec un diamètre des halos d'inhibition de 33 mm (méthode de diffusion en puits) et 15,61 mm (méthode des disques) suivie des miels *F. vulgare* avec des valeurs de 14,6 ± 0,56 mm (méthode des disques) et 27 ± 0,56 mm (méthode des puits). L'Effet inhibiteur des miels d'*Eucalyptus* est plus prononcé dans la méthode des puits avec une moyenne du diamètre d'inhibition de 25 ± 7,07 mm tandis qu'elle est de 12,01 ± 0,01 mm par la méthode des disques.



**Figure 102.** Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre *P. aeruginosa*

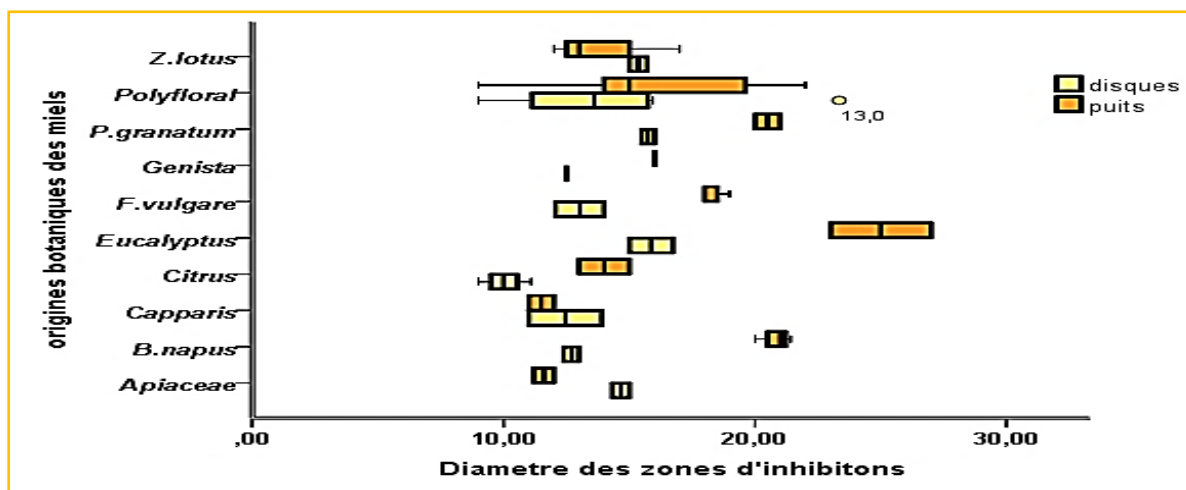


Figure 103: Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre *E.coli*

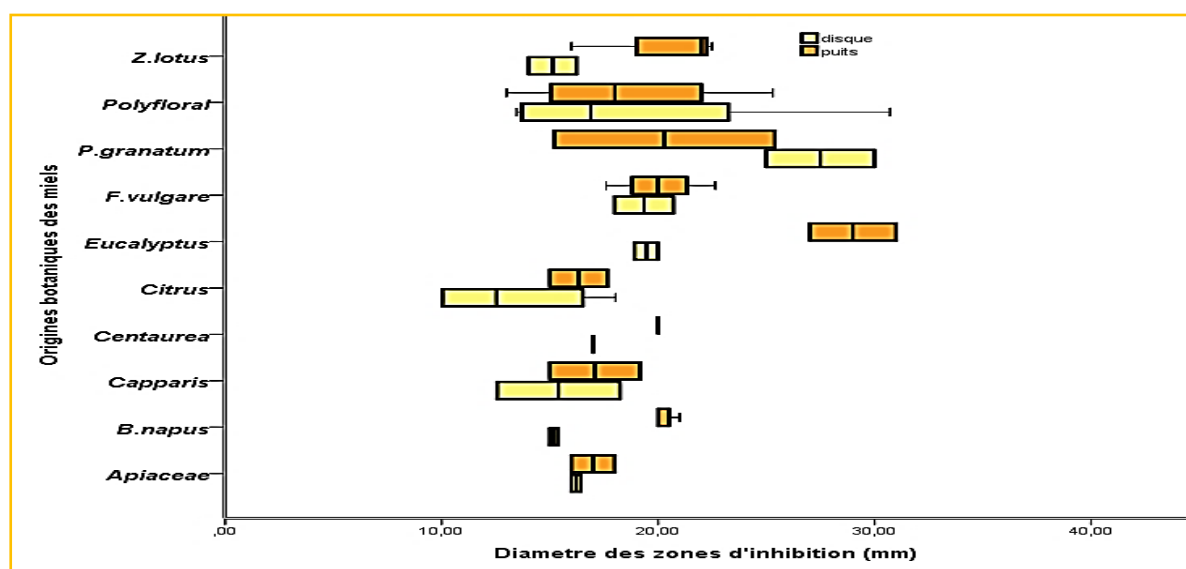


Figure 104 : Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre *S.aureus*.

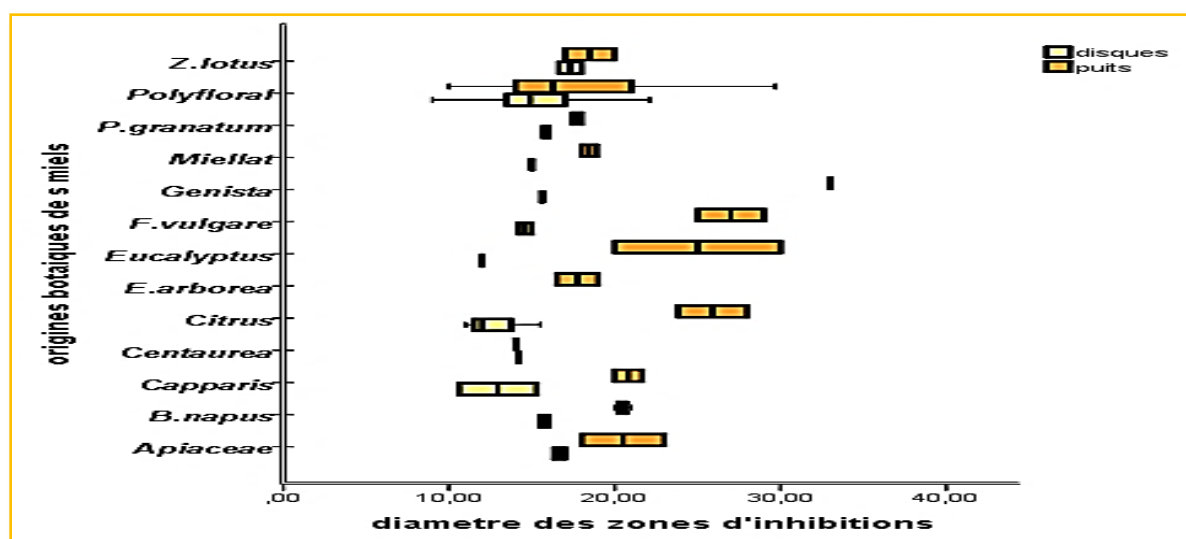


Figure 105 : Résultats de l'activité antibactérienne des miels selon leurs origines botaniques contre *S. typhi*



Le traitement des infections microbiennes au miel remonte à l'antiquité. Récemment, il a été redécouvert dans le domaine médical, en particulier là où les agents thérapeutiques modernes classiques comme les antibiotiques, échouent (Mandal et Mandal., 2011). Dans cette partie de notre étude des miels, du terroir algérien, bruts ont été testés par deux méthodes différentes de diffusion en milieux gélosés (puits et disques) pour leurs activités antibactériennes contre les souches *P. aeruginosa*, *E. Coli*, *S. aureus* et *S. typhi*. Ces miels ont montré une activité inhibitrice contre les microorganismes testés ; mais à des degrés différents qui semblent dépendre de la souche indicatrice, du type de miel et de la méthode de mise en évidence utilisée.

*P. aeruginosa* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée en pathologie infectieuse (Bremer, 2014). Elle se place parmi les agents étiologiques majeurs impliqués dans les infections nosocomiales. Une enquête multicentrique menée aux Etats-unis par la Centrale Nationale des Infections Nosocomiales indiquait qu'entre 1990 et 1992 *P. aeruginosa* était le deuxième bacille à gram négatif et le cinquième agent pathogène en fréquence (Cabrol et al., 2014). Les résistances acquises sont très fréquentes chez *P. aeruginosa* (Carpentier et al., 2003). Elles représentent une cause majeure de mortalité chez les grands brûlés (Berche et al., 1988). Dans ce dernier cas en particulier, le miel serait d'un grand secours, car en plus de son effet antibactérien et antioxydant ce serait un moyen de choix dans la cicatrisation des plaies (Ahmed, 2014). De plus le risque majeur chez les brûlés est la septicémie qui intervient dans un tiers des cas, même sous traitement, causant ainsi une mortalité élevée (75% environ) selon Stone et Martin, (1969). Dans notre étude les zones d'inhibition obtenues vis-à-vis de *P. aeruginosa* étaient situées entre 10 et 26 mm. La comparaison de l'effet antibactérien des miels selon leurs origines botaniques a montré que les miels *F. vulgare*, *Genista* et *P. granatum* étaient les plus efficaces, par rapport aux autres types de miels, contre *P. aeruginosa*. En accord avec nos résultats cette sensibilité de *P. aeruginosa* a été mise en évidence par de nombreux auteurs (Hegazi, 2011 ; Al-Waili et al., 2013 ; Cooper et al., 2014 ; Khan et al., 2014 ; Mahendran and Kumarasamy, 2015 ; Halstead et al., 2015 ; Matzen et al., 2018).

*E. coli* est un bacille à gram négatif de la famille des entérobactéries, hôte commun de la microflore commensale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud tels que les mammifères. Certaines souches *E. coli* sont responsables de pathologies diverses chez l'homme et l'animal. Les plus fréquentes sont des diarrhées causées par les Entérotoxigéniques *E. coli* (ETEC), des gastro-entérites causées par des Entéropathogéniques *E. coli* (EPEC) ou des



infections urogénitales causées par les Uropathogéniques *E. coli* (UPEC). La prévalence des souches productrices de BLSE dans l'espèce *E. coli* (EBLSE), ne cesse de progresser en milieu hospitalier. Elle a augmenté d'une façon accentuée en Algérie, de 2,4% en 2006 (Touati et al., 2006) à 29,6% en 2013 (Rahal et al., 2015). D'après les résultats que nous avons obtenus nous constatons que la souche *E. coli* testée est très sensible aux différents miels utilisés puisqu'il y a eu la formation de halos d'inhibition dont les diamètres étaient de 9 mm dans le cas des miels E<sub>06</sub>, E<sub>07</sub>, E<sub>46</sub> et 27 mm pour E<sub>20</sub>. Les miels d'*Eucalyptus* présentent la valeur moyenne du diamètre d'inhibition vis-à-vis de la souche *E. coli* la plus élevée par rapport aux autres types de miels. La comparaison entre 32 miels du Sahara algérien issus de 8 origines botaniques différentes a révélé que l'effet antibactérien du miel de *Fabaceae* était plus efficace contre plusieurs souches pathogènes. *E. coli* était l'espèce la plus sensible avec une zone d'inhibition de  $10,1 \pm 4,7$  mm (Laallam et al., 2015). Ahmed et al. (2014) ont étudié in vitro le potentiel antibactérien du miel du nord Algérien. Ils ont démontré que la croissance d'*E. coli* était inhibé lorsque l'on ajoute du miel à des concentration comprises entre 14 et 20% au milieu de culture. Plusieurs autres études ont démontré le pouvoir inhibiteurs du miel vis à vis d' *E. coli*. (Sherlock et al., 2010 ; Hegazi, 2011 ; Mahendran and Kumarasamy, 2015 ; Halstead et al., 2015 ; Matzen et al., 2018 ; Ghramh et al., 2018).

*S. aureus* est un germe aérobie, anaérobie facultatif à Gram positif se présentant sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes. L'épidémiologie de la résistance chez *S. aureus* a été marquée ces 10 dernières années d'une part par la communautarisation des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) et d'autre part, par l'émergence des phénotypes de résistance aux glycopeptides (Donnio et al., 2010). Les infections à *staphylocoques* peuvent être localisées et de propagation directe en atteignant essentiellement le revêtement cutané, ou diffuser par voie sanguine en prenant un caractère septicémique et un polymorphisme symptomatique extrême. Les Diamètres des zones d'inhibition de la souche *S. aureus* dans notre étude variaient de 7 mm (E<sub>57</sub>, E<sub>60</sub>) à 31 (E<sub>20</sub>) mm. La comparaison des échantillons en fonction de leurs origines botaniques a montré que les miels d'*Eucalyptus* et de *Punica granatum* sont les plus efficaces contre *S. aureus*. Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par d'autres auteurs qui utilisaient le miel comme agent inhibant la formation de biofilm par *S. aureus* (Lu et al., 2014). Almasaudi et al. (2017) ont montré que le miel de manuka avait un meilleur effet bactéricide par rapport aux autres types de miels contre *S. aureus* résistant à la méticilline. Al-Haj et al. (2009) ont réalisé une étude dans laquelle ils ont testé le miel de Malaisie sur MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline). Ils





ont conclu que le miel inhibait complètement la croissance bactérienne. Dans une autre étude, [Merckoll et al. \(2009\)](#) ont montré que les biofilms étaient abolis par les substances biocides présentes dans le miel norvégien et que le miel était bon pour le soin des plaies. [Alandejani et al., \(2009\)](#) ont montré lors d'une étude *in vitro* ; qu'à des concentrations de 50% un miel de (sidr) du Yémen et un miel de manuka néo-zélandais de qualité médicale (Conviât) avaient des effets bactéricides sur des biofilms préétablis de *S. aureus* sensibles à la méticilline.

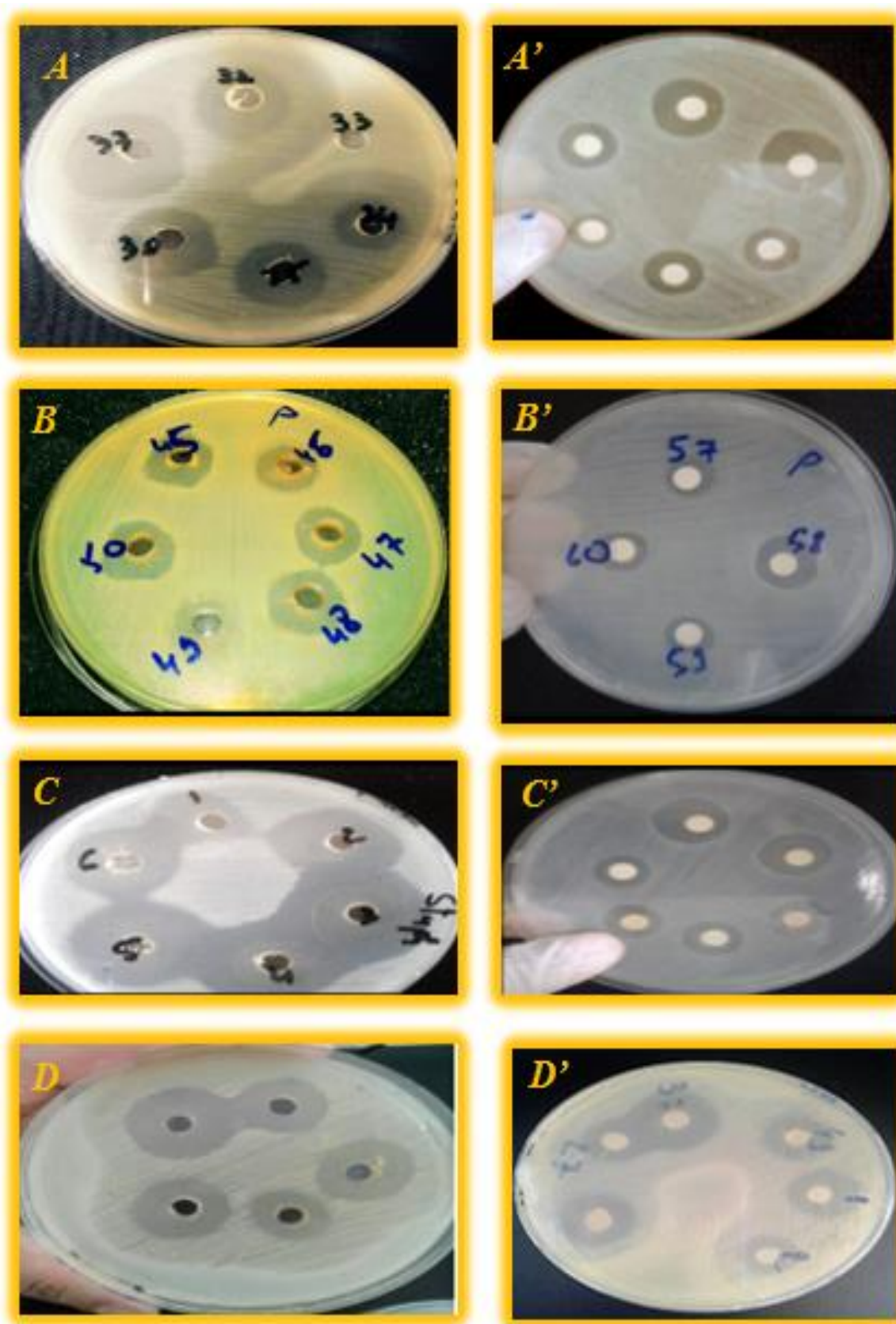
La fièvre typhoïde reste un problème de santé publique important dans les pays en développement et l'une des principales causes de fièvre chez les voyageurs qui reviennent de ces pays ([Hannan et al., 2009](#)). Elle est généralement due au germe *S. typhi*. Ce dernier est un bacille à Gram négatif et il est le plus souvent transmis par l'alimentation. Le développement de la résistance aux médicaments anti-typhoïdiques classiques et l'émergence récente de la résistance aux fluoroquinolones ont rendu très difficile et onéreux le traitement de la fièvre typhoïde ([Hannan et al., 2009](#)). Les stratégies thérapeutiques devenant de plus en plus limitées, il est impératif d'étudier des modalités non conventionnelles. Dans ce contexte, le miel est un candidat potentiel pour lutter contre la résistance aux antimicrobiens, car il contient un large répertoire de composés antibactériens qui agissent de manière synergique sur plusieurs sites, réduisant ainsi le risque de résistance de la bactérie. Nos tests montrent que les miels sont très actifs sur *S. typhi* avec des diamètres d'inhibition allant de 9 (E<sub>21</sub>) à 33 mm (E<sub>03</sub>). La comparaison des miels en fonction de leurs origines botaniques a montré que les miels d'*Eucalyptus* et de *Genista* sont les plus efficaces. Une étude menée par [Hussain et al., \(2015\)](#) a révélé que les miels pakistanais de différentes origines botaniques et le miel de manuka avaient une activité antibactérienne contre MDR-*Salmonella typhi* (multidrug-resistant *Salmonella typhi*). Les résultats ont également démontré la présence d'une activité antibactérienne liée au peroxyde d'hydrogène plus élevée dans certains échantillons de miel (19%) contre le MDR-*Salmonella typhi* par rapport au miel manuka (UMF-21). Cependant, seul le miel de manuka a présenté une activité antibactérienne sans peroxyde. L'étude rapportée par [Das et al., \(2015\)](#) montre que la croissance des espèces bactériennes qui causent des infections gastriques, telles que *S. typhi* et *S. typhimurium* a été inhibée par le miel de sésame et les zones d'inhibition étaient, respectivement, de 30 mm et 33 mm. [Hannan et al., \(2009\)](#) ont révélé l'efficacité du miel de *Ziziphus jujuba* et *Plectranthus rugosus wall* contre des souches de *S. typhi* résistantes aux antibiotiques. [Aurongzeb et Kamran 2015](#) ont étudié *in vitro* l'effet des miels pakistanais de différentes origines botaniques sur des souches de *S. typhi* résistantes aux



antibiotiques, isolées à partir d'échantillons fécaux cliniques. Les résultats ont montré une activité antibactérienne importante contre *S. typhi*, pour tous les types de miels.

Les différences entre les échantillons de miel en termes d'activité antibactérienne peuvent être attribuées aux variations naturelles des sources florales de nectar et aux différents emplacements, de ses conditions de stockage et de traitement, ainsi que de facteurs liés aux abeilles tels que l'âge et la santé des colonies ([Irish et al., 2011](#) ; [Cokcetin et al., 2016](#)). Une pression osmotique élevée (conséquence de la teneur élevée en sucre - environ 80% de la masse du produit) et le pH bas du produit renforcent en outre son potentiel antimicrobien et créent un environnement hostile pour la majorité de la microflore. Selon [Martinotti et Ranzato \(2018\)](#) des substances telles que la défensine-1, le méthylglyoxal et des inhibiteurs végétaux (lysozymes, flavonoïdes, substances aromatiques, les composés protéiques et volatiles) contribuent efficacement à ses propriétés antimicrobiennes. Récemment, d'autres composés ont été mis en évidence, notamment dans le miel de *Leptospermum scoparium* (Manuka), les peptides antibactériens, bee-defensin -121 et les composés bioactifs qui modifient l'expression d'une protéine spécifique dans *S. aureus* ([Stagos et al., 2018](#)). En outre, il a été démontré que les facteurs antibactériens du miel peuvent présenter une activité synergique ([Kwakman et al., 2011](#)).

On a constaté également que pour la majorité des miels la méthode de diffusion en puits a montré un effet inhibiteur supérieur par rapport à la méthode des disques. Cette variation pourrait être attribuée au manque de sensibilité du test de diffusion sur gélose à partir des disques ce qui suggère que dans les traitements thérapeutiques pour le traitement des plaies la technique la plus adaptée serait de mettre le miel directement sur la plaie et non pas par un pansement à base de miel brut.



**Figure 106** : Effet des miels sur la croissance des souches indicatrices par l'utilisation des différentes méthodes. A : *E. coli* (méthode des puits), A' : *E. coli* (méthode des disques), B : *P. aeruginosa* (méthode de diffusion en puits), B' : *P. aeruginosa* (méthode des disques), C : *S. aureus* (méthode de diffusion en puits), C' : *S. aureus* (méthode des disques), D : *S. typhi* (méthode de diffusion en puits), D' : *S. typhi* (méthode des disques).



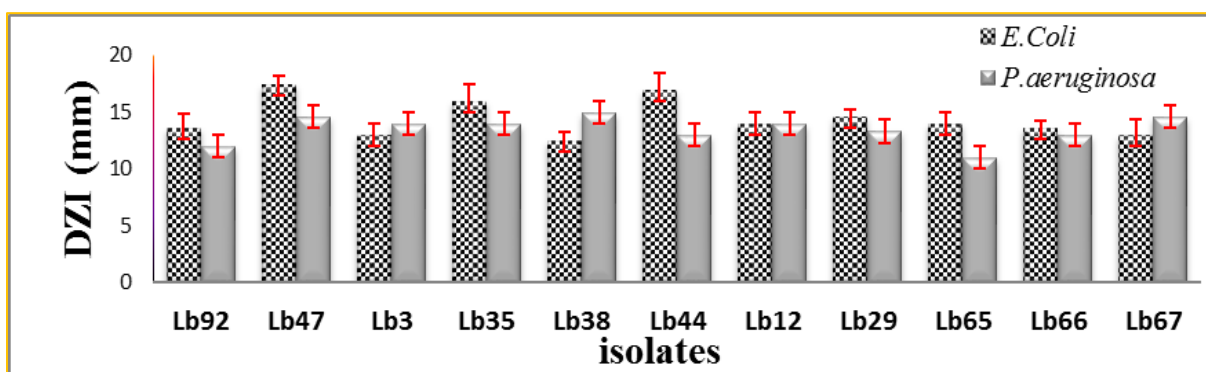
### IV.4.2.3. Pouvoir antibactérien des lactobacilles isolées à partir des miels

#### IV.4.2.3.1. Pouvoir antibactérien de la culture bactérienne

L'activité antimicrobienne, *in vitro* de 11 *lactobacilles* isolés à partir de quatre miels algériens, contre des souches à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) a été testée et comparée. Pour cela, nous avons utilisé la méthode des touches sur milieu gélosé et les résultats exprimés en taille (mm) de la zone d'inhibition autour des touches sont présentés dans la [figure 107](#) et le [tableau 18](#).

**Tableau 18** : Les diamètres des zones d'inhibitions des souches pathogènes par les lactobacilles

| Isolats de <i>Lactobacillus</i> | Diamètre des zones d'inhibition (mm) |                                    |
|---------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
|                                 | <i>E. coli</i><br>ATCC 25922         | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC 27853 |
| Lb92                            | 13,67 ± 1,15                         | 12 ± 1,73                          |
| Lb47                            | 17,5 ± 0,71                          | 14,67 ± 1,71                       |
| Lb3                             | 13 ± 1                               | 14 ± 1,71                          |
| Lb35                            | 16 ± 1,41                            | 14 ± 1,41                          |
| Lb38                            | 12,5 ± 0,71                          | 15 ± 0,82                          |
| Lb44                            | 17 ± 1,41                            | 13 ± 1,41                          |
| Lb12                            | 14 ± 1                               | 14 ± 1,41                          |
| Lb29                            | 14,67 ± 0,58                         | 13,33 ± 1,53                       |
| Lb65                            | 14 ± 1                               | 11 ± 1,41                          |
| Lb66                            | 13,67 ± 0,58                         | 13 ± 1,73                          |
| Lb67                            | 13 ± 1,41                            | 14,67 ± 0,58                       |



**Figure 107**: Activité antibactérienne des cultures bactériennes de lactobacillus vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des spots. DZI: diamètre de la zone d'inhibition.

Les données obtenues ont montré que tous les lactobacilles présentent un effet antimicrobien vis-à-vis des souches indicatrices *E.coli* et *P.aeruginosa* avec des diamètres de zones d'inhibition variant respectivement de  $12,5 \pm 0,71$  mm pour Lb38 isolé de l'échantillon



E<sub>45</sub> à  $17,5 \pm 0,71$  pour lb47 isolé de l'échantillon E<sub>16</sub> et de  $11 \pm 1,41$  mm pour la lb65 à  $15 \pm 0,82$  mm pour lb38 isolés tous les deux de l'échantillon E<sub>45</sub>.

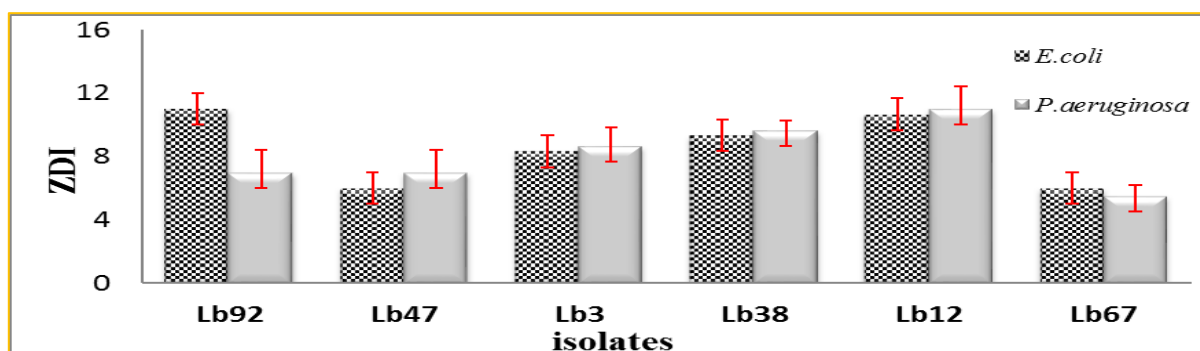
#### IV.4.2.3.2. Pouvoir antibactérien des surnageants natifs

En outre, les surnageants des cultures bactériennes des isolats de lactobacilles sélectionnés ont été testés contre des bactéries à Gram négatif en utilisant la méthode de diffusion en puits et les résultats ont été résumés dans le [tab.19, fig. 108](#). Il a été observé par nos résultats que les surnageants de six lactobacilles sur les onze testés présentent une activité inhibitrice. L'activité antibactérienne la plus élevée a été obtenue avec le surnageant de Lb92 ( $11 \pm 1,41$  mm) et de lb12 ( $11 \pm 1,15$  mm) contre *E. coli*. Le surnageant de lb12 montre une plus grande inhibition contre *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de  $11 \pm 1,4$  mm.

**Tableau 19 :** Les diamètres des zones d'inhibition des surnageants de culture bactérienne des isolats de lactobacilles vis-à-vis des souches pathogènes

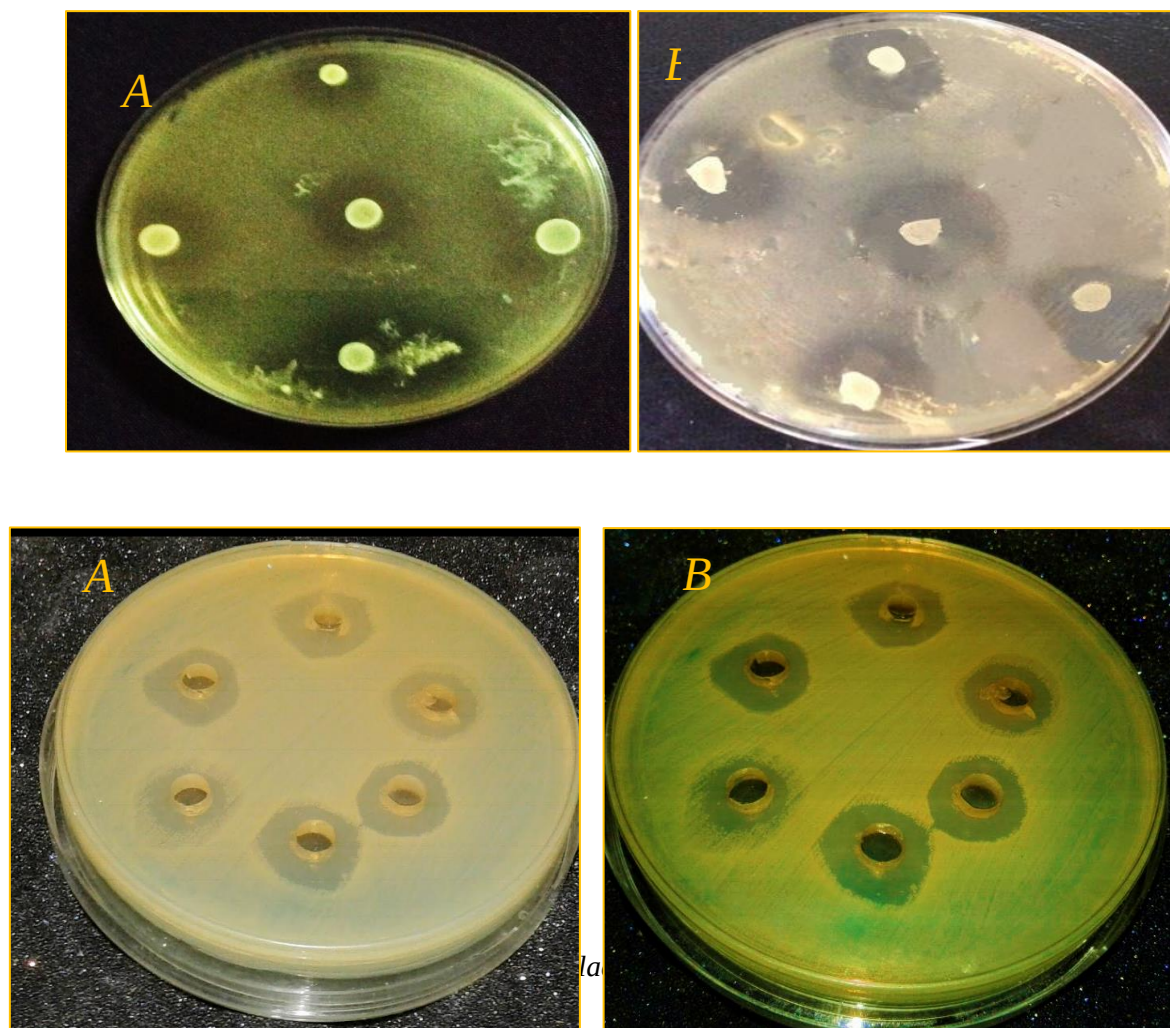
| Surnageants | Diamètre des zones inhibition (mm) |                                    |
|-------------|------------------------------------|------------------------------------|
|             | <i>E. coli</i><br>ATCC 25922       | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC 27853 |
| Lb92        | $11 \pm 1,41$                      | $7 \pm 1,41$                       |
| Lb47        | $6 \pm 1,73$                       | $7 \pm 1,41$                       |
| Lb3         | $8,33 \pm 0,58$                    | $08,67 \pm 1,15$                   |
| Lb38        | $9,33 \pm 1,15$                    | $09,67 \pm 0,58$                   |
| lb44        | -                                  | -                                  |
| Lb12        | $10,67 \pm 1,15$                   | $11 \pm 1,41$                      |
| Lb29        | -                                  | -                                  |
| Lb65        | -                                  | -                                  |
| Lb66        | -                                  | -                                  |
| Lb67        | $06 \pm 1,41$                      | $5,5 \pm 0,71$                     |

(-) : pas d'inhibition



**Figure 108 :** Résultats de l'activité antibactérienne des surnageants de culture bactériens des isolats de lactobacille vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des puits.





**Figure 109 :** Effet des surnageants de cultures de *Lactobacilles* sur la croissance des bactéries à Gram négatif. A : *E. coli*, B : *P. aeruginosa*.

*P. aeruginosa* et *E. coli* font partie de la catégorie des agents pathogènes contractés dans la communauté et à l'hôpital et font partie des principales bactéries multirésistantes particulièrement dans l'infection des plaies chroniques (Matta et al., 2018). La capacité de ces pathogènes à résister aux traitements d'antibiotiques et à entretenir les infections chroniques par la production de biofilm constitue une menace pour le secteur de la santé et, à présent, les chercheurs sont à la recherche de nouvelles armes antimicrobiennes dans les produits naturels et de niches écologiques inexplorées pour des outils alternatifs de lutte contre les infections.

Le miel est une substance naturelle, non toxique et un excellent antimicrobien. C'est le produit d'abeille le plus connu et représente la seule source de nourriture humaine créée entièrement par un insecte. Les modes d'action du miel sur les microorganismes pathogènes ont été documentés dans de nombreuses recherches (Vasquez et al., 2012 ; Mathialagan et al.,





**2018). Cependant, le rôle possible de *Lactobacillus* dans l'activité antibactérienne du miel a suscité peu d'attention.**

Afin de déterminer les bactéries lactiques ayant un effet inhibiteur sur la croissance des souches à Gram négatif, 11 souches de lactobacilles isolées de miels frais au cours de notre travail, ont été testées contre des souches d'*E. coli* et *P. aeruginosa*. D'après nos résultats toutes les cultures bactériennes de lactobacilles sélectionnés présentaient un effet inhibiteur vis-à-vis des espèces à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Le diamètre de la zone d'inhibition la plus élevée a été enregistré avec lb<sub>47</sub> isolé du miel de Mostaganem ( $17,5 \pm 0,71$  mm) et lb<sub>44</sub> isolé du miel de Souk-Ahras ( $17 \pm 1,4$  mm) contre *E. coli*. En outre l'activité la plus faible à l'égard de la souche *E. coli* a été enregistrée chez les souches lb<sub>38</sub> ( $12,5 \pm 0,71$  mm), et pour *S. aureus* c'est la lb<sub>65</sub> ( $11 \pm 1,41$  mm). Les résultats auxquels nous sommes parvenus vont dans le même sens que ceux trouvés par [Hasali et al. \(2015\)](#) qui ont signalé l'effet inhibiteur de lactobacilles isolées du miel de méliponine de Heterotrigona contre plusieurs espèces Gram négatives. D'après les mêmes auteurs ces souches pourraient être appliquées dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. De même, les résultats trouvés par [Ołdak et al. \(2017\)](#), montrent que des souches de *Lactobacillus plantarum* isolées de fromages inhibent quelques espèces pathogènes Gram négatives telles que, *E. coli* et *Salmonella enteritidis*. [Sharma, et al. \(2017\)](#) ont constaté que les souches identifiées comme étant *Lactobacillus pentosus* et *Lactobacillus plantarum* isolées à partir de lait maternel ont inhibé *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* serovar Typhi et *Shigella*. En outre, [Piccart et al. \(2016\)](#) ont montré que l'effet synergique entre le miel et 13 bactéries lactiques (espèces de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*) isolées de ce miel ont permis d'inhiber la croissance de bactéries responsables de la mastite inflammatoire ; même ceux qui étaient résistants à d'autres antibiotiques. De plus, [Lashani et al. \(2018\)](#) ont rapporté que *Lb. plantarum* et *Lb. Paracasei* isolés à partir de miels iraniens avaient de très intéressants effets inhibiteurs contre *S. aureus*.

L'effet inhibiteur des lactobacilles peut avoir deux origines principales : la première est la production d'acides organiques (acide lactique et acétique). En effet, les lactobacilles sont connus pour une grande résistance aux pH acides (jusqu'à un pH voisin de 3,5) contrairement aux autres genres de bactéries lactiques qui sont plus sensibles ([Adams et Hall., 1988](#) ; [Wong et Chen, 1988](#) ; [Wilson et al., 2005](#) ; [Saidi et al., 2011](#)). La deuxième origine est que les lactobacilles produisent une autre substance inhibitrice (type bactériocine) active sur de nombreuses espèces ([Larsen et al., 1993](#) ; [Anderssen et al., 1998](#) ; [Avila et al., 2005](#)). La présence des zones d'inhibition en cas d'utilisation d'une culture lactique entière peut être due



au métabolisme des glucides en acide lactique qui abaisse le pH et crée un environnement défavorable au développement des bactéries pathogènes (Tabak et al., 2007), au peroxyde d'hydrogène (Barefoot et Klaenhammer, 1984) ou aux bactériocines (Klaenhammer, 1993 ; Vinod Kumar et al., 2006). De plus, l'effet inhibiteur pourrait être due à l'existence d'une compétition nutritionnelle dans le milieu de culture entre les souches tests et la souche cible ce qui expliquerait l'apparition des zones d'inhibition autour des touches de cultures (Mastromarino et al., 2002). L'acide lactique est l'un des acides organiques produits par les bactéries lactiques qui peut diffuser passivement à travers la membrane cellulaire, il acidifie le cytoplasme et inhibe l'activité enzymatique cellulaire des agents pathogènes acido-sensibles. (Boskey et al., 2001). La variation de l'effet inhibiteur entre les souches de lactobacilles contre *E. coli* et *P. aeruginosa* peut être due soit à la variation d'espèces ou à une faible homologie de leurs acides nucléiques responsables des caractères héréditaires (Sutra et al., 1998). L'activité inhibitrice a été détectée dans le milieu solide par la méthode des touches. A partir de cette observation, on peut dire que la production de l'agent inhibiteur est activée lorsque les souches productrices cibles entrent en contact.

Le surnageant de culture des lactobacilles sélectionnés ont également été testés contre des bactéries à Gram négatif en utilisant la méthode des puits. Au total six surnageants des souches lactiques isolées de miels lb<sub>92</sub> (Médéa), lb<sub>47</sub> (Mostaganem), lb<sub>3</sub> et lb<sub>67</sub> (Souk-Ahras), lb<sub>12</sub> et lb<sub>67</sub> (M'sila) ont inhibé la croissance de bactéries à Gram négatif. L'activité antibactérienne la plus grande a été obtenue avec le surnageant de Lb<sub>92</sub> (11 ± 1,41 mm) et de lb<sub>12</sub> (11 ± 1,15 mm) contre *E. coli*. Le surnageant de lb<sub>12</sub> montre une plus grande inhibition contre *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 11 ± 1,4 mm. Nos résultats sont en accord avec les études précédentes de Aween et al. (2010), qui ont démontré que les surnageants de *Lb. acidophilus* isolés de différentes sources de miel étaient efficaces contre les bactéries pathogènes à Gram négatif. Ils suggèrent le rôle possible de ces bactéries dans l'amélioration de l'activité antibactérienne du miel. De même, Khiralla et al., 2015 ont indiqué que le surnageant des souches de *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* inhibent la croissance des espèces pathogènes *P. aeruginosa* et *Bacillus cereus*. La présence de l'effet inhibiteur dans le surnageant suggère que la substance inhibitrice se trouve exclusivement dans le milieu de culture, donc c'est une substance extracellulaire. Les mêmes constatations ont été faites par d'autres auteurs qui ont trouvé que la fraction extracellulaire contient des substances responsables de cette interaction (Achemchem et Abrini, 1997 ; Labioui et al., 2005). De plus, Labioui et al. (2005) ont montré que la substance inhibitrice des souches lactiques se trouve dans le surnageant. L'activité antibactérienne des souches lactiques peut être due à la production de plusieurs agents



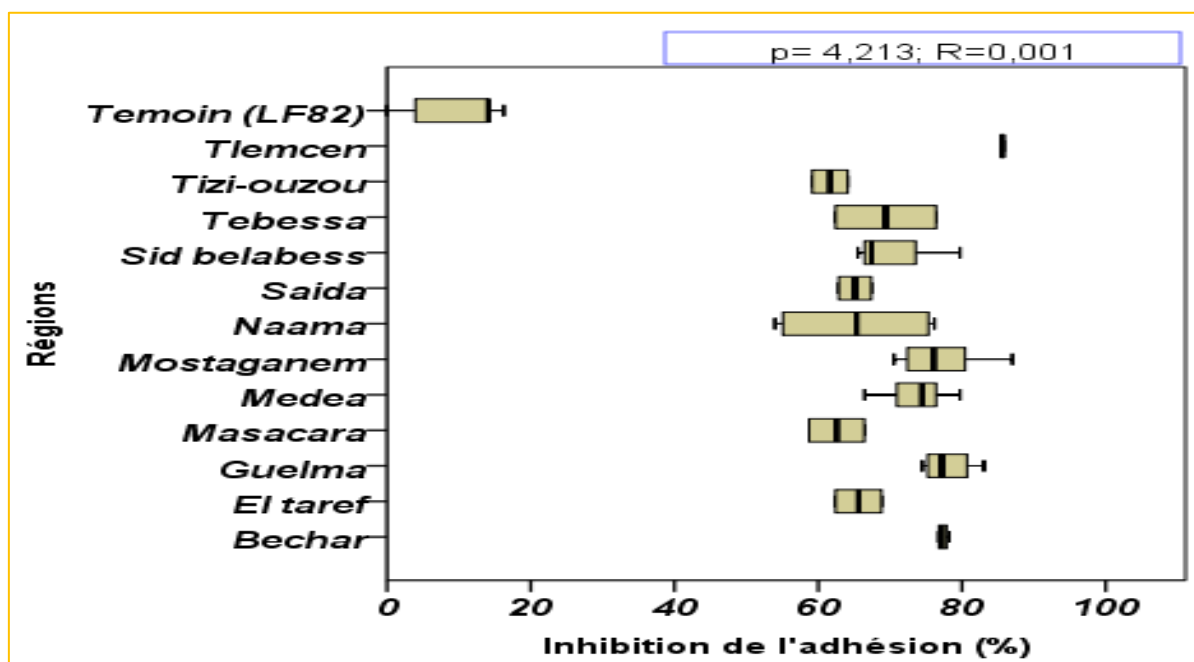
antibactériens. L'acide lactique et l'acidification du milieu inhibent plusieurs types de bactéries. Il est possible également que ces souches produisent aussi le diacétyl, qui possède aussi un pouvoir d'inhibition. L' $H_2O_2$ , libérée par les souches lactiques inhibe les bactéries qui ne possèdent pas des défenses contre le stress oxydatif tel que la catalase, par exemple (Ouwehand et Vesterlund, 2004). D'autres agents antimicrobiens peuvent être sécrétés par les bactéries tels que l'éthanol, l'acétaldéhyde, l'acétoïne, la reutéline, la reutericycline et le dioxyde de carbone (Rodgers, 2001 ; Adeniyi et al., 2015 ; Abubakr, 2018). Selon plusieurs auteurs, cet effet antibactérien des bactéries lactiques serait dû à l'effet combiné des substances antibactériennes produites par les bactéries lactiques (Atanassova et al., 2003 ; Lozo et al., 2007). L'absence d'activité antibactérienne ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires. **Les variations des zones d'inhibition** sont dues au fait qu'une souche de *Lactobacillus* peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture.

L'émergence de bactéries de plus en plus résistantes aux antibiotiques a amené les chercheurs à essayer de trouver de nouvelles stratégies pour les combattre. Le miel décrits dans cette étude a montré des effets inhibiteurs importants. Ce produit, naturel et non toxique pourrait être utilisé comme agent antibactérien, en particulier contre les bactéries développant une résistance à de nombreux antibiotiques. Par ailleurs, la présence de lactobacilles dans le miel ayant un effet inhibiteur suppose que le miel pourrait également être utilisé comme une source de micro-organisme probiotique. De plus, une association miel et bactéries lactiques pourrait améliorer encore plus l'effet inhibiteur des miels. Le fait que l'activité antibactérienne soit due au surnageant renforce l'hypothèse selon laquelle, l'effet inhibiteur des miels serait en partie due à des substances antibactériennes produites par ces bactéries lactiques.



#### IV.4.3. Etude de l'effet Anti-Adhésion des miels Algériens

Les résultats obtenus de l'évaluation *in vitro* de la capacité des miels algériens à inhiber l'adhésion de la souches AIEC LF82 aux cellules épithéliales intestinale T84 sont indiqués dans la figure 110.



**Figure 110** : Résultats de l'activité anti-adhésive des miels algériens en fonction de leurs régions de récoltes

La maladie de Crohn fait partie d'une classe de pathologies appelées MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin qui désignent des affections caractérisées par des lésions inflammatoires chroniques au niveau du tractus digestif (Lapaquette et al., 2012).

La MC est caractérisée par un état d'hyperactivation du système immunitaire de l'intestin, évoluant par poussées entrecoupées de périodes de rémission clinique de durées variables (Miquel, 2010). Bien que tous les segments du tractus gastro-intestinal, de la bouche jusqu'à l'anus, puissent être affectés, les sièges préférentiels des lésions caractéristiques de la MC sont l'iléon terminal, le côlon et l'anus (Khiani, 2014). Cette pathologie touche avec prédilection l'adulte jeune, présentant un pic d'incidence entre 15 et 30 ans. Elle se caractérise par des douleurs abdominales, de la diarrhée, de la fièvre et une dénutrition. Des manifestations inflammatoires extra-digestives peuvent être également observées au niveau cutané, articulaire ou oculaire (Karlinger et al., 2000). La MC a un fort retentissement sur la vie personnelle et professionnelle des malades en raison de la fréquence des poussées, des complications et du recours parfois impératif à la chirurgie.



L'incidence et la prévalence de la MC sont en constante augmentation dans le monde. Elle affecte de façon prédominante, les sujets de race blanche, essentiellement, dans les pays les plus riches au monde ou industrialisés, à savoir l'Europe et les Etats Unis (Daoui, 2016). L'incidence annuelle de la MC est estimée en Europe entre 0,3 et 12,7 cas pour 100 000 habitants et la prévalence est de 0,6 à 322 cas pour 100 000 habitants (Molodecky et al., 2012). Les pays émergents d'Amérique latine commencent à voir augmenter leurs valeurs épidémiologiques, du fait de leur industrialisation. L'Afrique, par ailleurs, est considérée comme un continent de faible incidence (Daoui, 2016). En Algérie, l'épidémiologie de cette maladie est mal connue, mais une étude a été réalisée entre 2003 et 2007 et a révélé une incidence de 5,87/100 000 habitants et une prévalence de 19,02/100 000 habitants (Hammada et al., 2011). Globalement, la répartition mondiale homme/femme semble équilibrée (Cosnes et al., 2011).

A ce jour, il n'existe pas de traitement médical spécifique et susceptible de guérir définitivement la MC, mais seulement des traitements suspensifs ayant pour but de contrôler les poussées et de limiter les récidives. Ses conséquences invalidantes, sa nature chronique et récidivante, et l'absence de traitement étiologique spécifique font de la MC un des problèmes majeurs de l'hépto-gastro-entérologie de nos jours.

L'origine des MICI reste actuellement mal connue (Di Maria et Mosques, 2012). Cependant, des études cliniques et épidémiologiques ont permis d'impliquer des facteurs environnementaux, génétiques et infectieux dans la survenue de cette maladie (Chassaing et Darfeuille-Michaud., 2011). En ce qui concerne les facteurs infectieux, il a été montré que la muqueuse iléale de patients atteints de la maladie de Crohn est anormalement colonisée par des souches pathogènes de *Escherichia coli* appartenant au pathovar AIEC pour Adherent-Invasive *E. coli* (Darfeuille-Michaud et al., 1998 ; Miquel, 2010). Ces souches adhèrent et envahissent les cellules de la muqueuse intestinale. Elles sont également capables de se multiplier fortement dans les cellules épithéliales et les macrophages de l'hôte et d'induire une sécrétion élevée de  $\text{TNF-}\alpha$ . (Miquel, 2010). La prévalence de souches AIEC au niveau iléal est de 36,4 % chez les patients atteints de MC contre seulement 6,2 % chez les sujets indemnes de pathologie inflammatoire intestinale (Darfeuille-Michaud et Boudeau, 2004). La forte colonisation de la muqueuse iléale par des bactéries AIEC est en relation avec une expression anormale de molécules CEACAM6 (carcinoembryonic antigenrelated cell adhesion molecule 6) chez les patients (Barnich et al., 2007, Carvalho et al., 2009) L'expression accrue de CEACAM6, récepteur impliqué dans l'adhésion des AIEC, serait consécutive à la stimulation des cellules épithéliales intestinales par des cytokines pro-inflammatoires mais également à l'infection par



ces bactéries qui sont ainsi capables de promouvoir leur propre colonisation et de provoquer une inflammation.

Dans cette partie de notre étude nous avons voulu évaluer la capacité des miels à empêcher la fixation de la souche de référence AIEC LF<sub>82</sub> (impliquée dans la maladie de Crohn) rendu bioluminescente grâce à l'insertion dans le chromosome de l'opéron *lux* codant la luciférase et son substrat la luciférine, sur les cellules épithéliales intestinales T84. La souche de *E. coli* LF82 isolée au niveau d'une lésion iléale chronique chez un patient atteint de MC a plus particulièrement été étudiée au laboratoire de Pathogénie Bactérienne Intestinale. Cette souche est capable d'envahir *in vitro* les cellules épithéliales intestinales des lignées Intestine-407, Caco-2 et HCT-8, T-84 ainsi que les cellules épithéliales de larynx HEp-2 et ceci avec un niveau d'internalisation comparable à celui des *E. coli* entéro-invasifs (EIEC), pathovar de référence des bactéries *E. coli* pour le phénotype invasif (Boudeau et al., 1999). Les résultats du test d'adhésion en conditions *in vitro* réalisé dans notre étude exprimés en pourcentage de taux d'inhibition de l'adhésion de la LF82-luc aux cellules T84 ont démontré, que l'ajout d'une solution de miel dilué à 1% réduit l'adhésion des bactéries sur les cellules épithéliales avec des pourcentage d'inhibition allant de  $53,99 \pm 32,7 \%$  (E<sub>31</sub>) à  $87,00 \pm 12,09 \%$  (E<sub>20</sub>), soit une moyenne de  $73,1 \pm 8,16\%$ . L'analyse statistique a révélé une variation significative entre les miels de différentes origines géographiques ( $p=0,001$ ), ceux provenant de la région de Tlemcen se sont avérés les plus efficaces contre l'adhésion de la LF<sub>82</sub> aux cellules intestinales ( $85,63 \pm 0,22\%$ ) suivi respectivement des miels provenant des régions de Guelma ( $77,98 \pm 3,73\%$ ), Bechar ( $77,33 \pm 0,69\%$ ), Mostaganem ( $77,98 \pm 5,67\%$ ), Médéa ( $73,58 \pm 5,1\%$ ), Sidi-Bel-Abbès ( $70,88 \pm 7,70\%$ ), El-Taref ( $65,61 \pm 4,53$ ), Naama ( $65,21 \pm 11,74$ ) et Saida ( $65,11 \pm 3,19\%$ ). Les miels provenant des régions de Mascara et Tizi-Ouzou sont les moins efficaces avec respectivement des pourcentages de  $62,58 \pm 5,44\%$  et  $61,62 \pm 3,49\%$ .

La fixation de bactéries aux cellules épithéliales de la muqueuse est considérée comme l'événement initial du développement d'infections bactériennes du tractus gastro-intestinal.

L'activité anti-adhésion du miel a été surtout documentée dans des études cliniques de plaies de brûlures chez l'homme et dans des études *in vitro* (Subrahmanyam., 1991, McInerney 1990, effem 1988). Les données actuelles de la littérature concernant l'action du miel sur les bactéries AIEC impliqué dans la maladie de Crohn sont limitées. Alnaqdy et al. (2005) ont démontré dans une étude *in vitro* que le miel empêchait la fixation de *Salmonella intertidis* aux cellules épithéliales intestinale. En outre, une autre étude a démontré qu'une concentration de 10% de miel de Manuka pouvait inhiber la formation d'un biofilm de bactéries buccales telles





que *Streptococcus mutans*, suggérant que le miel pourrait réduire les agents pathogènes buccaux contenus dans la plaque dentaire (Badet et Quero, 2011). Une autre étude *in vitro* a montré que le miel était également capable de réduire la colonisation de *E. coli* O157:H7 sur les cellules épithéliales humaines HT-29 (Lee et al., 2011). Cette faculté du miel à inhiber l'adhérence bactérienne a été montrée dans plusieurs autres études *in vivo* menées par English et al., 2004, Nayak et al. 2010, Jain A et al., 2015.

On signale par ailleurs que, dans le but d'écarter l'hypothèse de l'implication de l'effet bactéricide des miels sur les cellules intestinales plutôt que sur la souche de référence AIEC LF82, nous avons utilisé un miel dilué à 1%. En effet, après avoir testé le pouvoir antibactérien des miels vis-à-vis de la LF82 à des concentrations de 10%, 1% et 0,1% par la méthode de dilution sur milieux liquides nous avons trouvé que la LF82 pousse après 24 heures d'incubation, en présence de miel dilué à 1%. Nos résultats confirment donc, que l'effet anti-inflammatoire du miel induit par son pouvoir antiadhérent n'est pas une résultante secondaire de l'action antibactérienne (qui élimine l'inflammation générée par les bactéries), mais bien un effet anti-inflammatoire direct du miel. L'observation de la croissance a été réalisée à l'œil nu par l'apparition d'un trouble dans le bouillon.

Il existe plusieurs explications possibles pour la prévention de l'adhérence bactérienne démontrée par le miel. Une inhibition mécanique non spécifique, peut-être par le biais de l'enrobage de la bactérie par le miel. Par ailleurs, certaines des fractions, dans le miel, peuvent altérer la charge électrostatique bactérienne ou l'hydrophobie, facteurs qui auraient été importants dans l'interaction des bactéries avec les cellules hôtes (Sakai, 1987, Eteraf-Oskouei et Najafi, 2013). **Les sucres, composants du miel, peuvent constituer une barrière mécanique empêchant l'adhérence des bactéries à la surface.** L'étude de conte et al. (2014) a montré que le D-mannose inhibe l'adhésion de la LF82 aux cellules intestinales Caco-2. Après avoir extrait les oligosaccharides de miels de manuka, Lan et al., 2019 ont évalué l'adhésion de souches pathogènes à la lignée cellulaire de l'adénocarcinome du côlon humain, HT-29 en présence et en l'absence de ces sucres. Les résultats ont montré que ces oligosaccharides ont réduit de manière significative l'adhésion des *Escherichia coli* O157:H7 (de 40%), *Staphylococcus aureus* (de 30%) et *Pseudomonas aeruginosa* (de 52%) aux cellules HT-29. Ils ont par la suite prouvé que cette activité était dépendante de la concentration et indépendante de la destruction bactérienne. En Outre, le miel permet de combattre l'infection en stimulant le système immunitaire. (Rozaini et al., 2004). Il a été rapporté que le miel stimule la multiplication des lymphocytes T et des lymphocytes B en culture, il active aussi les



polynucléaires neutrophiles (Tonks et al., 2003). Il a également été rapporté que la stimulation des monocytes en culture libère les cytokines TNF- $\alpha$ , interleukine IL-1et IL-6 impliquées comme messagers cellulaires activant la réponse immunitaire face à l'infection (Jones et al. 2000). L'action anti-adhérente des miels peut, par ailleurs, être associée aux antioxydants qu'ils renferment notamment les composés phénoliques et les antioxydants et plus particulièrement la chrysin ou 5,7-dihydroxyflavone. (Henriques et al., 2006). Une étude publiée en 2011 a démontré que la Chrysin présente un effet bénéfique sur la protection des kératinocytes, contre les lésions causées par les UVA et UVB. Elle peut également atténuer l'apoptose, les radicaux libres et la cyclooxygénase-2 induites par les UVA et UVB (Wu et al., 2011). En plus d'éliminer les 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 (Boulaaba, 2019). D'après Le Bihan, 2016 le miel exercerait une action protectrice sur la paroi de l'estomac en diminuant le taux d'acidité.

Les propriétés d'adhésion et d'invasion des souches d'*E. coli* isolées de patients atteints de la MC sont en corrélation directe avec leur capacité à former un biofilm sur une surface abiotique (Martinez-Medina et al., 2009). Plusieurs études ont montré que le miel de Manuka perturbe les agrégats cellulaires (Maddocks et al., 2013; Roberts et al., 2012, Carter et al., 2016) et empêche la formation de biofilms par un large éventail d'agents pathogènes problématiques, notamment les espèces de *Streptococcus* et *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* et pneumopathie de *Klebsiella* (Maddocks et al., 2012, 2013 ; Lu et al., 2014; Majtan et al., 2014; Halstead et al., 2016).

La capacité de ces miels à empêcher les souches AIEC LF82 d'adhérer aux cellules épithéliales induit une diminution de l'inflammation. La réduction de l'inflammation a été démontrée chez le rat après ingestion de miel dans le cadre de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Balas, 2015). Il a été observé cliniquement que lors de l'application du miel sur les plaies, il se produit une diminution visible de l'inflammation avec réduction de l'œdème et des exsudats (Balas, 2015).

Les résultats obtenus au cours de cette étude nécessitent d'être plus approfondis. En effet d'autres tests tel que la cytotoxicité doivent être réalisés afin de s'assurer que le miel n'a aucun effet indésirable sur les cellules. Par ailleurs des tests *in vivo* sur des rats seraient également nécessaires.

---

# Conclusion

---





## Conclusion

Le miel est de plus en plus étudié pour ces effets nutritifs et thérapeutiques dans le monde. La présente étude a permis de donner des informations pertinentes sur les caractéristiques botaniques, physico-chimiques, biologiques et microbiologiques des miels algériens. Dans le premier volet est exposé l'analyse méliissopalynologique des miels étudiés. L'analyse pollinique qualitative a permis d'inventorier 53 familles botaniques appartenant à cent sept (107) types polliniques dont 16 représentent des espèces considérées comme pollinifères et 91 nectarifères parmi l'ensemble des échantillons analysés. Les familles *leguminosae* et *compositae* sont les plus représentées avec treize espèces pour chacune (12%). Elles sont suivies par les *Apiaceae*, les *Laminaceae*, les *Rosaceae*, les *Brassicaceae* et les *Boraginaceae*. Sur les 63 échantillons étudiés, 40 ont été caractérisés comme miels monofloraux, 20 polyfloraux et 3 miels de miellat. Les miels monofloraux sont répartis en 17 origines botaniques différentes : les miels ; *d'eucalyptus* (n = 08), d'agrumes (*Citrus*, n = 05), de fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare*, n = 04), de jujubier ou sedra (*Zizyphus lotus*, n = 04), de grenadiers (*Punica granatum*, n = 03), de colza (*Brassica napus t*, n = 03), de bruyère (*Erica arborea*), de câprier (*capparis*), *Apiaceae* (n = 02), de chardon (*Centaurea*), *de Genista*, de tamarix (*tamarix*), de coriandre (*Coriandrum sativum t*), de Sulla ou sainfoin d'Italie (*Hedysarum coronarium*, E<sub>56</sub>), de romarin (*Rosmarinus officinalis*, E<sub>57</sub>), de néflier (*Eriobotrya japonica*, E<sub>62</sub>) et de mélilot (*Melilotus*, E<sub>61</sub>). L'analyse pollinique quantitative a révélé une densité moyenne en grains de pollen de  $1,93 \times 10^5$  grains /10 g de miel. Vingt-Cinq pourcent (25%) seulement sont des miels pauvres en pollen, 48% sont moyennement riches en pollen, 19% sont riches en pollen, 5% sont très riches et enfin 3% de miels extrêmement riches en pollen. Globalement la méliissopalynologie a permis de révéler la richesse de l'Algérie en termes de ressources mellifères et un grand potentiel concernant la production de différentes variétés de miels, tout au long de l'année, selon les zones ou région de récoltes.

Dans le deuxième volet du travail, est évaluée la qualité des miels par rapport aux normes établies à l'échelle internationale. Ils sont caractérisés sur le plan physico-chimique par des paramètres usuels. Excepté quelques échantillons, tous les miels sont conformes aux normes établies à l'échelle internationale. La valeur moyenne du taux de HMF et l'indice diastasique sont respectivement de  $17,6 \pm 16,4$  mg/Kg et  $20,92 \pm 12,33$  Unité de Schade, ce qui confirme que les miels considérés n'ont subi aucun traitement thermique et ont été conservés dans des conditions adéquates. Soixante-sept pour cent (67%) des échantillons présentent une teneur en



eau inférieure à 18% indiquant leur très bonne qualité. La valeur moyenne du pH et de la conductivité est égale à  $3,98 \pm 0,20$  et  $0,517 \pm 0,206$  mS/cm respectivement pour les miels issus du nectar. Celle des miels issus du miellat équivaut à  $4,59 \pm 0,06$  pour le pH et  $1,148 \pm 0,3$  mS/cm pour l'indice diastasique. Ces analyses ont pour objectif de différencier les miels de miellat de ceux du nectar. Ces indications confirment leurs origines indiquées par l'analyse pollinique. Le dosage des sucres a révélé la présence du glucose, du fructose, du maltose et du turanose dans tous les miels avec respectivement des valeurs moyennes de  $29,69 \pm 2,19\%$ ,  $39,29 \pm 2,87\%$ ,  $2,05 \pm 0,63\%$  et  $1,89 \pm 0,45\%$ . Le mannose, le gentiobiose et le mélézitose sont absents dans tous les miels analysés. La teneur en sucres réducteurs varie de 52,8 à 75,6 avec une moyenne de 69,16% pour les miels de nectar et de 61,2% à 66,8% avec une moyenne de  $64\% \pm 3,95$  pour les miels de miellat. Les résultats confirment que ces deux sucres sont les constituants majeurs du miel. Toutes les valeurs obtenues sont en accord avec les normes établies par le *codex alimentarius* qui préconise une valeur seuil fixée à une valeur supérieure à 60% pour le miel de nectar et à plus de 45 g/100 g pour les miels de miellat, excepté pour l'échantillon (E<sub>38</sub>) qui enregistre une faible concentration en sucres réducteurs (52,8%). Le saccharose n'a été détecté que dans 20 miels avec des valeurs allant de 0.5 à 3.3%. Ces résultats sont en accord avec les recommandations du *codex Alimentarius* qui fixe une limite maximale de 5% et prouvent qu'il n'y a pas eu d'adultération. La concentration en raffinose dans les miels analysés varie de 0 à 3,3%. Le maltotriose est détecté dans un seul échantillon avec un pourcentage de 1,6%.

La teneur en eau ainsi que la concentration en fructose des miels étudiés diffèrent significativement selon leurs zones de production. Les miels produits dans les zones humides étaient les plus élevés en eau et les plus faibles en fructose. Ceux produits dans les zones arides et les zones steppiques des régions semi-arides étaient les plus secs. Les paramètres du taux d'humidité, du pH, de la conductivité et de la couleur montrent également des variations significatives selon le facteur de l'origine florale. Les miels de *erica arborea* (Bruyère) sont les plus humides, les moins riches en turanose, avec les plus fortes conductivités et présentent les couleurs les plus foncées. Les miels de *Capparis* et de *Citrus* (Agrumes) sont les plus acides avec les plus faibles conductivités et présentent les couleurs les plus claires. Les miels de *P. granatum* (grenadier) sont les plus secs et les plus riches en maltose. Les miels de *Zyziphus lotus* (jujubier) présentent le pH le plus élevé et la concentration en turanose la plus élevée. Une différence significative est observée dans la couleur des miels polyfloraux entre les différentes



régions, ceux produits dans les régions de Tizi-ouzou et de Tlemcen ont des couleurs foncées tandis que ceux de Guelma, Médéa et Mostaganem ont des couleurs ambrées claires.

Le troisième volet traite de l'isolement et l'identification des lactobacilles à partir de miels frais. L'identification est réalisée par l'utilisation de deux approches : la première est une approche protéomique basée sur la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) et la deuxième est une approche génotypique basée sur l'identification moléculaire par la méthode de PCR et de séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. Les résultats ont révélé la présence de *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* dans le miel algérien brut. Ces lactobacilles seront de bons candidats pour des études sur les probiotiques.

Le quatrième volet concerne l'étude des différentes propriétés biologiques des miels. Dans ce cadre, leur effet antibactérien est évalué. Ainsi, tous les miels possèdent un pouvoir inhibiteur sur la croissance des bactéries, cependant les bactéries Gram+ sont plus sensibles. Selon le facteur de l'origine botanique, ce sont les miels de *F. vulgare*, et *Genista* et *Punica granatum* qui étaient les plus efficaces contre *P. aeruginosa* tandis que la souche *E. coli* était plus sensible aux miels d'*eucalyptus*. La souche *S. aureus* était plus sensible aux miels d'*eucalyptus*. Par ailleurs, *S. aureus* était plus sensible aux miels de *Punica granatum*. *S. typhi* était plus sensible aux miels d'*Eucalyptus* et de *Genista*. La méthode des puits a montré un effet inhibiteur supérieur par rapport à la méthode des disques pour la majorité des miels.

Afin de rechercher les bactéries lactiques ayant un effet inhibiteur sur la croissance des souches à Gram négatif, des interactions ont été étudiées entre 11 souches de lactobacilles isolées de miels frais sur les souches de *E. coli* et *P. aeruginosa*. Toutes les cultures bactériennes de lactobacilles sélectionnés présentaient un effet inhibiteur vis-à-vis des espèces à Gram négatif. La zone d'inhibition la plus élevée a été enregistrée avec lb<sub>47</sub> isolé du miel de Mostaganem ( $17,5 \pm 0,71$  mm) et lb<sub>44</sub> isolé du miel de Souk-Ahras ( $17 \pm 1,4$  mm) contre *E. coli*. En outre l'activité la plus faible à l'égard de la souche *E. coli* a été enregistrée chez les souches lb<sub>38</sub> ( $12,5 \pm 0,71$  mm), et pour *S. aureus* c'est la lb<sub>65</sub> ( $11 \pm 1,41$  mm). En outre, Le surnageant des lactobacilles sélectionnés ont également été testés contre des bactéries à Gram négatif en utilisant la méthode des puits. Au total six surnageants des souches lactiques isolées de miels lb<sub>92</sub> (Médéa), lb<sub>47</sub> (Mostaganem), lb<sub>3</sub> et lb<sub>67</sub> (Souk-Ahras), lb<sub>12</sub> et lb<sub>67</sub> (M'sila) ont inhibé la croissance de bactéries à Gram négatif. L'activité antibactérienne la plus élevée a été obtenue avec le surnageant de Lb<sub>92</sub> ( $11 \pm 1,41$  mm) et de lb<sub>12</sub> ( $11 \pm 1,15$  mm) contre *E. coli*. Le surnageant de lb<sub>12</sub> montre une plus grande inhibition contre *P. aeruginosa* avec une zone





d'inhibition de  $11 \pm 1,4$  mm. Ces résultats suggèrent que l'effet antibactérien du miel serait inhérent en partie à la présence des lactobacilles.

Aussi, l'étude du pouvoir antioxydant a été réalisée. Dans ce cadre, les valeurs moyennes obtenues pour le dosage des polyphénols totaux, le dosage des flavonoïdes totaux, l'activité antioxydante et le  $IC_{50}$  étaient respectivement de  $75,19 \pm 33,78$  mg EAG/100g ;  $5,86 \pm 2,96$  mg EQ/100g ;  $33,81 \pm 15,3\%$  et  $18,78 \pm 10,46$  mg/ml. Des différences significatives entre les miels monofloraux sont constatées pour les teneurs en PT et en FT. Celles-ci sont plus élevées dans les miels de *B. napus*, d'*E. arborea* et de *F. vulgare* tandis que celles des miels de *Citrus* sont les plus basses. Les miels de *brassica napus T* ont présenté les activités antioxydantes les plus fortes suivies respectivement des miels de *E. arborea* et d'Eucalyptus. Les miels de *Citrus* ont présenté les activités les plus faibles. Les valeurs du  $IC_{50}$  sont inversement proportionnelles aux pourcentages du piégeage des radicaux libre. Les concentrations en PT et en FT des miels polyfloraux diffèrent significativement en fonction de leurs origines géographiques, ceux originaires des régions de Tlemcen et de Tizi-ouzou sont les plus riches, tandis que ceux originaires de Médéa, de Guelma et de Mostaganem sont relativement les plus pauvres. Par ailleurs, une variation significative est également observée selon la zone de collecte. Ainsi les miels produits dans les zones humides s'avèrent être les plus riches. Le pourcentage du piégeage des radicaux libres est significativement corrélé avec la teneur en composés phénoliques mais également avec la teneur en flavonoïdes, Cette observation indiquerait que les polyphénols totaux sont les principales molécules antioxydantes actives dans le miel. Le paramètre de couleur  $L^*$  montre des corrélations négatives avec les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, et de l'activité antioxydante. A l'inverse le paramètre de couleur  $a^*$  montre une corrélation positive avec ces mêmes paramètres.

L'évaluation *in vitro* du pouvoir anti-adhésion par l'ajout d'une solution de miel dilué à 1% réduit l'adhésion des bactéries LF82 sur les cellules épithéliales avec des pourcentage d'inhibition allant de  $53,99 \pm 32,7\%$  ( $E_{31}$ ) à  $87,00\% \pm 12,09\%$  ( $E_{20}$ ), soit une moyenne de  $73,1 \pm 8,16\%$ . Une variation significative est constatée entre les miels de différentes origines géographiques, ceux provenant de la région de Tlemcen sont les plus efficaces contre l'adhésion de la LF<sub>82</sub> aux cellules intestinales tandis que ceux des régions de Mascara et de Tizi-Ouzou sont les moins efficaces. Ces résultats prouvent que les miels peuvent jouer un rôle protecteur contre les infections intestinales. Le pouvoir anti-adhésion des miels suppose leur capacité à diminuer les inflammations causées par ces bactéries, dans le cas d'affections comme la maladie de Crohn. Ces résultats peuvent constituer un stimulant pour des recherches ultérieures telles



que des études *in vivo* et ouvrent des perspectives certaines quant à l'utilisation du miel frais et cru contre cette pathologie.

Notre travail pourra être complété par ce qui suit :

- Augmenter le nombre d'échantillons c'est à dire avoir plus de représentativité à l'échelle nationale ce qui nous permettra en même temps d'établir une carte mellifère.
- Un essai de labélisation des miels des différents terroirs algériens.
- L'adoption de la RMN pour confirmer les caractéristiques de nos miels
- Tester des méthodes plus performantes pour la détection des fraudes.
- Détermination de la nature des agents inhibiteurs produits par les lactobacilles isolées ainsi que ceux des miels.
- Caractériser les lactobacilles par rapport à un éventuel rôle probiotique comme la production de bactériocines.
- Déterminer l'effet synergique entre les surnageants de cultures bactériennes et les miels.
- Essayer de détecter d'autres microorganismes dans le miel présentant des propriétés bénéfiques pour l'homme.

---

# Références Bibliographiques

---



-  **Aarti, C., Khusro, A., Arasu, M. V., Agastian, P., and Al-Dhabi, N. A. 2016.** Biological potency and characterization of antibacterial substances produced by *Lactobacillus pentosus* isolated from Hentak, a fermented fish product of North-East India. *SpringerPlus* 5 :1743. doi: 10.1186/s40064-016-3452-2 –57
-  **Abee, T., 1995.** Pore-forming bacteriocins of Gram+ bacteria and self-protection mechanisms of producerorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 129 : 1-9.
-  **Abubakr, M.A. S., 2018.** Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Human Breast Milk Against Human Pathogenic Strains. *International Journal of Clinical and Developmental Anatomy.* 4 (1): 27-31.
-  **Achemchem, F., et Abrini J. 1997.** Production de bactériocines par des bactéries lactiques à partir du jben de chèvre du Nord du Maroc. *Journal of Applied Microbiology.* 70 : 660-669.
-  **Achour, H., Khali, M. 2014.** Composition physico-chimique des miels algériens : Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Sci.* 10 : 127 – 136.
-  **Achouri, I., Aboussaleh, Y., Sbaibi, R., Chemissi, H., Bengueddour, R., 2015.** Comparison of the physico-chemical quality of honey *Ziziphus* sp (Sider) and *Acacia* sp (Samar) consumed in the United Arab Emirates. *International Journal of Innovation and Applied Studies*,10(1), 184.
-  **Adam, G. 2011.** Botanique apicole, production de nectar et de pollen. COURS, école d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, 11p.
-  **Adams, M.R., Hall C.J. 1988.** Growth inhibition of food borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. Technol.* 23 : 287-292.
-  Adeniyi, B.A., Adetoye, A., Ayeni, F.A. 2015. Antibacterial activities of lactic acid bacteria isolated from cow faeces against potential enteric pathogens. *Afri Health Sci.*, 15 (3) : 888-895.
-  **Adgaba, N., Al-Ghamdi, A., Tadesse, Y., Getachew, A., Awad, A.M., Ansari, M. J., Owayss, A.A., Mohammed, S.A., Alqarni, A.S., 2017.** Nectar secretion dynamics and honey production potentials of some major honey plants in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 24 : 180-191.
-  **Adjlane, N., Haddad, N., Ameer, K.L., Kesraoui, S., Moussaoui, D. 2014.** Physicochemical and microbiological characteristics of some samples of honey produced by beekeepers in Algeria. *Acta Technol. Agric.* 17 (1) : 1–5.
-  **Agaliya, P.J., Jeevaratnam, K. 2014.** Molecular characterization of lactobacilli isolated from fermented idli batter. *Braz J Microbiol.* 44 : 1199-1206.
-  **Agwu, C.C., Obuekwe, A.I. & Iwu, H.I. 1989.** Pollen analytical and thinlayer chromatographic examination of N sukka (Nigeria). Honey. - *Pollen Spores* 33 : 29-43.
-  **Ahmed, M. 2014.** Caractérisation, Propriétés Physico-chimiques, Qualités Microbiologiques et Valeur Thérapeutique de Quelques Miels de l'ouest Algérien. Thèse de Doctorat de Laboratoire de pharmacognosie et Api-phytothérapie. Université ABDELHAMID IBN BADIS - Mostaganem p 2-99.
-  **Ahmed, M., Djebli, N., Hammoudi, S.M., Mesmem, A., Aissat, S., 2012.** Antibactériel activity of various honey types of Algeria against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 5 : 773–776.

-  **Ahmed, M., Sahile, S., Subramanian, C., 2014.** Evaluation of Antibacterial Potential of Honey Against Some Common Human Pathogens in North Gondar Zone of Ethiopia. *International Journal of Pure and Applied Zoology*. 2 (4) : 286–295.
-  **Ahn, J.H., Hong, I.P., Bok, J.I., Kim, B.Y., Song, J., Weon, H.Y. 2012.** Pyrosequencing analysis of the bacterial communities in the guts of honeybees *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Korea. *J. Microbiol.* 50 :735–745.
-  **Ait Abderrahim L., Boukraa L. 2015.** L'importance de l'origine botanique pour les produits Api en tant qu'antibiotiques. *Agents anti-infectieux*. 13 (1) : 28-35.
-  **Alandejan, T., Marsan, J., Ferris, W., Slinger, R., Chan, F. 2009.** Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 141 (1) : 114–118.
-  **Al-Dabbas, M.M., Ootom, H.A, Al-Antary, T.M. 2019.** Impact of honey color from jordanian flora on total phenolic and flavonoids contents and antioxidant activity. *Fresenius Environmental Bulletin*. 28 (9) : 6898-6907.
-  **Aldcorn, D.L; Wandler, E, Sporns P., 1985.** Diastase (a and  $\beta$ -amylase) and a-glucosidase(sucrase) activity in western Canadian honeys. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 18(3) : 268-270.
-  **Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., Al-Belushi, S. 2018.** Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon* 4 : e00874. doi :10.1016/j.heliyon.2018.e00874
-  **Al-Ghamdi, A., Seif Eldin, A.M., Mohammad, J.A, Nuru, A. 2019.** Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored *Apis mellifera* and *Apis florea* honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 : 845-884.
-  **Al-Haj Nagui, A., Mashan Nurmas, I., Samshumin Mariana, N., Mohamad, H., Vairappan Charles, S., Sekawi, Z., 2009.** Antibacterial Activity Marine algae *Eucheumadentuculatum* Against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Research Journal of Biological Sciences*. 4 (4) : 519-524.
-  **Al-Mamary, M., Al-Meer, A., Al-Habori, M., 2002.** Antioxydant activities and total phenolicsofdifferent types of honey. *Nutrition Research*. 22 : 1041-1047.
-  **Almasaudi, Sb., Al-Nahari, Aam., El-Ghany, Esma., Barbour, E., Al-Muhayawi, Sm, Al-Jaouni, S., Azhar, E., Qari, M., Qari, Y.A., Harakeh, S., 2017.**Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi J Biol Sci.*, 24(6) :1255-1261.
-  **Almasi, R., Sekarappa, B. 2019,** Analyse du miel unifloral et multifloral pour les propriétés physico-chimiques dans le Karnataka méridional, en Inde. *Int J récente Sci Res*. 10 (05) : 32469-32473.
-  **Alnaqdy, A., Al-Jabri, A., Mahrooqi, Z.A., Nzeako, B., Nsanze, H. 2005.** Inhibition effect of honey on the adherence of Salmonella to intestinal epithelial cells in vitro. *International Journal of Food Microbiology*. 103 (3) : 347–351.
-  **Alvarez, L.M. 2010.** Honey Proteins and their Interaction withPolyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, P 93.
-  **Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Bertoli, E., Battino, M. 2010.** Contribution of honey in nutrition and human health : a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 3 : 15-23.
-  **Al-Waili, N., Al Ghamdi, A., Ansari, M.J., Al-Attal, Y., Al-Mubarak, A., Salom, k. 2013.** Differences in composition of honeys amples and their impact on the antimicrobial activities against drugmulti-resistant bacteria and pathogenic fungi. *Arch. Med. Res*. 44 (4) : 307-316.
-  **Al-Waili, N.S., Boni, N.S. 2003.** Natural honey lowers plasma prostaglandin concentrations in normal individuals. *J Med Food*. 6 :129– 133.



-  **Al-Waili, Ns., Haq, A., 2004.** Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. *J Med Food*. 7(4) :491-4.
-  **Amir, Y., Yesli, A., Bengana, M., Sadoudi, R., Amrouche, T. 2010.** Physico-chemical and microbiological assessment of honey from Algeria. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem*. 9 (9) : 1485-1494
-  **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.
-  **Anand, J., Sun, Y., Zhao Y., Nitiss, K.C., Nitiss J.L. 2018.** Detection of Topoisomerase Covalent Complexes in Eukaryotic Cells. *Methods Mol Bio*. 1703 :283-299
-  **Anderssen, E.L., Diep, D.B., Nes, I.F., Eijsink, V., Nissen-Meyer J. 1998.** Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11 : two new two-peptide bacteriocins, plantaricins EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl. Environ. Microbiol*. 64 : 2269-2272
-  **Angelakis, E., Million, M., Henry, M., Raoult, D. 2011.** Rapid and accurate bacterial identification in probiotics and yoghurts by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Food Sci*. 76 : 568–572.
-  **Angmo, K., Kumari, A., SavitriBhalla, T.C. 2016.** Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT—Food Sci Technol*. 66 :428–435
-  **Antony, S.M., Han, I.Y., Rieck, J.R., Dawson, P.L. 2000.** Antioxidative effect of Maillard reaction products formed from at different reaction times. *J. Agr. Food Chem*. 8 : 3985-3989.
-  **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.
-  **Apimondia. 2001.** La médecine par les abeilles : traité d'apithérapie [CD-ROM]. Apimondia Standing Commission of Apitherapy, 2001.
-  **Aronnen, G., De-Micco, D.M., 2010.** Traditional melissopalynology integrated by multivariate analysis and sampling methods to improve botanical and geographical characterisation of honeys. *Plant Biosystems*. 144(4) : 833-840.
-  **Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P. 1994.** Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. Pharm. Belg*. 49 : 462-468.
-  **Assie, B., 2004.** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice en médecine «Qualification Médecine Générale ». Université Paul Sabatier de Toulouse, 115 p.
-  **Atanassova, M., Choiset, Y., Dalgalarondo, M., Chobert, J. M., Dousset, X., Ivanova I., Haertle T. 2003.** Isolation and partial biochemical characterization of a proteinaceous anti-bacteria and anti-yeast compound produced by *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* strain M3. *International Journal of Food Microbiology*. 87 (1-2) : 63-73.
-  **Attia, W.Y., Gabry, M.S., El-Shaikh, K.A., Othman, G.A. 2008.** The Anti-Tumor Effect of Bee Honey in Ehrlich Ascite. *The Egyptian journal of immunology*. Faculty of science, Tanta university and zoology department, faculty of science, Helwan university. Egypt. 15(2) : 169-183.
-  **Augustyniak, A., Bartosz, G., Cipak, A., Duburs, G., Horáková, L., Luczaj, W., Majekova, M., Odyseos, A.D., Rackova, L., Skrzydlewska, E., Stefek, M., Strosová, M., Tirzitis, G., Venskutonis, P.R., Viskupicova, J., Vranka, P.S., Zarković, N. 2010.** Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, 44 : 1216-1262.
-  **Aurongzeb, M., Azim, K.M., 2015.** Antibacterial activity of natural honey against antibiotic-resistant bacteria. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol*. 48(1): 18-21.



-  **Avila M., Garde S., Medina M., Nunez M. 2005.** Effects of milk inoculation with bacteriocin-producing lactic acid bacteria on a *Lactobacillus helveticus* adjunct cheese culture. *J. Food Prot.* 68 : 1026-1033.
-  **Avisse, I. 2014.** Grand traité des miels, Editions Le Sureau, 344p. **Azeredo, L.D.C., Azeredo, M.A.A., De Souza, S.R., Dutra, V.M.L. 2003.** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80 : 249–254
-  **Aween, M.M., Hassan Z., Muhialdin B.J., Eljamel Y.A., Al-Mabrok A.S., 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(7): M364–M371.
-  **Aween, M.M., Zaiton, H., Belal J., 2010.** Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Honey. Proceedings of the International Symposium on Lactic Acid Bacteria, (ISLAB' 10), University Putra Malaysia. 25-27.
-  **Azonwade, E., Paraíso A., Agbangnan Dossacokou P., Dougnonvictorien T., N'tchac., Mousse W., And Baba-Moussa L. 2018.** Physicochemical Characteristics and Microbiological Quality of Honey Produced in Benin. *Journal of Food Quality*, Art ID 1896057, 13p. <https://doi.org/10.1155/2018/1896057>
-  **Badet, C., Quero, F. 2011.** The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria,” *Anaerobe.* 17(1) : 19–22.
-  **Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal M., Ouzrout, R. 2005.** Phenotypic characterization of isolated from raw goat's milk from two local goat populations "Arabia and Kabyle" lactic acid bacteria. *Sci. Technol.* 23 : 30-37.
-  **Bahiru, B., Mehari, T., Ashenafi, M. 2006.** Yeast and lactic acid flora of tej, an indigenous Ethiopian honeywine: variations within and between production units. *Food Microbiol.* 23 : 277-282.
-  **Bakchiche, B., Habati, M., Benmebarek, A., Gherib A. 2018.** Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6 (1) :118-123
-  **Balas, F. 2015.** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. *Médecine humaine et pathologie.* dumas-01293955
-  **Balasandram, N., Ai, T.Y., Sambathomurthi, R., Sundram, K., Sammam S. 2005.** Antioxidant properties of palm fruit extract. *Asia PAC J Clin Nut.* 4 (4) : 319-324.
-  **Barefoot, S.F., Klaenhammer T.R., 1983.** Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Applied Microbiol.* 45(6): 1808-1815.
-  **Barefoot, S.F., Kleanhammer, T.R. 1984.** Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, lactacin. *Antimicrobial Agents chemother.* 26 : 328-334.
-  **Barnich, N., Carvalho, F.A., Glasser, A.L., Darcha, C., Jantscheff, P., Allez, M., Peeters, H., Bommelaer, G., Desreumaux, P., Colombel, J.F., Darfeuille-Michaud, A. 2007.** CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J. Clin. Invest.* 117 :1566–1574.
-  **Beekman, M., Ratnieks, F.L.W. 2000.** Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. *Funct. Ecol.* 14, 490–496.
-  **Belaïd, M. 1998.** Etude physico-chimique et palynologique de quelque miel du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification. Thèse de Magister. INA El Harrach. 213p.
-  **Belay, A., Gulelat, D.H., Marc, B., Hannelore, B., Young-Chul L., Chang-Won C., Kyung-Tack K, Bikila, B., Kaleab, B., Samuel M. 2017.** Profil des sucres et propriétés physicochimiques du miel monofloral d'Éthiopie. *Journal international des propriétés alimentaires.* 20 (11) :2855 -2866.

-  **Belhaj, O., Oumato, J., Zrira, S. 2015.** Etude physico-chimiques de quelques types de miels marocains. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc. 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.
-  **Bendeddouche, B., Dahmani, K. 2011.** Physical properties of honeyproducts in Algeria. *Journal of Stored Products and Postharvest Research.* 2 (12) : 237- 244.
-  **Berche P., Gaillard J.L. et Simonet M., 1988.** Bactériologie : bactéries des infections humaines. Edition Flammarion Médecine-Sciences, collection de la biologie à la clinique, Paris, tirage 1991, pp. 230-238.
-  **Beretta, J., Giangiacomo, G., Ferrero, M., Orioli, M., Maffei Facino R. 2005.** Standarization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *An. Chimica 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.
-  **Berkani, M L. 2007.** Etude des paramètres de développement de l'Apiculture Algérienne. Thèse de doctorat d'état, INA El-Harrach Alger. 233p.
-  **Bessas, A. 2008.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le Sud Algérien. Mémoire d'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Université Djilali Liabes-Sidi Bel Abbès, Algérie.
-  **Bettar, S., Gonzalez-Miret L.M., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia F.G., Terrab, A. 2015.** Characterisation of maroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physico-chemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry.* <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.003>
-  **Bilsel, Y., Bugra, D., Yamaner, S., Bulut, T, Cevikbas U, Turkoglu U. 2002.** Could honey have a place in colitis therapy? Effects of honey, prednisolone, and disulfiram on inflammation, nitric oxide, and free radical formation. *Dig Surg.* 19 : 306– 311
-  **BIRI, 1981.** L'élevage moderne des abeilles manuel pratique. Edité par Editions de vecchi (1981), 321 p.
-  **Biri, M. 1986.** L'élevage moderne des abeilles, édition : Devecchi. S. a. paris. pp : 91-101.
-  **Biswal, BM., Zakaria, A., Ahmad, N.M. 2003.** Topical application of honey in the management of radiation mucositis. A preliminary study. *Support Care Cancer.* 11 : 242– 248.
-  **Blanc, M. 2010.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
-  **Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., Albertini, M. C., Piatti, E. 2006.** Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry.* 97: 217-222.
-  **Bogdanov S. 2016.** Honey as Nutrient and Functional Food. Book of Honey, Chapter 8, *Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net, April 2016.
-  **Bogdanov, S. 2002.** *Harmonised methods of the International Honey Commission: Introduction and general comments on the methods.* International Honey Commission. Switzerland. 62pp.
-  **Bogdanov, S., Bieri, K., Figar, M., Figureiredo, V., Iff, D., Kanzig A., Stockli H., Orwohl, K., Zurcher, K. 1995.** Miel : définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. Centre Suisse de Recherche Apicole ; Station de recherches laitières, Liebefeld, CH-3003 Berne.
-  **Bogdanov, S., Bieri, K., Gremaud G., Iff, D., Känzig, A., Seiler, K., Stöckli, H., Zürcher, K. 2004b.** Produits apicoles. 23A Miel. Revue par le groupe d'experts "produits apicoles". MSDA. 1– 37.
-  **Bogdanov, S., Blumer P. 2001.** Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre Suisse de recherches apicoles 8p.
-  **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., Lüllmann, C., Martin, P., Von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Persano-Oddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Pirof R., Flamini C., Morlot, M., Lhéritier, J., Borneckg, R., Marioleas, P., Tsigourih, A., Kerkvliet, J., Ortizj, A., Ivanovk, T., D'Arcy, B., Mossell, B., Vit P., 1999.** Honey quality and international regulator y standards : review by the International Honey Commission. *Bee World*. 80 (2): 61-69.
-  **Bogdanov, S., Lulmann, C., Martin P. 2001.** Qualité du miel et norme international relative au miel. Rapport de la commission international du miel. Abeille Cie N°71-4.1 2p
-  **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. 2004a.** Physicochemical methods for the caracterisation of unifloral honeys : a review. *Apidologie*. 35 : 4-17.
-  **Bonte, F., Desmouliere, A. 2013.** Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*. 52(531) : 18-21.
-  **Boquet, M., 1997.** Le miel d'Eucalyptus. Nature et composition, principales caractéristiques organoleptiques. *Bull Tech Apic*. 24 : 151-200.
-  **Boskey, E.R., Cone, R.A., Whaley, K.J., Moench T. R. 2001.** Origins of vaginal acidity : high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum. Reprod*. 16: 1809–1813
-  **Bottger, E. C. 1989.** Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatic all y amplified DNA. *FEMS Microbiol Lett* 53: 171-176.
-  **Boudeau, J., Glasser, A.L., Masseret, E., Joly, B., Darfeuille-Michaud, A. 1999.** Invasive ability of an Escherichia coli strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. *Infect Immun* 67 : 4499–4509.
-  **Bouhlali, E., Bammou, M., Sellam, K., Ramchoun, M., Benlyas, M., Alem, C., Filali-egzouti, Y., 2016.** Evaluation of antioxidants, antibacterial and antifungal activities of eleven monofloral honey samples collected from Morocco .*Chem. Pharm. Res*. 8(3): 299-306.
-  **Boukendour, O. 2011.** Contribution à l'automatisation de la détection et de la reconnaissance de pollens. Travail de Magistère. Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou faculté e Génie Electrique et d'Informatique.
-  **Boulaaba, I.A. 2019.** Place Du miel à l'officine, Thèse de doctorat, Faculté De De Pharmacie De Marseille.
-  **Boulaaba, I.A. 2019.** Place Du miel à l'officine, Thèse de doctorat, Faculté De De Pharmacie De Marseille.
-  **Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig L., Hellal R., Donsi F., Ferrari G., Hamdi S., 2014.** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins fromTunisia. *Arab. J. Chem*. 11(2): 265–274.
-  **Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touvs. A., Lagrouh. F., Dakka, N., Barki, Y. 2017.** Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*, 1-5.
-  **Bradbear, N. 2010.** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation des produits et services dérivés des abeilles. FAO, Rome, PFNL 19.
-  **Brand-Williams, W., Culivier, M.E., Berset, C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28 (1) : 25–30.
-  **Braun, M., Dotterl, S., Schlindwein, C., Gottsberger, G. 2012.** Can nectar be a disadvantage ? Contrasting pollination natural histories of two woody Violaceae from the Neotropics. *International Journal of Plant Sciences*. 173(2) : 161-171.

-  **Bremer, E. (2014).** Liberate and grab it, ingest and digest it: the GbdR regulon of the pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*. 196 :1 7-15.
-  **Buba, F., Gidado, A., Shugaba, A. 2013.** Analysis of biochemical composition of honeysamplesfrom North-East Nigeria. *Biochem Anal Biochem*. 2 (3), 139.
-  **Buchmann, S.L., Shipman, C.W. 1991.** Foraging distances flown by honey bee colonies : analyses using Mathematica software. *Am. Bee J.* 131,771
-  **Budzynski, K. 2006.** Effect of hydrogenperoxyd on antibacterial activity of canadian honey, *can . j. microbial*. 52 : 1228-1237.
-  **Bulgasem, B.Y., Lani, M.N., Hassan, Z.,Wan Yusoff, W.M., Fnaish, S.G., 2016.** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic Candida Species. *Mycobiology*. 44 (4): 302–309.
-  **Burdon, RH. 1995.** Superoxyde and hydrogen peroxyde in relation to mammalian cell proliferation. *Free Radical Biologie and Medecine*. 18(4) :775-94.
-  **Cabrera, M., Perez, M., Gallez, L., Andrada, A., Balbarrey, G. 2017.** Color, antioxidant capacity, phenolic and flavonoid content of honey from the Humid Chaco region, Argentina. *Int. J. Exp. Bot.* 86 : 124–130.
-  **Cabroliera, N., Lafoliea, J., Bertran,d X. 2014.** Epidemiology and risk factors of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Journal des Anti-infectieux*. 16 : 1 ; 8–12.
-  **Candiracci, M., Piatti E., Dominguez-Barragan M., Garcia-Antras D., Morgado B., Ruano, D., Gutiérrez, J.F., Parrado, J., Castaño, A. 2012.** Anti-inflammatoryactivity of a honeyflavonoidextract on lipopolysaccharide-activated N13 microglialcells. *J. Agric. Food Chem.* 60 : 12304–12311
-  **Candiracci, M., Piatti E., Dominguez-Barragan M., Garcia-Antras D., Morgado B., Ruano, D., Gutiérrez, J.F., Parrado, J., Castaño, A. 2012.** Anti-inflammatoryactivity of a honeyflavonoidextract on lipopolysaccharide-activated N13 microglialcells. *J. Agric. Food Chem.* 60 : 12304–12311
-  **Carpentier, J.P., 2013.** Infections à bacille pyocyanique. *Maladies infectieuses*. pp.24.
-  **Carter, D.A., Blair, S.E., Cokcetin, N.N., Bouzo, D., Brooks, P., Schothauer, R. Harry, E.J. 2016.** Therapeutic Manuka honey : No longer so alternative. *Front. Microbiol.* 7 : 1–11.
-  **Carter, D.A., Blair, S.E., Cokcetin, N.N., Bouzo, D., Brooks, P., Schothauer, R. Harry, E.J. 2016.** Therapeutic Manuka honey : No longer so alternative. *Front. Microbiol.* 7 : 1–11.
-  **Carvalho, F., Barnich N., Sivignon A., Darcha C., Chan C., Stanners C., Darfeuille-Michaud A. 2009.** Crohn's disease adherent-invasive *Escherichia coli* colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *J. Exp. Med.* 206(10):2179-2189. doi:10.1084/jem.20090741.
-  **Carvalho, F., Barnich N., Sivignon A., Darcha C., Chan C., Stanners C., Darfeuille-Michaud A. 2009.** Crohn's disease adherent-invasive *Escherichia coli* colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *J. Exp. Med.* 206(10):2179-2189. doi:10.1084/jem.20090741.
-  **Carvalho, M.C., Rocha, A., Estevinho, L., Choupina, A.B. 2006.** Identification of honey yeast species based on RFLP analyses of the ITS region. *Cienc. Tecnol. Alimentos*. 5 (1), 11e17
-  **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 Chem.* 78(2): 157–161.
-  **Chakir, A., Romane A., Barbagiani N. Bartoli D., Ferrazzi P. 2011.** Major and Trace Elements in Different Types of Moroccan Honeys. *Rev. Australian J. of Basic and App Scien.* (5) : 223-231.

-  **Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G.L., Ferrazzi, P. 2016.** Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco, *Arabian Journal of Chemistry*. 9 : 946-954.
-  **Chassaing, B., Darfeuille-Michaud, A. 2011.** Interaction entre *Escherichia coli* et plaques de Peyer dans la maladie de Crohn - Le rôle des long polar fimbriae. *Med Sci (Paris)*. 27 (6-7) : 572-573.
-  **Chataway, H.D. 1932.** The determination of moisture in honey. *The Canadian Journal of Research*. 6(5) : 532-547.
-  **Chauvin, R. 1968.** Ed. *Traité de biologie de l'abeille*, Tome II : Système nerveux, comportement et régulations sociales, Tome III : Biologie appliquée, Masson et Cie, Paris
-  **Chefrour, 2008.** Miels Algériens : Caractérisation physico-chimique et méliissoplynologique (Cas des miels de l'Est de l'Algérie). Thèse de doctorat d'état des sciences, Université d'Annaba
-  **Chepulis, L.M. 2007.** L'effet du miel comparé au saccharose, aux sucres mixtes et à un régime sans sucre sur le gain de poids chez les jeunes rats. *Journal of Food Science*. 72 (3) : S224-S229
-  **Cho, H., Yun, C.W. Park, Y., Lee, S., Kim, B.K. 2004.** Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-2 and iNOS, by chrysinderivatives," *Pharmacological Research*. 49(1) : 37-43.
-  **Chouia, A., 2014.** Analyses polliniques et caractérisation des composées phénoliques du miel naturel de la région d'Ain Zaâtout. Thèse de doctorat en Biologie Université de Biskra, 102 p.7
-  **Chowdhury, S.P., Diete, I K., Rändler, M., Schmid, M., Junge, H., Borriss R., Hartmann, A., Grosch, R., 2013.** Effects of *Bacillus amylolique faciens* FZB42 on Lettuce Growth and Health under Pathogen Pressure and Its Impact on the Rhizosphere Bacterial Community. *PLoS ONE*, 8 (7): e68818. doi.org/10.1371/journal.pone.0068818
-  **Chua, L.S., Norul, L. Rahaman, A., Nur A.A., Ti Tjih E.T., 2013.** Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 8 ID 313798.
-  **Chua, LS, Adnan, N.A., Abdul-Rahaman, N.L., Sarmidi M.R., 2014.** Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. *Inter. Food Res. J.* 21(2) :773-778.
-  **Chweitzer, P. 2004.** Nectar, miellat, pollen, environnement [en ligne]:Apiservices, Abeille de France. [http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nectar\\_miellat.htm](http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nectar_miellat.htm)
-  **CIE (Commission internationale de l'éclairage), 1978.** Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. Suppl n° 2 to CIE publication n°15 (E-1.3.1) 1971 (TC-1- 3), Paris.
-  **Clarridge, J.E. 2004.** Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*. 17 : 840-862.
-  **Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., Gordon, D.B., 1996.** The rapid-identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nat Biotechnol*. 14 : 1584-1586.
-  **Clémence, H. 2005.** Le miel : de la source à la thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques*. hal-01733105
-  **Clément, H. 2002.** *Guide des miels*. Paris, Rustica, 2002, 64 p.
-  **Clément, H. 2009.** *Guide des miels*. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, 528p.
-  **Clément, H. 2011.** *Le traité rustica de l'apiculture*. Editions Rustica. 528 pages.
-  **CLSI, 2016.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2016.
-  **Codex Alimentarius, 2001.** Commission Standards, Codex Standards for Honey, (1981/ revised1987/revised 2001), FAO- Rome, 2001, 1-7.



-  **Codex Alimentarius. 1993.** Standard for honey. Ref. Nr. CL 1993/14-SH. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Rome, p. 21.
-  **Codex Alimentarius. 2001.** Commission Standards, Codex Standards for Honey, (1981/ revised 1987/revised 2001), FAO– Rome. p 1–7.
-  **Coeuret V., Dubernet S., Bernardeau M., Guegun M., Vernouxj P., 2003.** Isolation, characterization and identification of lactobacilli focus ingmainly on cheeses and other dairy products. Lait 83, 269–306.
-  **Cokcetin, N.N., Pappalardo, M., Campbell, L.T., Brooks, P., Carter, D.A., Blair, S.E., Harry, E.J. 2016.** The antibacterial activity of Australian Leptospermum honey correlates with methylglyoxal levels. PLoS ONE, 11(12), e0167780.
-  **Combarros-Fuertes, P, Valencia-Barrera, R.M., Mestevinho, L, Dias, L.G., Castro, J.M., Tornadijo, M.E. and Fresno J.M., 2018.** Spanish honeys with quality brand : a multivariate approach to physicochemical parameters, microbiological quality, and floral origin. Journal of Apicultural Research. 58(1) : 92-103.
-  **Communautés Européennes. 2002.** Journal officiel des Communautés européennes (2002). Directive 2001/110/CE relative au miel : 47-52.
-  **Conte, M.P, Longhi, C., Marazzato, M., Conte, A.L., Aleandri, M., Lepanto, M.S., Zagaglia, C., Nicoletti, M., Aloï, M., Totino, V., Palamara, A.T., Schippa, S. 2014.** Adherent-invasive Escherichia coli (AIEC) in pediatric Crohn's disease patients: phenotypic and genetic pathogenic features. BMC Res Notes. 22 : 7:748. Doi : 10.1186/1756-0500-7-748.
-  **Conti, M. E., Maria, G.F., Luca, F., G. M., Botrè, F., Iavicoli, I., 2014.** Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. Chemistry Central Journal. 8 : 44. 1 -10.
-  **Cooper, R., Jenkins, L., Hooper, S., 2014.** Inhibition of biofilms of Pseudomonas aeruginosa by Medihoney in vitro. J Wound Care. 23 (3) : 93–6. 98–100, 102 passims.
-  **Cordella, C., Militao, J.S.L.T., Clément, M.C., Cabrol-Bass, D. 2003.** Honey characterization and adulteration detection by pattern recognition applied on HPAEC-PAD profiles. 1. Honey floral species characterization. J. Agric. Food Chem. 51 : 3234–3242.
-  **Cosnes, J., Gower-Rousseau, C., Seksik, P., Cortot, A. 2011.** Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 140(6) :1785-94.
-  **Cotte, J.F, Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., Grenier-Loustalot, M.F.. 2003.** Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity.J. Chrom. A, 1021 : 145–155.
-  **Crane, E., 1990.** Bees and Beekeeping, science pratice and word ressources. Heinemann Newnes, 614 P.
-  **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 Chem. 70 : 93-98.
-  **Da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira-Costa, A.C., Fett R. 2016.** Honey : Chemical Composition, Stability and Authenticity. Food Chemistry. 196 : 309–323
-  **Daeschel, M.A., Nes, I.F., 1995.** Lactobacillus plantarum : physiology, genetics, and applications in foods. In Food Biotechnology, ed. Y.H. Hui and G.G. Khachatourians.
-  **Dailly, H., 2008.** Cristallisation du miel, le savoir et le faire. Abeilles & Cie. 124 : 24-28. Editeur responsable Etienne Bruneau, Louvain-la-Neuve.
-  **Dao, T.T., Chi, Y.S., Kim, J., Kim, H.P, Kim S., Park, H. 2004.** Synthesis and inhibitory activity against COX-2 catalyzed prostaglandin production of chrysin derivatives. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 14(5) :1165–1167.
-  **Daoui, Z. 2016.** Etude moléculaire du gène CARD15/NOD2 chez des patients atteints de la maladie de Crohn, Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri, Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Animale. 89p



-  **Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.L., Barnich, N., Bringer, M.A., Swidsinski, A., Beaugerie L., Colombel, J.F. 2004.** High prevalence of adherent-invasive *Escherichiacoli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 127 (2): 412-421.
-  **Darfeuille-Michaud, A., Neut, C., Barnich, N., Lederman, E., Di Martino, P., Desreumaux, P., Gambiez, L., Joly, B., Cortot, A., Colombel, J.F. 1998.** Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 115 : 1405-
-  **Das, A., Datta, S., Mukherjee, S., Bose, S., Ghosh, S., Dhar, P. 2015.** Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *LWT-Food. Sci.Technol.*, 61 : 244–250.
-  **Dashti, A.A., Jadaon, M.M., Abdulsamad, A.M., Dashti H.M. 2009.** Traitement thermique des bactéries : une méthode simple d'extraction d'ADN pour les techniques moléculaires. *Kuwait Med. J.* 41 : 117-122
-  **De Bruyne, K., Slabbinck, B., Waegeman, W., Vauterin, P., De Baets B. and Vandamme, P., 2011.** Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectrathrough data analysis and machine learning. *Syst Appl Microbiol.* 34 : 20– 29.
-  **De la Fuente, E., Ruiz-Matute, A.I., Valencia-Barrera, R.M., Sanz, J., Martinez Castro I. 2011.** Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. *Food Chem.* 129 : 1483-1489.
-  **De Rodriguez, G.O., Sulbaran, De Ferrer, B., Ferrer, A., Rodriguez, B. 2004.** Characterisation of honeyproduced in Venezuela. *Food Chemistry*. 84 : 499-502.
-  **Dec, M., Urban-Chmiel, R., Gnat, S., Puchalski, A., Wernicki, A., 2014.** Identification of *Lactobacillus* strains of goose origin using MALDI-TOF mass spectrometry and 16S–23S rDNA intergenic spacer PCR analysis. *Res. Microbiol.* 165 : 190–201.
-  **Dedicatoria, R.F., Aspiras, R.B., Sanchez, P.C. 1981.** The fermentation inoculation with lactic acid bacteria to increase the nutritive value of sauerkraut. *Kalikasan*. 10: 214-219.
-  **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., Janssens, D. 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In *Bactéries Lactiques*, pp. 25-116. Edited by H. de Roissart& F.M. Luquet. Paris: Lavoisier.
-  **Deschamps, V. 1998.** Production et commercialisation du miel. Thèse Med. Vét., Université Paul-Sabatier, Toulouse III, 118p.
-  **Descottes, B. 1990.** De la ruche à l'hôpital ou l'utilisation du miel dans l'unité de soins. *L'Abeille de France et l'apiculteur*. 754 : 459-460.
-  **Devillers, J.M., Pham-Delègue, M.H., Doré, J.C., 2004.** Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food chemistry*. 86 (2), 305-312.
-  **Di Maria, M., Mousques, C. 2012.** Microbiote et maladie de Crohn : états des lieux en 2011 : place du pharmacien dans la prise en charge. *Sciences pharmaceutiques*. dumas-0066701
-  **Di rosa, A.R., Leone, F., Scattareggia, C., Chiofalo, V. 2018.** Botanical origin identification of sicilian honeys based on artificial senses and multi-sensor data fusion. *Eur Food Res Tech. Technol*, 244 : 117–125.
-  **Dicks, L.M.T., Heunis, D.A., van Staden, D.A., Brand, A., Sutyak Noll, K., Chinkindas., M.L. 2011.** Medical and personal care applications of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. In: Drider, D., and Rebuffat, S. (Eds). *Prokaryotic Antimicrobial Peptides : From Genes to Applications*. Springer Verlag. Stellenbosch, South Africa. pp 391-421.
-  **Dimitrova, B, Gevrenova, R, Anklam, E., 2007.** Analysis of phenolicacids in honeys of different floral origin by solid-pase extraction and high-performance liquidchromatography. *Phytochem Anal.* 8 (1) : 24–32.
-  **Dinkov, D., Ivanov, T. 2010.** The main quality parameters of bulgarian'scoriander (*Coriandrum sativum* L.) beehoney, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, Agricultural Academy, Research Institute of Mountain Stock breeding and Agriculture. 13 (1) : 86-99.

-  **Doan, N.T.L., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E. Aerts M, Le Thanh B, Vandamme P., 2012.** Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam. *Lett. Appl. Microbiol.* 55 : 265– 273.
-  **Donadieu, y. 1984.** Toutes les thérapeutiques de ma pharmacie naturelle : les produits de la ruche. Lavoisier ed, p : 12.
-  **Donadieu, Y. 2008.** Ma pharmacie naturelle. Faculté de médecine de Paris. [http://www.afssa.fr/index.htm /Revue phytothérapie article 2008 Dr Descottes](http://www.afssa.fr/index.htm/Revue%20phytoth%C3%A9rapie%20article%202008%20Dr%20Descottes)).
-  **Dong, R., Zheng, Y., Xu, B. 2013.** Phenolic Profiles and Antioxidant Capacities of Chinese Unifloral Honey from Different Botanical and Geographical Sources. *Food and Bioprocess Technology.* 6(3) : 762–770.
-  **Dongock, N.D., Avana, T.M.L., Djimasngar, M., Goy, S. et Pinta, J.Y., 2017.** Importance écologique et potentialité apicole à la périphérie du Parc national de Manda en zone soudanienne du Moyen-Chari (Tchad). *International Journal of Environmental Studies.* 74 (3), 443–457.
-  **Donnio, P.Y, Gaschet, A., Cady, A. 2010.** Actualités du traitement antibiotique des infections à *Staphylococcus aureus*. *Médecine thérapeutique.* 16(3) ; 244-251.
-  **Dortu, C. et Thonart, P., 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bio-conservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*
-  **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., Hacini, Z. 2014.** Étude physico-chimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* 10: 37-49.
-  **Draiaia, R. 2016.** Caractérisation physico-chimique et appellation botanique des miels Algériens (Cas des ruches langstroth). Thèse de doctorat. Université Badji mokhtar, Annaba.
-  **Draiaia, R., Rezki, A.R., Ben nacer, K., Chefrou, A. 2014.** Quality of Some Algerian Honey : Study of Botanical and Some Physicochemical Parameters. *Middle-East Journal of Scientific Research.* 22 (9), 1363-1371
-  **Dusková, M., Sedo, O., Ksi Cová, K., Zdrahál, Z., Karpísková, R., 2012.** Identification of lactobacilli isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. *Int. J. Food Microbiol.* 159 : 107-114.
-  **Dżugan, M., Tomczyk ,M., Sowa P., Grabek-Lejko ,D., 2018.** Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23, 2069.
-  **Efem, S.E. 1988.** Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery.* 75 (7) : 679-681
-  **El Sohaimy, S.A., Masry, S. H.D., Shehata, M., 2015.** Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences.* 60 : 279-287.
-  **Elenany, Y.E. 2019.** Physiochemical Parameters and Rheological Properties of Citrus, Clover and Marjoram Egyptian Bee Honeys. *Journal of Entomology.* 16: 17-22.
-  **El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi ,K.E., Bazukyan, I., Choiset I., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y. G., Kuliev A. A., Mozzi F., Chobert J. M., Haertlé, T., 2011.** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food Sci. Technol.,* 22 : 509-516.
-  **EL-Metwally, A.A.E., 2015.** Factors Affecting the Physical and Chemical Characteristics of Egyptian Beehoney. Ph.D. Thesis, Fac. Agric. Cairo Univ., 320p.
-  **Emarah, M.H. 1982.** A clinical study of the topical use of bee honey in the treatment of some ocular diseases. *Buletin of islamicMedecine.* 2: 422-425.
-  **Emmanuelle, H., Julie C., Laurent, G. 1996.** Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole
-  **Endo, A., Salminen, S. 2013.** Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic Acid bacteria. *Syst Appl Microbiol.* 36 : 444–448.

-  **English, H.K.P., Pack A.R.C., Molan P.C. 2004.** The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: a pilot study. *Journal of the International Academy of Periodontology*. 6(2) : 63–67.
-  **Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A., Wahab, M.S. 2012.** Honey - A Novel Antidiabetic Agent. *International Journal of Biological Sciences*. 8 (6) : 913-934.
-  **Escriche, I., Oroian, M., Visquert, M., Gra,s M.L., Vidal D. 2016.** Rheological properties of honey from burkina faso : loss modulus and complex viscosity modeling. *Int J Food Prop*. 19 (11) : 2575–2586.
-  **Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., Carmen Seijo, M. 2013.** Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chem*. 138 : 851-856.
-  **Escuredo, O., Rodriguez-Flores, M.S., Rojo-Martinez, S., Seijo C.M. 2019.** Contribution to the chromatic characterization of unifloral honeys from Galicia (NW Spain). *Foods*, 8(233) : 1-16.
-  **Escuredo, O., Silva, L.R., Valentão, P., Seijo, M.C., Andrade, P.B., 2012.** Assessing Rubus honey value : pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chem*. 130(3) : 671–678.
-  **Escuredo, O., Dobre, I., Fernandez-Gonzalez M., Seijo, M.C.,2014.** Contribution d'origine botanique et composition en sucres des miels sur le phénomène de cristallisation. *Food Chem*. 149 : 84-90.
-  **Escuredo, O.P. 2012.** Origen botanico y composicion nutricional de la miel producida en Galicia.Tesis Doctoral.Universida de Vigo.387p.
-  **Eteraf-Oskouei, T., Najafi, M. 2013.** Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review. *Iran J Basic Med Sci*. 16 : 731-742.
-  **European Union. 1974.** Honey Directive. On the harmonization of the laws of the member states relating to honey.74/409/EEC, Off.J.Eur. Commun., NOL 221/14.
-  **FAO/WHO, 2002.** Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Working Group Report.
-  **FAOSTAT. 2018.** Production quantity of honey (natural) in 2017, LivestockPrimary/World Regions/Production Quantityfrompicklists". *United Nations, Food and Agriculture Organization, Statistics Division (FAOSTAT). 2018*. Retrieved18 March 2019.
-  **Fechner, D.C., Mores,i A.L., Riuz Díaz, J.D., Pellerano, R.G., Vazquez, F.A., 2016.** Multivariate classification of honeys from Carrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. *Food Biosci*. 15 : 49–54.
-  **Feller-Demalsy, M.J., Parent, J. 1989.** Analyse pollinique des miels de l’Ontario, Canada. *Apidologie*,Springer Verlag. 20 (2) : 127-138.
-  **Feng, J., Liu, P., Yang, X., Zhao, X. 2015.** Screening of immunomodulatory and adhesive Lactobacillus with antagonistic activities against Salmonella from fermented vegetables. *World J. Microbio. Biotechnol*. 31 : 1947-1954.
-  **Fernández Gonzalez, M.J., García, P.G., Fernández, A.G., and Quintana, M.C.D. 1993.** Microflora of the aerobic preservation of directly brined green olives from Hojiblanca cultivar J. *Appl. Bacteriol*.75 : 226-233
-  **Filannino P., di Cagno R., Addante R., Pontonio E., Gobbetti M. 2016.** Metabolism of fructophilic lactic acid bacteria isolated from the *Apis mellifera* L. beegut : Phenolicacids as externalelectronacceptors. *Appl. Environ. Microbiol*. 82 : 6899–6911.
-  **Fleming, H.P., 1982.** Fermented vegetables. In *EconomicMicrobiology*. Vol. 7 : Fermented Foods, ed Rose, A.H. pp. 227–258. London: Academic Press.
-  **Fleming, H.P., Etchells, J.L. and Costilow, R. L., 1975.** Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied Microbiology*. 30 (6) : 1040–1042.

-  **Florou-Paneri, P., Christaki, E., and Bonos, E. 2013.** Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. In : Kongo, M. (ed.), *Lactic Acid Bacteria—R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. InTechOpen, Rijeka, Cro-atia, pp. 589–614.
-  **Forcone, A.E., 2008.** Analyse de pollen de miels de Chubut (Patagonie Argentine). *Grana*. 47: 147-158.
-  **Fujita, T., Kozuka-Hata, H., Ao-Kondo, H., Kunieda T., Oyama, M., Kubo ,T. 2012.** Proteomic analysis of the royal jelly and characterization of the functions of its derivation glands in the honeybee. *Journal of Proteome Research*. 12 : 404–411.
-  **Fukuda, M., Kobayashi, K., Hirono, Y., Miyagawa, M., Ishida, T., Ejiogu, E.C., Sawai, M, Pinkerton, E.K., Takeuchi ,M. 2011.** Jungle honey enhances immune function and antitumor activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. ID 908743, 8 pages
-  **Garrity, G., Holt, J., 2001.** BVI Embranchement. Chloroflexi PHY. (les Archaea et les ramifications profondément et bactéries phototrophes). In *Manuel de Bergey de bactériologie systématique*, pp. 427. Edited by DR Boone et RW Castenholz. New York: Springer-Verlag.
-  **Gašić, U, Sikoparija, B., Tosti, T., Trifkovic, J., Milojkovic-Opsenica, D., Natic M., Tešić, Ž. 2014a.** Phytochemical finger prints of lime honey collected in serbia. *J AOAC Int*. 97 (5) :1259-1267.
-  **Gašić, U., Kečkeš S., Dabić, D., Trifković, J., Milojković-Opsenica, D., Natić, M., Tešić Ž. 2014b.** Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. *Food Chem*. 145 : 599– 607.
-  **Genot, C., Eymard, S., Viau, M. 2004.** Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? *Oléagineux, corps gras, lipides*.11(2) :133-141.
-  **Gharbi, M. 2011.** Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition - Propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse Méd. Vét. Université Claude Bernard, Lyon, p 247.
-  **Gheldof, N., Engeset, H. 2002.** Capacité antioxydante des miels de diverses sources florales basée sur la détermination de la capacité d'absorption des radicaux d'oxygène et l'inhibition de l'oxydation in vitro des lipoprotéines dans des échantillons de sérum humain. *J Agric Food Chem*. 50 (10) : 3050-3055.
-  **Ghotbi, M., Soleimanian-Zad S., Sheikh-Zeinoddin, M., 2011.** Identification of *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus plantarum* in Lighvan cheese with 4 month ripening period by means of recA gene sequence analysis. *Afr J Biotechnol*. 10, 1902-1906.
-  **Ghramh, H.A., Khan, K.A., Alshehri, A.M.A. 2018.** Antibacterial potential of some Saudi honeys from Asir region against selected pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 (6) : 1278-1284.
-  **Gilliam, M. 1997.** Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honeybees. *FEMS Microbiol Lett*. 155 : 1–10.
-  **Gilliam, M., Morton, H.L. 1978.** Bacteria belonging to the genus *Bacillus* isolated from honeybees, *Apis mellifera*, fed 2,4-d and antibiotics (1) *Apidologie*. 9 : 213–222.
-  **Gonnet, M. 1965.** Les modifications de la composition chimique des miels au cours de la conservation. *Ann Abeille*. (8) : 129-140.
-  **Gonnet, M. 1994.** La cristallisation dirigée des miels:actualization des méthodes de travail et avantages liés à cette pratique technologique. *Abeilles et Fleurs*. 430 : 9-107
-  **Gonnet, M., Lavier, P., Louveaux, J. 1964.** La pasteurisation des miels. *Annels de l'abeille*.7 : 81-102.
-  **Gonzáles, A.P., Burin, L. Buera, M.D. 1999.** Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*. 32 : 185-191.

-  **González-Miret, M.L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M.Á., Heredia, F.J. 2005.** Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *J. Agric. Food Chem.* 5 : 2574–2580.
-  **Griswold D.E., Adams J.L. 1996.** Cyclooxygénase constitutive (COX-1) et cyclooxygénase inducible (COX-2) : Justification de l'inhibition sélective et progrès accomplis à ce jour. *Med Res Rev.* 16 (2) : 181-206.
-  **Guarner, F., Sanders, M.E., Gibson, G. Klaenhammer, T., Cabana, M., Scott, K., Reid, G., Delzenne, N. M., Fahey, G. and Hill, C. 2011.** Probiotic and prebiotic claims in Europe: seeking a clear roadmap. *The British Journal of Nutr.* 106 (11) : 1765-1767.
-  **Guérin, B. et Cour, P. 1993.** Palynologie : Caractères généraux des grains de pollen. In pollen et allergies. Ed. Allerbio, Varennes-en-Agrome, 279 p
-  **Guler, A., Kocaokutgen, H., Garipoglu, A.V., Onder, H., Ekinci, D., Biyik, S., 2014.** Detection of adulterated honey produced by honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies fed with different levels of commercial industrial sugar (C3 and C4 plants) syrups by the carbon isotope ratio analysis. *Food Chemistry.* 155 : 155–160.
-  **Hadj-said, A., Makhloufi, C., Choukri, A., Davin, A., 2009.** Caractérisation de certains miels du nord algérien. *Revue de l'écologie-environnement* N°5, 79-97 ed. Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
-  **Hadorn, H., Zürcher, K. 1972.** Eine einfache kinetische Methode zur Bestimmung der Diastasezahl im Honig. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 68 : 209 – 216.
-  **Hadri, N., 2015.** Etude phytochimique et activité antioxydante d'extrait de plantes *Sedum villusum* L. (Orpin) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk). Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et biochimie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, pp. 106.
-  **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2015.** *Free Radicals in Biology and Medicine.* 5th Edition, Oxford University Press, New York.
-  **Halstead, F., Webber, M., Rauf, M., Burt, R., Dryden, M., Oppenheim, B.A. 2016.** In vitro activity of an engineered honey, medical-grade honeys, and antimicrobial wound dressings against biofilm-producing clinical bacterial isolates. *J Wound Care.* 25(2) : 93-4, 96-102.
-  **Hammada, T., Lemdaoui, C., Boutra, F., Zoughailech, D., Asselah, H., 2015.** Epidemiological aspect of inflammatory bowel disease in a Algerian population. *J Afr Hépatol Gastroentérol.* 5 : 293- 302.
-  **Hannan, A., Barkaat, M., Usman, M., Gilani, W.A., Sami, W., 2009.** In Vitro Antibacterial Activity of Honey Against Clinical Isolates of Multi-Drug Resistant Typhoidal Salmonellae. *Pakistan J Zool.* 41, (1-6).
-  **Hapla, U.M., Solayman, M., Alam N., Khalil, M.I., Gan, S.H. 2018.** 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal.* 12(1) : 1-18.
-  **Hasali, N.H.M., Zamri, A.I., Lani, M.N., Mubarak, A., Suhaili, Z. 2015.** Identification of lactic acid bacteria from Meliponine honey and their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *AEJSA.* 9(6): 1-6.
-  **Hegazi A.G., 2011.** Antimicrobial activity of different Egyptian honeys as comparison of Saudi Arabia honey. *Research Journal of Microbiology.* 6(5) : 488–495.
-  **Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. 2002.** Flavonoïds antioxydants : chemistry ; metabolism and structure-activity relation ships. *The journal of Nutritional Biochemistry,* 13 : 572 -584.
-  **Helvey, T.C. 1953.** The natural concentration of deuterium in honey, *Science See Saiensu*, 1953, vol. 117. <http://ekladata.com/ViQw1ofEliaHl2KAwpYl47zYG08>.



-  **Henriques, A., Jackson, S., Cooper, R., Burton, N. 2006.** Free radical production and quenching in honeys with wound healing potential. *J. Antimicrob. Chemother.* 58: 773-777.
-  **Hensyl, W.R., 1994.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 9 th Edn., Williams and Wilkins, Baltimore, Philadelphia, Hong Kong, London, Munich.
-  **Heredia, F.J., Guzmán C.H. 1988.** Parámetros cromáticos de vino eladenominación de origen “La mancha”, y relación con su compromi soy características. *Alimentaria*, 196 : 88-92.
-  **Heyman, M., Heuvelin, E., 2006.** Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolism.*, 20 : 85–90.
-  **Hong, S., Wilson, M.T., Serizawa, I., Wu, L., Singh, N., Naidenko, O.V., Miura, T., Haba, T., Scherer, D.C., Wei, J., Kronenberg, M., Koezuka, Y., Van Kaer, L. 2001.** The natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide prevents auto immune diabetes in non-obese diabeticmice. *Nat Med.*7(9) : 1052-6
-  **Horn, H., Lüllmann, C. 1992.** Das große Honigbuch. Ehrenwirth, München.
-  **Huang, M.K., Choi, Y.J., Houde, R., Lee, J. W., Lee, B., Zhao, X. 2004.** Effects of lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poult. Sci.* 83 : 788–795.
-  **Huchet, E., Coustel, J., Guinot, L. 1996.** Les constituants chimiques du Miel- Méthodes d’analyses chimiques - Département Science de l’Aliment - Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.1, Avenue des Olympiades, 91744 Massy CEDEX – France
-  **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.
-  **Hussain, M. B., Hannan, A., Akhtar, N., Fayyaz, Q. G., Imran, M., Saleem, S., Qureshi, I.A. 2015.** Evaluation of the antibacterial activity of selected Pakistani honeys against multi-drugresistant *Salmonella typhi*. *BMC Complement. Altern. Med.*, 15 : 32
-  **Ibarguren, C., Raya, R.R., Apella, M.C., Audisio, M.C., 2010.** Enterococcus faecium isolated from honey synthesized bacteriocin-like substances active against different listeria monocytogenes strains. *J. Microbiol.* 48(1): 44-52.
-  **International Honey Commission Methods. 2009 :** Harmonised methods of the International Honey Commission Methods, Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld, Switzeland, 2009.
-  **Irish, J., Blair, S., Carter, D.A. 2011.** The antibacterial activity of honey derived from Australian flora. *PLoS one* 6 (3), e18229.
-  **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 : Botanicalorigin", *Journal of theSaudi Society of Agricultural Sciences.* 12 (2) : 129-135
-  **Iurlina, M.O., Fritz, R. 2005.** Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *Int. J. Food Microbiol.* 105 : 297–304.
-  **Izumo, T., Izumi, F., Nakagawa, I., Kitagawa, Y., Shibata, H., Kiso Y. 2011.** Influence of *Lactobacillus pentosus* S-PT84 ingestion on the mucosal immunity of healthy and *Salmonella typhimurium*-infected mice. *Biosci Microflora.* 30 : 27–35.
-  **Jain, A., Bhaskar, D.J., Gupta, D., Agali, C., Gupta, V., Gupta, R.K., Yadav, P., Lavate, A.B., Chaturvedi, M. 2015.** Comparative evaluation of honey, chlorhexidine gluconate (0.2%) and combination of xylitol and chlorhexidine mouthwash (0.2%) on the clinical level of dental plaque : A 30 days randomized controltrial. *Perspect Clin Res.* 6(1) : 530-537.
-  **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. 1987.** Apiculture (Connaître L’abeille- Conduire le rucher). Ed. 6eédition TEC et DOC. Lavoisier, paris, pp : 141-153. ISBN : 2-85206-375-1.



-  **Jean-Prost, P., Le Conte Y. 2005.** Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher. 7<sup>ème</sup> édition. TEC & DOC Lavoisier Ed. 2005, 697 p.
-  **Johansson, M.L., Molin, G., Jeppsson, B., Nobaek, S., Ahrné, S., Bengmark, S. 1993.** Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: In vivocolonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 15-20.
-  **Jones, J.C. 2004.** Honey bees est thermoregulation : diversity promotes stability. *Science* (80- ) 305 : 402-404.
-  **Jones, K.P, Blair, S., Tonks, A., Price, A., Cooper, R. 2000.** Honey and the stimulation of inflammatory cytokine release from a monocytic cell line. First World Wound Healing Congress: Melbourne, Australia.
-  **Julika, N.W., Ajit, A., Sulaiman, A.Z., Naila, A., 2019.** Physicochemical and Microbiological Analysis of Stingless Bees Honey Collected from Local Market in Malaysia. *Indones. J. Chem.* 19 (2) : 522-530.
-  **Kadenbach, B., Ramzan, R., Vogt S. 2009.** Degenerative diseases, oxidative stress and cytochrome c oxidase function. *Trends Mol. Med.* 15 : 139-147.
-  **Kahraman, T., Buyukunal, S. K., Vural., Altunatmaz, S.S., 2010.** Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry.* 123 (1), 41-44.
-  **Kajiwara, S, Gandhi, H, Ustunol, Z. 2002.** Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium* spp. : an in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. *J Food Prot.* 65(1):214-8.
-  **Kandler, O., Weiss N. 1986.** Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 2, pp.1209-1234. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. Baltimore : Williams & Wilkins.
-  **Karlinger, K., Gyorke, T., Mako, E., Mester, A., and Tarjan, Z. 2000.** The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Radiol.* 35 : 154-167
-  **Kaur, P., Mishra, A.A., Lal, D. 2016.** Honey Characterization Based on Physicochemical Parameter using GIS Techniques : A Case Study in Selected States of Northern India. *J Food Process Technol* 7 : 626. doi: 10.4172/215 7110.1000626
-  **Kek, S.P., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Tan, S.W., Chua, L.S. 2014.** Total phenolic contents and colorintensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. And *Trigona* spp. bees. *Agric Sci Proc.* 2 : 150-155.
-  **Khalafi, R., Goli, S.A.H., Behjatian, M., 2016.** Characterization and classification of several monofloral Iranian honeys based on physicochemical properties and antioxidant activity. *Int. J. Food Prop.* 19 (5) : 1065-1079.
-  **Khan, I.U., Dubey, W., and Gupta, V. 2014.** Medicinal properties of honey: a review: *International Journal of Pure and Applied Bioscience.* 2 : 149-156
-  **Khan, K.A., Al-Ghamdi, A.A., Ansari, M.J., 2016.** The characterization of blossom honeys from two provinces of Pakistan. *Ital. J. Food Sci.* 28 : 625-638.
-  **Khan, Z.S., Nanda, V., Bhat, M. S., & Khan, A. 2015.** Kinetic studies of HMF formation and diastase activity in two different honeys of Kashmir. *International journal of current microbiology and applied sciences.* 4 : 97-107.
-  **Khiani, M. 2014.** L'intérêt de la calprotectine et de l'alpha-1- these présentée et antitrypsine dans le diagnostic des maladies inflammatoires chroniques intestinales. Thèse de Doctorat. Université Mohammed v-souissi- faculte de medecine et de pharmacie -rabat. 101p
-  **Khiati, B., 2014.** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of raw honey from Algeria. *J Microb Biochem Technol.* 1(1) :1-6.

-  **Khiralla, G., Mohamed, E., Farag, A., El Hariry, H., 2015.** Antibiofilm effect of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* cell free supernatants against some bacterial pathogens. *J. Biotechnol. Res.* 6: 86-95.
-  **Kirkwood, K.C., Mitchell, T.J., Smith, D., 1960.** An examination of the Occurrence of Honeydew in Honey. Part I, *Analyst* 85.
-  **Kivrak, S., Kivrak, I., Karababa, E., 2017.** Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties, and their adulteration analysis. *Food Sci. Technol. (Campinas)*. 37 (1) : 80–89.
-  **Klaenhammer, T.R. 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 12 : 39-86
-  **Klaenhammer, T.R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M.A., Altermann, E. 2005.** Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiol Rev.* 29 : 393–409.
-  **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.
- Ahn, J.H., Hong, I.P., Bok, J.I., Kim, B.Y., Song, J., Weon, H.Y. 2012.** Pyrosequencing analysis of the bacterial communities in the guts of honeybees *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Korea. *J. Microbiol.* 50 :735–745.
-  **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.
-  **Koechler, S. 2015.** Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? thèse en pharmacie, faculté de pharmacie université de lorraine, 2015, p67.
-  **Kotani Y, Shinkai S, Okamatsu H, Toba M, Ogawa K, Yoshida H, , Fukaya T, Fujiwara Y, Chaves PH, Kakumoto K, Kohda N. 2010.** Oral intake of *Lactobacillus pentosus* strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Immun Ageing*. 26;7:11. doi: 10.1186/1742-4933-7-11
-  **Kruse, H.P, Kleessen, B., Blaut, M. 1999.** Effects of inulin on faecal bifidobacteria in humans subjects. *British Journal of Nutrition*. 82 : 375–382.
-  **Küçük, M., Kolay, H. Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltaci, C., Candan, F. 2007.** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 100 : 526-530.
-  **Kuś, P., Congiu, F., Teper, D., Sroka, Z., Jerković, I. and Tuberoso, C.I.G. 2013** Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC finger prints of six Polish unifloral honey types. *LWT – Food Sci Technol.* 55 : 124– 130.
-  **Kwakman, P.H.S, Zaat., S.A.J. 2012.** Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*. 64(1): 48-55.
-  **Kwakman, P. H., te Velde, A. A., de Boer, L., Vandenbroucke-Grauls, C. M., and Zaat, S. A. 2011.** Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. *PLoS ONE* 6:e17709.
-  **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.

-  **Laallam, H., Boughediri, L., Bissati, S., Menasria, T., Mouzaoui, M. S., Hadjadj, S., Chenchouni, H. 2015.** Modeling the synergistic antibacterial effects of honey characteristics of different botanical origins from the Sahara Desert of Algeria. *Frontiers in microbiology*, 6, 1239.
-  **Labioui, H., Laroussi, E., EL Yachiou,i M., Ouhssine, M. 2005.** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin Soc Pharm. Bourdeaux*. 144 : 237-250.
-  **Ladas, S.D., Ilaritos, D.N., Rapitis, S.A. 1995.** Honey may have a laxative effect on normal subjects because of incomplete fructose absorption. *Am J Clin Nutr*. 62: 1212-1215.
-  **Lane, D.J. 1991.** 16S/23S rRNA sequencing. p. 115-175. In E. Stackebrandt, and M. Goodfellow (ed.), *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. John Wiley and Sons, New York.
-  **Lane, J.A. Calonne, J., Slattery, H., Hickey, R.M. 2019.** Oligosaccharides Isolated from MGO™ Manuka Honey Inhibit the Adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli* O157:H7 and *Staphylococcus Aureus* to Human HT-29 cells. *Foods*. 8(10). pii : E446. doi : 10.3390/foods8100446
-  **Lapaquette, P., Brest, P., Hofman, P., Darfeuille-Michaud, A. 2012.** Etiology of Crohn's disease : many roads lead to autophagy. *J Mol Med (Berl)*. 90(9) : 987-996.
-  **Laredj, H., Waffa, R. 2017.** Microbiological and physicochemical characterization of honeys from the Tiaret Region of Algeria. *Asian J. Pharm. Res. Health Care*. 9(3) : 85-91.
-  **Larpent, J. P., Larpent-Gourgaud, M. 1990.** *Mémento Techniques de Microbiologie*. TEC & Doc-Lavoisier. France.
-  **Larran, S., Monaco C., Alippi, H.E. 2001.** Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill. *World J Microbiol Biotechnol*. 17(2) : 181-184.
-  **Larsen, A.G., Vogensen, F.K., Josephsen J. 1993.** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *J Appl Bacteriol*. 75 : 113-122.
-  **Lashani, E., Davoodabadi, A., SoltanDallal, M.M. 2018.** Antimicrobial Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Paracasei* Isolated from Honey against *Staphylococcus Aureus*. *J Babol Univ Med Sci*. 20 (3): 44-49.
-  **Le Bihan, A. 2016.** Les pansements au miel dans la cicatrisation des plaies aiguës et chroniques. Thèse D'exercice, Université De Rennes, Faculté De Pharmacie. Sciences du Vivant [q-bio]. HAL Id: dumas-01756927 <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01756927>
-  **Lee, C.Y., Kime, R.W. 1984.** The use of honey for clarifying apple juice. *J ApicRes*. 23:45-49.
-  **Lee, H, Churey, JJ, Worobo ,RW. 2008.** Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. *Int J Food Microbiol*. 126 (1-2):240–244.
-  **Lee, J.H., Park, G.H., Kim J.A., Neupane, G.P., Cho, M.H., Lee, C.S., Lee, J. 2011.** Low concentrations of honey reduce biofilm formation, quorum sensing, and virulence in *Escherichia coli* O157:H7. *Biofouling*, 27(10) : 1095-1104
-  **Leong A.G, Herst P.M, Harper J.L. 2012.** Indigenous New Zealand honey exhibit multiple anti-inflammatory activities. *Innate Immun*. 18 : 459–466.
-  **Lequet, L. 2010.** Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse Med. Vét. Université Claude Bernard, Lyon, 195p.

-  **Lewoyehu, M., Amare, M. 2019.** Comparative Assessment on Selected Physicochemical Parameters and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Honey Samples from Selected Districts of the Amhara and Tigray Regions, Ethiopia. *Int J Food Sci.* Article ID 4101695, 10 pages <https://doi.org/10.1155/2019/4101695>
-  **Lieutet, M.G. 1990.** De l'éraflure à l'escarre, problème de cicatrisation : rôle du pharmacien d'officine. Exemple de l'utilisation du miel dans le traitement des escarres. *The pharmacie*, Université de Dijon, 178 p.
-  **Lin, S.C., Wu, C.G., Huang, S.N., Houn, K.H. 1999.** Inoculation effect of arbuscular, mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria on the growth of Asian hybrida lily. *J. Agric. Res. China.* 48(2) : 135-142. (C.F. Hort. Abst., 70(8): 7019).
-  **Lobreau-Callen, D., Damblon, F. 1994.** Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) et zones de végétations en Afrique occidentale tropicale et méditerranéenne *Grana* 33 (4).
-  **Lokossou, S.C., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H. Soumanou M.M. 2017.** Physicochemical characterization and polyphenolic content of Beninese honeys *Int. Scholar. Res. Notices.* 37(3):1-8
-  **Lönner, C. and Ahrné, S. 1995.** *Lactobacillus* : Baking, in *Food Biotechnology Microorganisms*, Hui, Y.H. and Khachatourians, G.G., Eds., VCH Publishers Inc., Eureka, California. 797-844.
-  **Loublier, Y., Piana, M.L., Delègue, M.P., Borneck, R., 1994.** Caractérisation pollinique des miels français de lavande : premiers résultats. *Grana* 33: 231-238.
-  **Louppis, P.A., Karabagias, I.K., Kontakos, S., Kontominas, M.G., Papastephanou, C. 2017.** Botanical discrimination of Greek unifloral honeys based on mineral content in combination with physicochemical parameter analysis, using a validated chemometric approach. *Microchem J.* 135, 180–189. **Louveaux, J. 1968.** L'analyse pollinique des miels, in *Traité biologique de l'abeille*, Tome 3. Édition 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., Abed, L. 1984.** Les miels d'Afrique du Nord et leur spectre pollinique. *Apidologie* 1984.15 : 145-70.
-  **Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. 1978.** Methods of melissopalynology. *Bee World.*59(4) : 139-157.
-  **Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G., 1970.** Méthodes de méllissopalynologie. *Bee World* 51(3) : 125-138.
-  **Low, N.H., Vong, K.V., Sporns, P., 1986.** A New Enzyme,  $\beta$ -glucosidase, in honey. *J Apic Res.* 25 : 178–81.
-  **Lozo, J., Jovicic, B., Kojic, M., Dalgarrondo, M., Chobert, J.M., Haertle, T., Topisirovic, L., 2007.** Molecular chracterisation of a novel Bacteriocin and an unusually large aggregation factor of *lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* BGSJ2-8, a natural isolate from home made cheese. *Current Microbiology.* 55 : 266-271.
-  **Lu, J., Turnbull, L., Burke, C.M., Liu, M., Carter, D.A., Schlothauer R.C., Whitchurch, CB., Harry, E.J. 2014.** Manuka-type honeys can eradicate biofilms produced by

- Staphylococcus aureus strains with different biofilm-forming abilities. Peer J. 2, e326. doi :10.7717/peerj.326
-  **Luchese, R.H., Prudencio, E.R., Guerra, A.F. 2017.** Honey as a Functional Food, Honey Analysis, Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, IntechOpen, DOI: 10.5772/67020. Available from: <https://www.intechopen.com/books/honey-analysis/honey-as-a-functional-food>
-  **Maddocks, S.E., Jenkins, R.E., Rowlands, R.S., Purdy K.J., Cooper R.A. 2013.** Manuka honey inhibits adhesion and invasion of medically important wound bacteria *in vitro*. *Fut. Microbiol.* 8 : 1523–1536.
-  **Maddocks, S.E., Lopez, M.S., Rowlands, R.S., Cooper, R.A. 2012.** Manuka honey inhibits the development of *Streptococcus pyogenes* biofilms and causes reduced expression of two fibronectin binding proteins. *Microbiology* 158 : 781–790.
-  **MADR (Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêche. 2019.** [www.madrp.gov.dz](http://www.madrp.gov.dz)
-  **Maghraby, A.S., Hassan, S.A., 2005.** Effect of antioxidative properties of honey on Schistosomamansoni-infected mice, *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, Vol. 14/55, Number 3, 323–326.
-  **Mahendran, S., Kumarasamy, D. 2015.** Antimicrobial activity of some honey samples against pathogenic bacteria. *International Letters of Natural Sciences.* 34:15–20
-  **Majewska, E., Drużyńska, B., Wołosiak, R., 2019.** Determination of the botanical origin of honeybee honeys based on the analysis of their selected physicochemical parameters coupled with chemometric assays. *Food Sci Biotechnol.* 28 : 1307. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00598-5>
-  **Majtan, J., Bohova, J., Horniackova, M., Klaudivy, J., Majtan, V. 2014.** Anti-biofilm effects of honey against wound pathogens *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Phytother Res.* 28(1) : 69-75.
-  **Makhloufi, C., Kerkvliet, J., Scheweizer P. 2015.** Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana.* 54 (4) : 156-166.
-  **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.
-  **Makhloufi, C., Schweizer, P., Azzouzi, C., Persano Oddo, L., Choukri, A., Hocine, L., Ricciardelli D'albore, G., 2007.** Some properties of Algerian honey. *Apiacta.* 42 : 73-80.
-  **Mandal, S., Mandal, M. 2011.** Honey: Its medicinal properties and antibacterial activity. *Asian Pacif J Trop Biomed.* 1 : 154–160
-  **Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, C.L. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. 3<sup>ème</sup> Ed., Doin éditeurs, Paris.
-  **Marchenay, P., Berard, L. 2007.** L'homme, l'abeille et le miel. Edition De Borée, 223p
-  **Marchenay, P.H. 1988.** Miels, miellats, miellées. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 35<sup>e</sup> année. p 121-146.
-  **Marcucci, M.C., Toledo, D.B., Sawaya, A.C., Lopez, B., Gonçalves, I.D., Camargo, T.C., Gonçalves, C.P., 2019.** Quality control parameters, antioxidant activity and chemometrics of Brazilian honey. *Electronic J Biol*, 15:1.



-  **Marquele-Oliveira, F., Blascke, Carrão D., Oliveira, De Souza R., Ursoli, Ferreira Baptista, N., Nascimento, E.T., De Padua Moreno, G., Felipemoreira Buszinski, A., Galeti Miguel, F., Luis Cuba, G., Dos Reis, T.F.M., Lambertucci, J., Carlos Redher, B.A.A., 2017.** Fundamentals of Brazilian Honey Analysis: An Overview. <http://dx.doi.org/10.5772/67279>
-  **Martinez-Medina, M., Naves, P., Blanco, J., Aldeguer, X., Blanco, J.E., Blanco, M., Ponte, C., Soriano, F., Darfeuille-Michaud, A., and Garcia-Gil, L.J. 2009.** Biofilm formation as a novel phenotypic feature of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC). *BMC Microbiol.* 9, 202. doi:10.1186/1471-2180-9-202
-  **Martinotti, S., Ranzato, E. 2018.** Review Honey, Wound Repair and Regenerative Medicine. *Journal of Functional Biomaterials.* 9(2), 34.
-  **Massaux, C. (2014).** Polyphénols : des alliés pour la santé. Abeilles & cie, vol.4, n°149, p.3.
-  **Mastromarino, P., Brigidi, P., Macchia, S., Maggi, L., Pirovano, F., Trinchieri, V., Conte, U., Matteuzzi, D. 2002.** Characterization and selection of vaginal *Lactobacillus* strains for the preparation of vaginal tablets. *J. Appl. Microbiol.* 93 : 884–893.
-  **Mathialagan, M., Edward, Y.J.T., David P., Senthilkumar, M., Srinivasan, M., Mohankumar S. 2018.** Isolation, Characterization and Identification of Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) from Honey Bees. *International journal of current microbiology and applied sciences.* 7: 894-906.
-  **Mato, I., Huidobro, J.F., Simal-Lozano, J., 2006.** Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 1541–1550.
-  **Matta, R., Hallit, S., Hallit, R., Bawab, W., Rogues, A.M., Salameh, P., 2018.** Epidemiology and microbiological profile comparison between community and hospital acquired infections: A multicenter retrospective study in Lebanon. *J Infect Public Health.* 11(3): 405-411
-  **Matzen, R.D., Leth Espensen, J.Z., Jansson, T., Nielsen, D.S., Lund, M.N., Matzen, S. 2018.**The antibacterial Effect in Vitro of Honey Derived from Various Danish Flora. *Dermatology Research and Practice.* Art 7021713.<https://doi.org/10.1155/2018/7021713>
-  **Maurizio, A. 1939.** Microscopy of honey: crane e, ed, honey, comprehensives urvey.london.heinemann. p 240-257
-  **Maurizio, A. 1975.** Microscopy of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (Ed. E. Crane). Heinemann, London, pp. 240–57.
-  **Maurizio, A., Louveaux, J. 1970.** Méthodes d’analyse pollinique des miels. Ed. Union des groupements apicoles Français. Paris. pp : 325-330.
-  **McDonald, L.C., Shieh, D.H., Fleming, H.P., McFeeters, R.F., and Thompson, R.L. (1993).** Evaluation of malolactic-deficient strains of *Lactobacillus plantarum* for use in cucumber fermentations. *Food. Microbiology.* 10 : 489-99
-  **McInerney, R.J.F. 1990.** Honey : a remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 83 : 2-127.
-  **Mehdi, Y., Mebrek, S., Djebara, S., Aissaoui, Y., Benhamed K, Benali A.I, Benali M. Et Belbraout S. 2016.** Carcterization of honeyfrom Tiaret region and ImmunoassayStudy of Its Immunomodulatory Effect in BALB/c Mice. *Journal of Food Research.* 5 (1) : 26-32.



-  **Mekious, S., Zahia, H., Étienne, B., Carine, M., Alain, G., Thierry, H., 2015.** Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 19 (3), 221-231.
-  **Melin, E., 2011.** Botanique apicole. Ecole d'Apiculture de la Région wallonne. 19 p.
-  **Méndez, J., Iglesias, I., Jato M. V. & Aira M. J., 1997.** Variación del contenido en esporas de *Alternaria*, *Cladosporium* y *Fusarium* en la atmósfera de la ciudad de Ourense. *Polen*, 8 : 79–88.
-  **Merckoll, P., Jonassen, T.O., Vad, M.E., Jeansson, S.L., Melby, K.K. 2009.** Bacteria biofilm and honey : a study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm embedded chronic wound bacteria. *Scand. J. Infect. Dis.* 41:341–347.
-  **Miguel, M.G., Antunes, M.D., Faleiro M.L. 2017.** Honey as a Complementary Medicine. *Integr. Med. Insights.* 12 :1-15.
-  **Miquel, S. 2010.** Facteurs de virulence de *Escherichia coli* adhérents et invasifs associés à la maladie de Crohn : caractérisation et régulation de leur expression. Thèse de doctorat Biochimie, Biologie Moléculaire. Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I ; Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. 152p. HAL Id : tel-00719695
-  **Missler, J., Wiezorek, T., Beckh, G., 2016.** Mannose: a marker for adulteration with syrup or resins in blossom honey. Proceedings of the XIII international conference on the applications of magnetic resonance in food science. *Imp.* 16: 17–20.
-  **Mkrtchyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K., 2010.** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain Narine. *Int J Agents antimicrobiens.* 35(3) : 255-60.
-  **Mohammed Ahmed, E.M., Alfifi A., Aalmudawi A., Alfaifi M., Elbehairi S.E.I., Al-Bushnaq, A. 2017.** Some physicochemical properties of acacia honey from different altitudes of the Asir Region in Southern Saudi Arabia. *Czech. J. Food Sci.*, 35 (4) : 321-327.
-  **Molan, P.C. (1998).** The limitations of the methods of identifying the floral source of honeys. *Bee World.* 79 : 59-68.
-  **Molan, P.C. 1992.** The antibacterial activity of honey : 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World.* 73(1) : 5-28.
-  **Molan, P.C. 2001.** Potential of honey in the treatment of wounds and burn. *Am J Clin Dermatol.* 2(1) :13-19
-  **Molins Marín, J. L., Perealópez, F., Montillagómez, J., Mar-Tínezgómez, E., Guerrahernández E. 1995.** Caractérisation du miel d'oranger (*Citrus* sp.) produit en Espagne, au moyen de son spectre pollinique. *Lagascalia.* 18(1) : 71-82.
-  **Molodecky, N.A., Soon, I.S, Rabi, D.M., Ghali, W.A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E.I, Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H.W., Kaplan, G.G. 2012.** Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review, *Gastroenterology.* 142 (1) :46-54.
-  **Moniruzzaman, M., Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., Gan, S. H., 2011.** Advances in the analytical methods for determining the antioxidant properties of honey : a review. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM,* 9(1) : 36–42.

-  **Moniruzzaman, M., Khalil, M.I., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. 2013.** Physicochemical and antioxidant properties of malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complementary Alternative Med.* 13 : 1-12.
-  **Moore, P.D., Webb, J.A., 1978.** An illustrated guide to pollen analysis. Hodder and Stoughton, London-Sydney-Auckland-Toronto, 133 pp.
-  **Moorthy, S.N., Mathew, G. 1998.** Cassava fermentation and associated changes in physicochemical and functional properties. *Crit. Rev. Fd. Sci. Nut.*38: 73-121
-  **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.
-  **Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., Tamendjari A. 2016.** Antioxidant activity of some Algerian honey and propolis. *Indust Crop Prod.* 88 : 85-90.
-  **Murosaki, S., Muroyama, K., Yamamoto, Y., Liu, T., Yoshika, Y. 2002.** Le Nigerooligosaccharides augmente l'activité de destruction naturelle des cellules mononucléées hépatiques chez la souris. *Int Immunopharmacol.* 2 : 151 - 59.
-  **Muto, A., Osawa, S. 1987.** The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacteria evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences US.* 84(1) : 166-169.
-  **Nabti D., Achou M., Braia F.M.H., 2016.** Physicochemical study of some types of Algerian honeys. *International Journal of Medical Research & Health Sciences.* 5, (9), 8-12.
-  **Nair, S. 2014.** Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels algériens. Thèse de Doctorat en Biologie, Spécialité Biochimie, Université d'Oran, 202 p.
-  **Nair, S., Maghraoui B.N. 2017.** Physicochemical Properties of honeys Produced in North West Algeria. *Advances in Food Science and engineering.* 1(3) : 123-128.
-  **Nair, S., Meddah, B., Aoues A. 2013.** Melissopalynological characterization of north Algerian honeys. *Foods,* 2 : 83-89.
-  **Naseer, S, Khan, S.A., Azim, M.K. 2015.** Identification of cultivable bacteria from natural honey of different botanical origin. *Pak J Biochem Mol Biol.* 48 : 53–56.
-  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).
-  **Nayak, P.A., Nayak, U.A., Mythili, R. 2010.** Effect of Manuka honey, chlorhexidine gluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque. *Contemp Clin Dent.* 1(4) :214-217.
-  **Nayik G.A. et Nanda V. 2015.** Physico-Chemical, Enzymatic, Mineral and Colour Characterization of Three Different Varieties of Honeys from Kashmir Valley of India with a Multivariate Approach. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 65(2) : 101–108.
-  **Nayik, G.A., Dar, B.N., Nanda V. 2015.** Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. *Arabian Journal of Chemistry.* <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.08.017>
-  **Nombré, I., Schweitzer, P., Boussim, I.J., Millogo, J. 2010.** Rasolodimby, “Impacts of Storage Conditions on Physicochemical Characteristics of Honey Samples from Burkina Faso,” *African Journal of Food Science.* 4(7) : 458-463.

-  **Noor, N., Sarfraz, R.A., Shaukat, A., Shahid, M. 2014.** Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys. *Journal of food chemistry*. 143 : 362-366.
-  **Nordqvist, J. 2018.** Every thing you need to know about honey. *Medical News Today*. MediLexicon, Intl., 14 Feb.. Web.2 Nov. 2019. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/264667.php>
-  **Olaitan, P.B., Adeleke O.E., Ola, L.O. 2007.** Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci*. 7 (3) : 159-165.
-  **Oldak, A., Zielińska, D., Rzepkowska, A., Kolożyn-Krajewska, D. 2017.** Comparison of Antibacterial Activity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Two Different Kinds of Regional Cheeses from Poland : Oscypek and Korycinski Cheese,” *Bio Med Research International*, Article ID 6820369, 10 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/6820369>.
-  **Olofsson, T.C, Vásquez, A. 2008.** Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honey bee *Apis mellifera*. *Curr Microbiol*. 57:356–363.
-  **Olofsson, T.C., Alsterfjord, M., Nilson, B, Butler, E., Vasquez, A. 2014.** *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus melliss* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera* *Int J Syst Evol Microbiol*. 64(9) : 3109-3119
-  **Olofsson, T.C., Butler, E., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L., Vasquez, A. 2016.** Lactic acid bacterial symbionts in honeybees - an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal*. 13(5): 668-679.
-  **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.
-  **Otmani, I., Abdenmour, C., Dridi, A., Kahalerras, L., Halima-Salem, A., 2019.** Characteristics of the bitter and sweet honey from Algeria Mediterranean coast. *Veterinary world*. 12(4): 551-557.
-  **Ouchemoukh, S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biocimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaia. 90p.
-  **Ouchemoukh, S. 2012.** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaia. 90p.
-  **Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweitzer, P. 2007.** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*. 18(1) : 52-8.
-  **Ouwehand, A.C., Vesterlund, S. 2004.** Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen S., Ouwehand A., Von Wright A. (eds.). *Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects*, 3rd ed. Marcel Dekker, New York. 375–395.
-  **Oyewole, O.B., Odunfa, S.A. 1990.** Characterization and distribution of lactic acid bacteria in cassava fermentation during fufu production. *J. Appl. Bacteriol*. 68 : 145-152.
-  **Ozkok, A., Ozenirler, C., Canli, D., Mayda, N., Sorkun, K., 2018.** Monofloral Features of Turkish Honeys According to Melissopalynologic, Total Phenolic and Total Flavonoid Content. *GU J Sci*. 31(3) : 713-723.



**Özler, H., 2015.** Melissopalynological analysis of honey samples belonging to different districts of Sinop, Turkey. *Mellifera*. 15 (1) : 1-11.



**Pajor, M., Worobo, R.W., Milewski, S., Szweda, P. 2018.** The Antimicrobial Potential of Bacteria Isolated from Honey Samples Produced in the Apiaries Located in Pomeranian Voivodeship in Northern Poland. *International journal of environmental research and public health*. 15(9), 2002. doi:10.3390/ijerph15092002.



**PAP-ENPARD-Algérie. 2019.** Rapport final : mise en valeur des produits de l'apiculture locaux dans les wilayas Aïn Temouchent, Laghouat, Sétif et Tlemcen. Pp : 1-87. <http://pap-enpardalgerie.com/>



**Paramas, A.M.G., Barez, J.A.G., Marcos, C.C., Garcia-Villanova, R.J., Sanchez, J.S. 2006.** HPLC-fluorimetric method for analysis of aminoacids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chem*. 95 :146–156



**Parthasarathy, S., Steinberg, D., Witztum, J.L. 1992.** The Role of Oxidized Low-Density Lipoproteins in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Annual Review of Medicine*. 43(1) : 219-225



**Pasias, I. Kiriakou, K., Proestos, C., 2017.** HMF and diastase activity in honeys: A fully validated HPLC-MS/MS method, a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chem*. 229 : 425–431.



**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., Bogdanov, S. 2004.** Determination of honey botanical origin : problems and issues. *Apidologie*. 35 : S2-S3.



**Persano Oddo, L., Piazza, M.G., Sabatini, A.G., Accorti, M. 1995.** Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*. 26 : 453-465



**Persano oddo, L., Piro, R. 2004.** Main european uni-floral honeys : descriptive sheets, *apimondia*. 35(1) : s38–s81.



**Persano Oddo, L., Piro, R., Bruneau, E., Guyot-Declerck, C., Ivanov, T., Piskulova, J., Flamini, C., Lheritier, J., Morlot, M., Russmann, H., Von der Ohe, W., Von der Ohe, K., Gotsiou, P., Karabournioti, S., Kefalas, P., Passaloglou-Katrali, M., Thrasyvoulou, A., Tsigouri, A., Marazzan, G.L., Piana, M.L., Piazza, M.G., Sabatini, A.G., Kerkvliet, J., Godinho, J., Bentabol, A., Ortiz Valbuena, A., Bogdanov, S., Ruoff, K. 2004b.** Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*. 35 : S38-S81.



**Persano, Oddo L., Piana, L., Bogdanov, S., Bentabol, A., Gotsiou, P., Kerkvliet, J., Martin, P., Morlot, M., Ortiz, Valbuena A., Ruoff, K., Von Der Ohe, K. 2004a.** Botanical species giving unifloral honey in Europe. *Apidologie*. 35 : S82–S93.



**Persano-Oddo, L., Baldi, E., Accorti, M. 1990.** Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie*. 21 : 17–24.



**Petrus, K., Schwartz, H., Sontag, G., 2011.** Analysis of flavonoids in honey by HPLC coupled with coulometric electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem*. 400 : 2555–2563.



**Piana, M.L., Poda, G., Cesaroni, D., Cuetti, L., Bucci, M.A., Gotti, P. 1991.** Research on microbial characteristics of honey samples of Udine province. *Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment*. 20 : 293–301.

-  **Piccart, K., Vásquez, A., Piepers, S., De Vlieghe, S., Olofsson, T.C. 2016.** Short communication: Lactic acid bacteria from the honeybee inhibit the in vitro growth of mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*. 99(4): 2940–2944.
-  **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.
-  **Pontis, J. A., Costa, L.A. M.A, Silva, S. J.R., Flach, A. 2014.** Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Sci. Technol, Campinas*, 34(1): 69-73.
-  **Pourtallier, J., Taliercio, Y. 1970.** Les caractéristiques physicochimiques des miels en fonction de leur origine florale. 1. Application à un projet pour les grandes variétés de miels. *Bull. Aic. Doc. Sci. Techn. Inf.* 13 : 58-68.
-  **Powthong, P., Suntornthiticharoen, P., 2015.** Isolation, Identification and Analysis of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria from Selective Various Traditional Thai Fermented Food and Kefir. *Pakistan Journal of Nutrition*. 14 (2), 67.
-  **Prestinaci, F., Pezzotti, P., Pantosti, A. 2015.** Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*. 109(7):309-318
-  **Pulido, R.P., Omar, N.B., Abriouel, H., López, R.L., Canamero, M.M. and Gálvez. 2005.** Microbiological study of lactic acid fermentation of caper berries by molecular and culture dependant methods. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 : 7872-7879
-  **Punt, W., Clarke, G.C.S. 1980.** The Northwest European Pollen Flora. Ed. Elsevier, T II, Amsterdam, The Netherlands, 265 pp.
-  **Punt, W., Blackmore, S. 1991.** The Northwest European Pollen Flora. Ed. Elsevier, T VI, Amsterdam, The Netherlands, 275 pp.
-  **Punt, W., Clarke G.C.S. 1984.** The Northwest European Pollen Flora. Ed. Elsevier, T VI, Amsterdam, The Netherlands, 369 pp.
-  **Punt, W., 1976.** The Northwest European Pollen Flora. Ed. Elsevier, T I, Amsterdam, The Netherlands. 145 pp.
-  **Punt, W., Blackmore, S., Clarke, G.C.S. 1988.** The Northwest European. Pollen Flora. Ed. Elsevier, T VI, Amsterdam, The Netherlands, 154 pp.
-  **Quézel, P., Santa, S. 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Ed. du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 565 p.
-  **Rabeharifara, Z.P. 2011.** Caractérisation alimentaire des miels malgaches en vue d'une authentification : cas des miels d'eucalyptus. Mémoire de fin d'étude. Université d'Antananarivo, faculté des Sciences, Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition.
-  **Rabiet, E. 1984.** Plantes mellifères, plantes apicoles : Rapport entre les plantes et l'abeille domestique, Edition RABIET, 424p.
-  **Raessi, A.M., Aslani, J., Raessi N., Gharaie H., Karimi, Z.A.A., Raessi, F. 2013.** Honey plus coffee versus systemic steroid in the treatment of persistent post-infectious cough : A randomised controlled trial. *Primary Care Respiratory Journal*. 22 : 325–330



-  **Rahal, K., Belouni, R., Tali-Maamar, H., Boudouane, M., Missoum, M.F.K., Benslimani, A. 2015.** Rapport d'évaluation : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Rapport d'activités, Institut Pasteur, Algérie, pp 277.
-  **Rangberg, A., Mathiesen, G., Amdam, G.V., Diep, D.B. 2015.** The paratransgenic potential of *Lactobacillus kunkeei* in the honeybee *Apis mellifera*. *Benef. Microbes*. **6** : 513–523.
-  **Rani, G.N., Budumuru, R., Bandaru, N.R., 2017.** Antimicrobial Activity of Honey with Special Reference to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). *J Clin Diagn Res*. **11**(8), DC05-DC08.
-  **Rebiai, A., Lanez, T., Chouikh, L., 2015.** Physicochemical and biochemical properties of honeybee products in South Algeria. *St. Cerc. St. CICBIA*. **16** (2), 133-142.
-  **Reille, M. 1990.** Leçon de palynologie et d'analyse pollinique. CNRS Paris, 163 pp. [http://www.arbres-lozere.fr/wa\\_files/NOUVELLES-LECONS-DE-PALYNOLOGIE.pdf](http://www.arbres-lozere.fr/wa_files/NOUVELLES-LECONS-DE-PALYNOLOGIE.pdf)
-  **Reille, M., Pons, A. 1990.** Leçons de palynologie et d'analyse pollinique. *Ecologia mediterranea*. **16** : 169-193.
-  **Renault-Miskovsky, J., Marguerie, D. 1992.** Evolution de la végétation sous l'impact humain en armorique, du néolithique aux périodes historiques. *Quaternaire*, **3**(3) : 154-155.
-  **Ricciardelli A'Albore G., Vorwohl G., 1980.** Sortenhonige im mittelmeergebiet, rivista agricoltura subtropicale e tropicale **74** : 89–118.
-  **Ricciardelli D'Albore, G. 1998.** Mediterranean Melissopalynology. Perugia: Institute of Agricultural Entomology, University of Perugia.
-  **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.
-  **Roberts, A.E., Maddocks S.E., Cooper, R.A. 2012.** Manuka honey is bactericidal against *Pseudomonas aeruginosa* and results in differential expression of *oprF* and *algD*. *Microbiology*. **158** : 3005–3013.
-  **Rodgers, S., 2001.** Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures : a review. *Trends FoodSci. Technol*. **12** : 276-284.
-  **Rodgers, S., 2003.** Potential applications of protective cultures in cook-chill catering. *Food Control*. **14**(1) : 35-42
-  **Rodriguez, B.A., Mendoza, S., Iturriga, M.H., Castaño-Tostado, E. 2012.** Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys *Journal of Food Science*. **71** : 121-127.
-  **Rodríguez, I., Salud, S., Hortensia, G., Luis, U. J., & Jodral, M. 2010.** Characterisation of Sierra Morena citrus blossom honey (*Citrus* sp). *International Journal of Food Science & Technology*. **45**(10), 2008-2015.
-  **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.
-  **Rogers, K.M. 2017.** Melissopalynologie et caractérisation physico-chimique des miels de la Polynésie Française. Lower Hutt (NZ): GNS Science. 171p. (GNS Science international consultancy report 2017/05F).



-  **Rossant, A. 2011.** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Nb thèse de doctorat, université de Limoge faculté de pharmacie. 32p
-  **Rozaini, M.Z., Zuki, A.B.Z., Noordin, M., Norimah., Y., Nazrul-Hakim, A. 2004.** The effects of different types of honey on tensile strength evaluation of burn wound tissue healing. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med.* 2(4) : 290-296.
-  **Rozanska, H. 2011.** Microbiological quality of polish honey. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 55(3): 443–445.
-  **Ruiz-Argueso, T., Rodriguez-Navarro, A. 1975.** Microbiology of ripening honey. *Appl Microbiol.* 30(6):893–896.
-  **Ruiz-Barba, J.L, Cahtcart, D.P, Warner, P.J, Jimenez-Diaz, R.1994.** Use of *Lactobacillus plantarum* LPCO10 a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish-style green olive fermentations. *Appl Environ Microbiol.* 60 : 2059–2064
-  **Sabariago, S., Diaz, C., Alba, F. 2004.** Estudio aerobiológico de los conidios de *Alternaria* Clados poriumen la atmósfera de laciudad de Almeria (SE de Espana). *Revista Iberoamericanade Micología.* 21 : 121-127.
-  **Saidi, N., Hadadji, M., Guessas, B. 2011.** Screening of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from West Algerian Goat's Milk. *Global J. Biotechnol. Bioch.* 6 (3) : 154-16.
-  **Saitou, N., Nei, M. 1987.** The neighbor-joining method : A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution.* 4 : 406-425.
-  **Sajid, M., Yamin, M., Asad, F., Yaqub, S., Ahmad S., Ali, M., Mubarik, M.S., Ahmad B., Ahmad W., Qamer S. 2019.** Comparative study of physio-chemical analysis of fresh and branded honeys from Pakistan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(40) : 30. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.01>.
-  **Sakai, D. 1987.** Adhesion of *Aeromonas salmonicida* strains associated with net electrostatic changes of host tissue cells. *Infect Immun.* 55 :704-710.
-  **Saleh, O.M., Soliman, M.M., Ahmed, A.K., Mansour, A.A.K., Abdel-Hamid O.M. 2013.** Protective Effects of Propolis on Gamma- Irradiated *Nigella sativa* Extract Induced Blood and Immune Changes in Wistar Rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology.* 9 (2): 162-171.
-  **Sanger, F., Nicklen, S. et Coulson, AR. 1977.** Séquençage de l'ADN avec des inhibiteurs de terminaison de chaîne. *Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis d'Amérique.* 74 (12) : 5463-5467.
-  **Saraiva, M., Cunha, I.C., Conito, C.C., Pena, C., Toscano, M.M., Lopes, T.T., Sousa, I., Calhau, M.A. 2012.** First case of infant botulism in Portugal. *Food Control.* 26 :71–90.
-  **Sarwar, R., Farooq, U., Khan, A., Naz, S., Khan, S., Khan, A., Rauf, A., Bahadar Hand Uddin, R. 2015.** Evaluation of Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activity of *Quercus incana* Roxb. *Front. Pharmacol.* 6:277.doi: 10.3389/fphar.2015.00277
-  **Schade, J.E., Marsh, G.L., Eckert, J.E. 1958.** Diastase activity and hydroxy-methyl-furfural in honey and their use fulness in detecting heat alteration. *Food Res.* 23(5) : 446-463
-  **Scherer, R., Godoy, H.T. 2009.** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry.* 112(3) : 654-658.

-  **Schley, P.D., Field, C.J. 2002.** Les effets de renforcement des défenses immunitaires des fibres alimentaires et des prébiotiques. *Brit J Nutr.* 87 : 221–230
-  **Schweitzer, P. 2005.** Encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France* N°917. laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 03p.
-  **Schweitzer, P., Nombre, I., Boussim, J.I. 2013.** Honey Production for Assessing the Impact of Climatic Changes on Vegetation. *Tropicultura.* 2 : 98-102.
-  **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
-  **Seijo, M.C., Aira, M.J., Mendez, J. 2003.** palynological difference in pollen content of *eucalyptus* honey from australia, portugal and spain. *grana.* 42 :183–190.
-  **Seijo, M.C., Escuredo, O., Fernández-González, M. 2011.** Fungal diversity in honeys from northwest Spain and their relationship to the ecological origin of the product. 50(1) : 55-62
-  **Seijo, M.C., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M.S. 2019.** Physicochemical Properties and Pollen Profile of Oak Honeydew and Evergreen Oak Honeydew Honeys from Spain : A Comparative Study. *Foods.* 8, 126.
-  **Seijo-Rodríguez, A. 2017.** Caracterización de variedades de patata y seguimiento aerobiológico y fenológico para la predicción de *Phytophthora infestans* (Mont.) *Tesis Doctoral.* de Bary 2017. Université de vigo.
-  **Selvaraju K, Vikram P, Soon JM, Krishnan KT, Mohammed A. 2019.** Melissopalynological, physicochemical and antioxidant properties of honey from West Coast of Malaysia. *J Food Sci Technol.* 56(5) : 2508–2521.
-  **Sharma, C., Singh, B. P., Thakur, N., Gulati, S., Gupta, S., Mishra, S. K., Panwar, H. 2017.** Antibacterial effects of Lactobacillus isolates of curd and human milk origin against food-borne and human pathogens. 3 *Biotech,* 7(1), 31.
-  **Sherlock, O., Dolan, A., Athman, R, Power A, Gethin., G, Cowman, S., Humphreys, H. 2010.** Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli and pseudomonas aeruginosa. *BMC Complement Altern Med.,*10: 47. doi:10.1186/1472-6882-10-4
-  **Silici, S., Gökceoglu, M. 2007.** Pollen analysis of honeys from Mediterranean region of Anatolia. *Grana.* 46:57–64.
-  **Silva, L. R., Sousa, A., Taveira, M. 2017a.** Characterization of Portuguese honey from Castelo Branco region according to their pollen spectrum, physicochemical characteristics and mineral contents. *Journal of food science and technology.* 54(8) : 2551–2561.
-  **Silva, M.S., Rabadzhiev, Y., Eller, M.R., Iliev, I., Ivanova, I., Santana, W.C. 2017b.** Microorganisms in Honey. *Intech,* editor. Honey Analysis: Toledo VA. p. 233-258.
-  **Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O.C., Fett, R. 2016.** Honey : Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry.* 196 : 309-323.
-  **Simenel R., ADAM A. CROUSILLES A., AMZIL L. Aumeeruddy T.Y. 2015.** La domestication de l'abeille par le territoire. *Techniques & Culture.* 1 : 258-279.

-  **Simsek, A., Bilsel, M., Goren Ahmed, C. 2012.** 13C/12C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EAIRMS. *Food Chemistry*. 130(4) : 1115-1121.
-  **Sinacori, M., Francesca N., Alfonso, A., Cruciata, M., Sannino, C., L. Settanni, Moschetti, G. 2014.** Cultivable microorganisms associated with honeys of different geographical and botanical origin. *Food Microbiol.* 38:284–294.
-  **Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and viticulture*, 16(3) : 144-158.
-  **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
-  **Skender, K. 1972.** Situation actuelle de l'apiculture algérienne et ses possibilités de développement. Mémoire. Ing. Insti Nati Agro, El-Harrach. pp 12-54
-  **Skowronek, W., Rybak, C.H., Szczesna, T., Pidek, A. 1994.** Study of optimum conditions for slowing down the crystallization of honey. *Pszczelnictwo Zeszyty Naukowe*. 38 : 75
-  **Snowdon, J.A., Cliver, D.O. 1996.** Microorganisms in honey. *Int J Food Microbiol.* 31 :1–26.
-  **Soares, S., Amaral, J.S., Oliveira, M.B.P.P., Mafra, I. 2015.** Improving DNA isolation from honey for the botanical origin identification. *Food Control*. 48 : 130-136.
-  **Somme, L., Mayer, C., Jacquemart, A.L. 2013.** Impacts de la structure spatiale sur la pollinisation du comaret (*Comarum palustre* L.) suivant une approche multiscalaire. In *Ecoveg9-Colloque d'écologie des communautés*. (Tours, France, du 03/04/2013 au 05/04/2013). <http://hdl.handle.net/2078.1/138984>.
-  **Song, X.Y, Yao, Y.F, Yang, W.D. 2012.** Pollen analysis of natural honeys from the central region of Shanxi, North China. *Plos One* 7(11) : e49545.
-  **Sousa, J.M., de Souza, E.L., Marques, G., Meireles, B., de Magalhães Cordeiro, Â.T., Gullón, 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 Res. Int.* 84 : 61-68.
-  **Stagos, D., Soulitsiotis, N., Tsadila, C., Papaeconomou, S., Arvanitis, C., Ntontos, A., Mossialos, D. 2018.** Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece. *International journal of molecular medicine*, 42(2), 726–734.
-  **Stanley, R.G et Linskens, H.F. 1974.** Pollen Biology, biochemistry, management. *Springer Verlag, New York*. 100-109
-  **Steffan-Dewenter, I., Kuhn, A. 2003.** Honeybee foraging in differentially structured landscapes, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1515, 569–575.
-  **Steinkraus, K.H. 1995.** Handbook of indigenous fermented foods, Dekker New York NY.
-  **Stephens, J.M., Schlothauer, R.C., Morris, B. D., Yang D., Fearnley, L., Greenwood, D.R., Loomes, K.M. 2010.** Phenolic compounds and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys. *Food Chemistry*. 120 : 78-86.
-  **Stiles, M.E., Holzapfel, W. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36(1) : 1-29

-  **Stone, H.H., Martin J.D. 1969.** Pulmonary injury associated with thermal burns. Surg.Gynecol. Obstet. 129, 1242.
-  **Streit, F., Corrieu, G., Béal C., 2007.** Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* CF11. *J. Biotechnol.* **128** : 659-667
-  **Subrahmanyam, M. 1991.** Topical application of honey in treatment of burns. British Journal of Surgery. 78 (4) : 497-498
-  **Subrahmanyam, M.A. 1998.** Prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. Burns. 24(2) :157-161.
-  **Sutra, L., Federighi, M., Jouve, J.L. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Ed: Polytechnica, Paris, 308(6): 31-249.
-  **Tabak, S., Medouakh, L., Adda, M., Chekroun, A., Krantar, K., Bensoltane, A. 2007.** Interaction between *Helicobacter pylori* responsible for diseases gastro-duodenal and Bifidobacteria. Egypt. J. App. Sci., 22 : 72-83.
-  **Tajabadi, N., Mardan, M., Abdul Manap, M., Shuhaimi, M., Meimandipour, A., Nateghi, L. 2011.** Detection and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata*. Apidologie, Springer Verlag, 42 (5) : 642-649.
-  **Tajabadi, N., Mardan, M., Manap, A.M. and Shuhaimi, M. 2013.** Molecular identification of *Lactobacillus* spp. isolated from the honey comb of the honey bee (*Apis dorsata*) by 16S rRNA gene sequencing. Journal of Apicultural Research. 52(5): 235-241.
-  **Tanigawa, K., Kawabata, H. and Watanabe, K. 2010.** Identification and typing of *Lactococcus lactis* by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol.* 76 : 4055– 4062.
-  **Tapia-Campos, E., Saucedo, M., Ramirez-Anaya, J., Macias, J. 2017.** Physical-chemical characterization, phenolic content and consumer preference of *Apis mellifera* honey in southern Jalisco, Mexico. *Interciencia.* 42(9) :603–609.
-  **Terrab, A., Diez, M.J., Heredia, F.J. 2002.** Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry.* 79 : 337-73.
-  **Terrab, A., González-Miret, L., Heredia, F.J. 2004.** Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. *Eur. Food Res. Technol.* 218 : 488-492.
-  **Terrab, A., Heredia F.J. 2004.** Characterization of avocado (*Persea americana* Mill) honeys by their physicochemical characteristics. *J. Sci. Food Agric.* 84 : 1801–1805.
-  **Tonks, A.J., Cooper, R.A., Jones, K.P., Blair, S., Parton, J. and Tonks, A. 2003.** Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine.* 21(5) : 242-247.
-  **Tossou, M. G., Yedomonhan, H., Azokpota, P., Akoegninou, A., Doubogan, P., & Akpagana K. 2011a.** Analyse pollinique et caractérisation phytogéographique des miels vendus à Cotonou (Bénin). *Cahier d'Agriculture.* 20 :500-508
-  **Touati, A., Benallaoua, S., Forte, D., Madoux, J., Brasme, L., and De Champs, C. 2006.** First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 B-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Béjaia, Algeria. *Int J Antimicrob Agents.* 27 : 397–402.

-  **Tropcheva, R., Nikolova, D., Evstatieva, Y., Danova, S. 2014.** Antifungal activity and identification of lactobacilli isolated from traditional dairy product Katak. *Anaerobe*. 28 : 78-84.
-  **Tsigouri, A., Passaloglou-Katrali, M., & Sabatakou, O. 2004.** Palynological characteristics of different unifloral honeys from Greece. *Grana*. 43(2) : 122-128.
-  **Tuberoso, C.I.G., Jerković, I., Sarais, G., Congiu, F., Marijanović, Z., Kuš, P.M. 2014.** Colorevaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE chromaticity coordinates. *Food Chemistry*. 145 : 284-291.
-  **Turksitha, L., Chen, Y.L.S., Wong, K et Peng, C.C. 2018.** Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 21(2) : 563-570
-  **Tysset, C., Rousseau, M. 1981.** Problem of microbes and hygiene of commercial honey. *Rev. Med. Vet.-Toulouse*. 132 : 591-600.
-  **Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., Kumon, H. 2006.** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*. 28 : 30-34.
-  **UNAF. 2011.** L'abeille, l'arbre et la forêt. Abeilles et Fleurs, 2011, hors-série Spécial, pp.6-7
-  **USDA. 1985.** United States standards for grades of extracted honey. Retrieved from <http://www.honey.com/images/downloads/exhoney.pdf>. Accessed 22 Dec 20
-  **Ustunol, Z., Gandhi, H. 2001.** Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in honey-sweetened skim milk. *Journal of Food Protection*. 64 : 1775–1779
-  **Valdés, B., Díez, M. J., & Fernández, I. 1987.** *Atlas polínico de Andalucía Occidental*. Instituto de Desarrollo Regional. Universidad de Sevilla, España, 450pp.
-  **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.
-  **Vasiee, A.R., Yazdi, T.F., Mortazavi, A., Edalatian, M.R. 2014.** Isolation, identification and characterization of probiotic *Lactobacilli* spp. from Tarkhineh. *International Food Research Journal*. 21(6) : 2487-2492
-  **Vasquez, A., Forsgren E., Fries, I., Paxton, R.J., Flaberg E., Szekely L., Olofsson T.C. 2012.** Symbionts as major modulators of insect health : lactic acid bacteria and honey bees. *PLOS ONE*. 7 (3), e33188.
-  **Vasquez, A., Tolbias, C., Olofsson, Diana Sammataro. 2009.** A scientific note the lactic acid bacterial flora in honey bees in the USA – A comparison with bees from Swiden. *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.
-  **Vinod Kumar, J., Somesh, S., Neerja, S. 2006.** Production, purification, stability and efficacy of bacteriocin from isolated of Natural Lactic acid fermentation of vegetables. *Food technology and Biotechnology*, 44 (3) : 435- 439.



-  **Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., Jang J. 1995.** Plant flavonoids, especially teate Flavonols are powerful antioxidants sing in vitro antioxidants model for heart disease. *J.Agr. Food Chem.* 43 : 2800–2802
-  **Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernadez-lopez J., Perez-Alvarez, JA. 2008.** Functionnal properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci.* 73(9) :117-24.
-  **Von der Ohe, W., Persano-Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M., Martin, P. 2004.** Harmonizedmethods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, S18-S25.
-  **Walter, H. L., Prathibha, V., & Vincent, E. 1983.** *Airborne and allergenic pollen of North America*. Johns Hopkins SeriesUniversityPress, Universidad deMichigan, USA, 288 pp.
-  Wang, M., Zhao, W.Z., Xu, H., Wang, Z.W., He, S.Y. 2015. Bacillus in the guts of honeybees (*Apis mellifera*;Hymenoptera: Apidae) mediate changes in amylase values. *Eur. J. Entomol.* 112: 619–624.
-  **Welker, Martin, E.T Mooreedward, R.B., 2011.** Applications of whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in systematic microbiology *Systematic and applied microbiology.* 34 (1) : 2-11.
-  **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, H. 1964.** Etudes sur le miel inhibé. 3 Effet de la chaleur, *Journal of Apicultural Research.* 3 (1) : 45-50
-  **Wilson, A.R., Sigee, D., Epton, H.A.S. 2005.** Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum*strain SK1 against *Listeria monocytogenesis* due to lactic acid production. *J. Appl. Microbiol.* 99: 1516-1522
-  **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.** Bacterialevolution. *Microbiol Rev.* 51 : 221-271
-  **Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J., Fox, G.E. 1985.** A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst Appl Microbiol.* 6 : 143-151.
-  **Wong, H.C., Chen, Y.L. 1988.** Effects of lactic acid bacteria and organic acids on growth And germination of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 2179-2184.
-  **Wu, N.I., Fang J.y., Chen M., Wu, C.J., Huang, C.C, Hung, C.F. 2011.** Chrysin protects epidermal keratinocytes from UVA- and UVB- induced damage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15) : 8391-8400.
-  **Yang E, Fan L, Jiang Y, Doucette C, Fillmore S. 2012.** Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express.* 2:48–59
-  **Yang, Y. 2014.** Qualification des miels de Corse par une approche multifactorielle : diversité pollinique et variabilité chimique. Autre. Université Pascal Paoli, 2014. Français. NNT : 2014CORT0009. tel-01258188
-  **Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. 2008.** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.,* 3 : 194-199





**Zander, E. 1935.** Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig, Band I: Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig mit besonderer Berücksichtigung des deutschen Trachtgebietes, Verlag der ReichsfachgruppeImker e.V., Berlin.



**Zander, E. 1941.** Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig, Band III: Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig. Ergänzungsband, Verlag Liedloff, Loth & Michaelis, Leipzig



**Zander, E. 1951.** Beiträge Zur Herkunftsbestimmung. Bei honig 5. Liedloff, Loth und Michaelis, Leipzig; 44p.



**Zappala, M., Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. 2005.** Methods for the determination of HMF in honey : a comparison. Food Control. 16 : 273-277.



**Zerrouk, S. 2014.** : Analyse Pollinique et Physico-chimique de quelques échantillons de miel du centre Algérie. Thèse de Doctorat, Univ Annaba ,183p.



**Zerrouk, S., Seijo, M.K., Boughediri, L., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M.C. 2014.** Palynological characterisation of Algerian honeys according to their geographical and botanical origin. Grana Journal. 53(2): 147-158



**Zhou, J., Suo, Z., Zhao, P., Cheng, N., Gao, H., Zhao, J., Cao, W. 2013.** Jujube honey from China : Physicochemical characteristics and mineral contents. Journal of Food Science. 78(3), C387–C394.

---

# Annexes

---





### Annexe.1 : Spectre pollinique des miels algériens

| N° | >45 % (D)             | 16 -45 % (A)                                                 | 3 -15 % I                                                                                                                                                                | 3-1 % (R)                                                                                                                                        | N° pollens |
|----|-----------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 01 | -                     | Capparis 24,4,<br>Paronychia argentea t<br>28.2              | Olea europea* 4,3, Melilotus t4,3, Brassica napus T 12<br>Echium2.9, Chrysanthemum t 3.8                                                                                 | Echium, Papaver rhoeas t , Hedysarum coronarium ,<br>Foeniculum vulgare t , autre Apiaceae, Eucalyptus ,<br>Smilax                               | 21         |
| 02 | -                     | Olea europea* 35.6                                           | Chrysanthemum t 7.4, Brassica napus t 6.5, Paronychia argentea<br>t 11.3, Papaver rhoeas t 11.3 ; Citrus 11.3                                                            | Echium, Sinapis alba t, Convolvulus, Eucalyptus                                                                                                  | 20         |
| 03 | Genista t 58.8        | Olea europea* 35.7                                           | <b>Centaurea t 5.3</b>                                                                                                                                                   | Eucalyptus, Chrysanthemum t, Citrus                                                                                                              | 12         |
| 04 | -                     | Genista t 30,8                                               | Centaurea t 10.8, Chrysanthemum t 7.5, Echium 4, Brassica<br>napus t 10.2, Convolvulus 4, Olea europea* 12.9, Citrus 12.7,<br>Tamarix                                    | Eucalyptus                                                                                                                                       | 15         |
| 05 | Foeniculum vulgare 82 | -                                                            | Echium3,1, Genista t 4,4,                                                                                                                                                | Paronychia argentea t, Eucalyptus, autre Brassicaceae                                                                                            | 12         |
| 06 | Olea europea* 82      | -                                                            | Tamarix 7,9, Citrus 4                                                                                                                                                    | Sinapis alba t                                                                                                                                   | 12         |
| 07 | -                     | Olea europea* 16,9M                                          | Brassica napus t 15.2 ,Foeniculum vulgare type 7 , Ceratonia<br>siliqua 3,5 , Genista t 3,6 , Hedysarum coronarium 6 ; Punica<br>granatum 4,9 , Rubus 7.3 , Citrus 5,6 , | Echium, Pistacia , Otherfabaceae, Trifolium repens t ,<br>Phacelia , Centaurea t, Sinapis alba t, Taraxacum<br>officinale t, Phoenix dactylifera | 34         |
| 08 | Eucalyptus 54         |                                                              | Foeniculum vulgare t 8, Centaurea t 8.8 , Olea europea* 13,6                                                                                                             | Acacia, Hedysarum coronarium, Chenopodium t,<br>Phacelia                                                                                         | 30         |
| 09 | -                     | Eucalyptus 17,8,<br>Tamarix 28,85                            | Coriandrum sativum t 8,5, Artemisia t 5,7 , Centaurea t 4,7 ,<br>Echium 6 , Plantago 4                                                                                   | Foeniculum vulgare, Pimpinellaanisum t, Sinapis alba t<br>, Olea europea*, Genista t                                                             | 23         |
| 10 | Eucalyptus 69         |                                                              | Quercus 4.8 ,Hedysarum coronarium, Genista t 8.4                                                                                                                         |                                                                                                                                                  | 12         |
| 11 | Punica granatum 48,6  |                                                              | Ziziphus lotus 14.8, Eriobotrya japonica 3,1 ,                                                                                                                           | Brassicapapus t, Eucalyptus, Centaurea t Acacia<br>,Echium, Sinapis alba t,                                                                      | 23         |
| 12 |                       | Eucalyptus 43                                                | Ziziphus lotus 12, Coriandrum sativum t 5.3 , Foeniculum<br>vulgare t 9.6 , Thapsia garganica 4.5 , Brassicanapus t 4.7 ,<br>Papaver rhoeas t 3.1 ,                      | Melilotus t, Thymus t, Plantago, Pimpinella anisum t                                                                                             | 35         |
| 13 |                       | Coriandrum sativum t<br>27,6, Ziziphus lotus<br>22,3         | Convolvulus 14,3, Genista t 5,9, Melilotus t 3,9 , Onobrychis 3.4<br>,                                                                                                   | Cistus, Phoenix dactylifera, Foeniculum vulgare t,<br>Chenopodium t                                                                              | 21         |
| 14 | -                     | Tamarix 29,27,<br>Hedysarum coronarium<br>19,4, Eucalyptus19 | Capparis9,3, Ziziphus lotus 6.3                                                                                                                                          | Coriandrum sativum t, Pimpinella anisum t, Other<br>Brassicaceae, Apiumno diflorum t                                                             | 18         |
| 15 | -                     | Eucalyptus 28,                                               | Echium5,5, Brassicanapus t 11.2 , Paronychia argentea t 14.7 ,<br>Olea europea* 12,1 , Galegaofficinalis 4.4                                                             | Muscari comosum, Centaurea t , Chrysanthemum t                                                                                                   | 34         |
| 16 |                       | Olea europea* 31,                                            | Schinus molle t 10,4, Artemisia t 3.6 , Eucalyptus 10.6 , Punica<br>granatum8.7 , Echium3.4 , Sinapis alba t 7.8, Acacia 4.5 ,                                           | Citrus, Pistacia, Brassicanapus t, Lantana t, Euphorbia<br>t                                                                                     | 32         |



|    |                                 |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                       |    |
|----|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 17 | <i>Brassica napus</i> type 75,1 |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                              | <i>Ziziphus lotus</i> , <i>Phacelia</i> , <i>Olea europea*</i> , <i>Pimpinella anisum</i> t, <i>Punicagranatum</i> , <i>Melilotus</i> t, <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Malus</i> t                                      | 18 |
| 18 |                                 | <i>Capparis</i> 36,7, <i>Eucalyptus</i> 19,7, <i>Chamaerops</i> 17,6           | <i>Centaurea</i> type 6,1                                                                                                                                                                                                                                    | -                                                                                                                                                                                                                     | 21 |
| 19 |                                 | <i>Ziziphus lotus</i> 31, <i>Centaurea</i> t 22, <i>Echium</i> 18,2            | <i>Cichorium</i> t 4, <i>Olea europea*</i> 4,6, <i>Papaver rhoeas</i> t 05,9, <i>Eriobotrya japonica</i> 3,3                                                                                                                                                 | <i>Autre fabaceae</i> , <i>Brassica napus</i> t, <i>Capparis</i> , <i>Cistus</i> , <i>autre Astreacea</i>                                                                                                             | 14 |
| 20 | <i>Eucalyptus</i> 56            |                                                                                | <i>Olea europea*</i> 8,3, <i>Acacia</i> 3,4, <i>Punica bgranatum</i> 5,2, <i>Tamarix</i> 4,3                                                                                                                                                                 | <i>Paronychia argentea</i> t, <i>Melia azedarach</i> <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Citrus</i> , <i>Ceratonia siliqua</i> , <i>Poaceae</i>                                                                               | 20 |
| 21 |                                 | <i>Melilotus</i> t 24,8                                                        | <i>Eucalyptus</i> 10,2, <i>Foeniculum vulgare</i> t 11,1, <i>Brassica napus</i> t 7,6, <i>Ceratonia siliqua</i> 7,2,                                                                                                                                         | <i>Poaceae</i> , <i>Smilax</i> , <i>Convolvulus</i> , <i>Pistacia</i> , <i>Sinapis alba</i> t, <i>Chamaerops</i> , <i>Tamarix</i> , <i>Buxus sempervirens</i>                                                         | 26 |
| 22 | <i>Ziziphus lotus</i> 59,6      | -                                                                              | <i>Tamarix</i> 3,6, <i>Foeniculum vulgare</i> t 3,4, <i>Ceratonia siliqua</i> 3,6                                                                                                                                                                            | <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Peganum harmala</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Cistus</i>                                                                                            | 32 |
| 23 |                                 | <i>Foeniculum vulgare</i> t 38,3, <i>Ziziphus lotus</i> 38,8,                  | <i>Ammi majus</i> t 4,7; <i>Coriandrum sativum</i> t 4,4                                                                                                                                                                                                     | <i>Tamarix</i> , <i>Olea europea*</i>                                                                                                                                                                                 | 28 |
| 24 |                                 | <i>Olea europea*</i> 37,2, <i>Z. Lotus</i> 22,4,                               | <i>Pimpinella anisum</i> t 7,2, <i>Malus</i> t 3,2, <i>Trifolium repens</i> t 6,2                                                                                                                                                                            | <i>Peganum harmala</i> , <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Eucalyptus</i> , <i>Brassica napus</i> t, <i>Pistacia</i> , <i>Onobrychis</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t                                                      | 23 |
| 25 | <i>Eucalyptus</i> 50,5          | -                                                                              | <i>Punicagranatum</i> 8,4, <i>Ziziphus lotus</i> 5,6 <i>Carduus</i> t 3,4, <i>Pimpinella anisum</i> t 3,7                                                                                                                                                    | <i>Peganum harmala</i> , <i>Phacelia</i> , <i>Brassica napus</i> t, <i>autre Brassicaceae</i> , <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t                                                                 | 26 |
| 26 |                                 | <i>Punica granatum</i> 42,36                                                   | <i>Echium</i> 8,33, <i>Eucalyptus</i> 7,64, <i>Papaver rhoeas</i> t 6,25, <i>Genista</i> t 5,56, <i>Malus</i> t 5,56, <i>Carduus</i> t 3,47                                                                                                                  | <i>Peganum harmala</i> , <i>Other Apiaceae</i> , <i>Artemisia</i> t, <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Others</i> ; <i>Brassic napus</i> t, <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Foeniculum vulgare</i> t, <i>Poaceae</i> , | 21 |
| 27 |                                 | <i>Eucalyptus</i> 21,12                                                        | <i>Hedysarum coronarium</i> 15,53, <i>Punica granatum</i> 12,22, <i>Melilotus</i> t 11,80, <i>Ononis natrix</i> 10,35, <i>Erica arborea</i> 4,76, <i>Echium</i> 3,73, <i>Genista</i> t 3,52, <i>Borago officinalis</i> 3,11, <i>Ailanthus altissima</i> 3,11 | <i>Malus</i> t, <i>Pimpinella anisum</i> t, <i>Phacelia</i> , <i>Capparis</i>                                                                                                                                         | 24 |
| 28 |                                 | <i>Foeniculum vulgare</i> 29,85, <i>Phacelia</i> 17,60, <i>Myrtaceae</i> 17,35 | <i>Ziziphus lotus</i> 10,20, <i>Eucalyptus</i> 9,69                                                                                                                                                                                                          | <i>Peganum harmala</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> t, <i>Erica arborea</i> , <i>Thapsia garganica</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Chenopodium</i> t                                                                 | 23 |
| 29 |                                 | <i>Tamarix</i> 37,02                                                           | <i>Melilotus</i> t 15,61, <i>Echium</i> 13,81, <i>Pimpinella anisum</i> t 10,64, <i>Foeniculum vulgare</i> t 9,12, <i>Quercus</i> 5,25                                                                                                                       | <i>Onobrychis</i> , <i>Cistus</i> , <i>Ziziphus lotus</i>                                                                                                                                                             | 21 |
| 30 |                                 | <i>Ziziphus lotus</i> 41,51                                                    | <i>Echium</i> 6,79, <i>Pimpinella anisum</i> t 6,60, <i>Tamarix</i> 6,23, <i>Cichorium</i> t 5,09, <i>Coriandrum sativum</i> t 4,34, <i>Olea europaea</i> 4,15, <i>Thapsia garganica</i> 3,0, <i>Centaurea</i> t 3,02                                        | <i>Genista</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> t, <i>Phacelia</i> , <i>Onobrychis</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Brassica napus</i> t,                               | 30 |
| 31 |                                 | <i>Eucalyptus</i> 32,48, <i>Melilotus</i> t 25,64                              | <i>Tamarix</i> 14,53, <i>Olea europea*</i> 8,55, <i>Pimpinella anisum</i> t 3,70                                                                                                                                                                             | <i>Genista</i> t, <i>Acacia</i> , <i>Capparis</i> , <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Phoenix dactylifera</i> ,                                                                                                         | 23 |



## Annexes

|    |                                   |                                                      |                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                           |    |
|----|-----------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 32 | <i>Ziziphus lotus</i> 81,50       |                                                      | <i>Brassica napust</i> 3,61                                                                                                                                                                                                | <i>Apiumno diflorum t</i> , <i>Raphanus rapahnistrum t</i> ,<br><i>Lamiaceae</i> , <i>Peganum harmala</i> , <i>Coriandrum sativum t</i> ,<br><i>Pimpinellaanistum t</i> , | 25 |
| 33 | <i>Olea europea*</i> 56,75        | <i>Tamarix</i> 26,32                                 | <i>Citrus</i> 8,55                                                                                                                                                                                                         | <i>Chamaerops</i> , <i>Pistacia</i> , <i>Buxussempervirens</i> , <i>t</i>                                                                                                 | 15 |
| 34 |                                   | <i>Eucalyptus</i> 23,24, <i>Z. lotus</i> 16,20       | <i>Artemisia t</i> 11,27, <i>Brassica napus t</i> 9,86, <i>Carduus t</i> 7,75,<br><i>Foeniculum vulgare t</i> 7,04 , autres 5,63, <i>Pimpinella anisum t</i><br>4,93, <i>Chenopodium t</i> 4,93                            | <i>Coriandrum sativum t</i> , <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Apium nodiflorum t</i> , <i>Centaurea</i>                                                                  | 15 |
| 35 | <i>Ziziphus lotus</i> 68,89       |                                                      | <i>Hedysarum coronarium</i> 10,14 , <i>Tamarix</i> 7,14, <i>Centaurea t</i> 6,22                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                           | 15 |
| 36 | <i>Genista</i> 45,58              | <i>Citrus</i> 16,25                                  | <i>Foeniculum vulgaret</i> 11,66, <i>Sinapis alba t</i> 3,53, <i>Melilotus</i> 3,18,<br><i>Olea europea*</i> 3,18                                                                                                          | Autre <i>Brassicaceae</i> , <i>Convolvulus</i> , <i>Phoenix dactylifera</i> ,<br><i>Brassic napus t</i> , <i>Galega officinalis</i> , <i>Punica granatum</i> ,            | 27 |
| 37 | <i>Eucalyptus</i> 76,10           |                                                      | <i>Melilotus t</i> 5,38, <i>Lotus t</i> 3,59                                                                                                                                                                               | <i>Trifolium repens t</i> , <i>Ononis natrrix</i> , <i>Punica granatum</i> ,<br><i>Ammi majus t</i> ,                                                                     | 21 |
| 38 | <i>Eucalyptus</i> 83,11           |                                                      |                                                                                                                                                                                                                            | <i>Trifolium repens t</i> , <i>Papaver rhoeas t</i> , <i>Foeniculum vulgare t</i> , <i>Ziziphus lotus</i> ,                                                               | 18 |
| 39 | <i>Erica arborea</i> 55,11        |                                                      | <i>Onobrychis</i> 13,97, <i>Genistat</i> 13,72, <i>Melilotus t</i> 4,49, <i>Malus t</i> 3,99                                                                                                                               | <i>Myrtaceae</i>                                                                                                                                                          | 19 |
| 40 | <i>Erica arborea</i> 54,28        | <i>Genistat</i> 26,33                                | <i>Melilotus t</i> 4,85, <i>Malus t</i> 4,68                                                                                                                                                                               | <i>Onobrychis</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Myrtaceae</i>                                                                                                                  | 22 |
| 41 | <i>Eucalyptus</i> 85,68           |                                                      | <i>Myrtaceae</i> 5                                                                                                                                                                                                         | <i>Onobrychis</i> , <i>Phacelia</i>                                                                                                                                       | 13 |
| 42 | <i>Hedysarum coronarium</i> 45,95 |                                                      | <i>Rosmarinus officinalis t</i> 8,32, autre <i>Brassicaceae</i> 6,35,<br><i>Eucalyptus</i> 6,13, Other <i>Lamiaceae</i> 5,69 , <i>Foeniculum vulgare t</i><br>3,72, <i>Sinapis alba t</i> 3,50 , <i>Brassic napus</i> 3,06 | <i>Pistacia</i> , <i>Ziziphus lotus</i> , <i>Casuarina</i> , <i>Capparis</i>                                                                                              | 35 |
| 43 | <i>Eucalyptus</i> 51,42           | <i>Tamarix</i> 19,84                                 | <i>Genista t</i> 5,87, <i>Hedysarum, coronarium</i> 4,05, <i>Buxus sempervirens</i> 3,64                                                                                                                                   | <i>Casuarina</i> , <i>Acacia</i> , <i>Olea europea*</i> , <i>Chrysanthemum t</i> ,<br><i>Others</i> , <i>Punicagranatum</i> ,                                             | 20 |
| 44 | <i>Brassica napus t</i> 68,99     |                                                      | <i>Capparis</i> 13,52, <i>Artemisia t</i> 5,17                                                                                                                                                                             | <i>Rosmarinus officinalis t</i> , <i>Lotus t</i> , <i>Ziziphus lotus</i> ,<br><i>Daphnegnidium</i> ,                                                                      | 18 |
| 45 | <i>Brassica napus t</i> 65,71     | <i>Galega officinalis</i> 21,15                      | <i>Thymus t</i> 4,52                                                                                                                                                                                                       | <i>Euphorbia t</i> , <i>Artemisia t</i> , <i>Lotus t</i> , <i>Ziziphus lotus</i> ,                                                                                        | 15 |
| 46 |                                   | <i>Tamarix</i> 31,63,<br><i>Punicagranatum</i> 30,93 | <i>Chamaerops</i> 8,14, <i>Eucalyptus</i> 7,67, <i>Chenopodium t</i> 7,21                                                                                                                                                  | <i>Pistacia</i> , <i>Papaver rhoeas t</i> , <i>Arctium t</i> , <i>Ziziphus lotus</i> ,                                                                                    | 23 |
| 47 |                                   | <i>Chamaerops</i> 37,31,<br><i>Eucalyptus</i> 23,21  | <i>Schinus molle t</i> 9,76, <i>Capparis</i> 8,24, autre <i>Boraginaceae</i> 5,21                                                                                                                                          | <i>Taraxacum officinale t</i> , <i>Pimpinella anisum t</i> , <i>Muscari comosum</i> , <i>Tamarix</i> , <i>Ziziphus lotus</i> , <i>Artemisia t</i> ,                       | 21 |
| 48 | <i>Tamarix</i> 58,07              |                                                      | <i>Ziziphus lotus</i> 9,64, <i>Pimpinella anisum t</i> 8,85, <i>Olea europea*</i> 4,43                                                                                                                                     | <i>Eucalyptus</i> , <i>Peganum harmala</i> , <i>Artemisia t</i> ,<br><i>Coriandrum sativum t</i> , <i>Papaver rhoeas t</i> <i>Capparis</i> ,<br><i>Arctium t</i> ,        | 22 |
| 49 |                                   | <i>Ziziphus lotus</i> 30,77,<br><i>Tamarix</i> 29,15 | <i>Eucalyptus</i> 11,34, <i>Punica granatum</i> 5,67, <i>Peganum harmala</i><br>4,45, <i>Others</i> , 4,45, <i>Coriandrum sativum t</i> 3,64                                                                               | <i>Brassic anapus t</i> , <i>Olea europea*</i> , <i>Papaver rhoeas t</i>                                                                                                  | 21 |



|    |                                   |                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|----|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 50 |                                   | <i>Asparagus</i> t 22,11<br><i>Foeniculum vulgare</i> t 17,89       | <i>Pimpinella anisum</i> t 6,84, <i>Rubus</i> 5,26 , <i>Castanea</i> 5,26, <i>Papaver rhoeas</i> t 4,74, <i>Thymus</i> t 4,21, <i>Carduus</i> 3,16                                                                                      | <i>Apiumnodiflorum</i> t, <i>OtherApiaceae</i> , <i>Autre Lamiaceae</i> , <i>Sinapis alba</i> t<br><i>Olea europea*</i> , <i>Cichorium</i> t, <i>Brassic napus</i> t, <i>Buxus sempervirens</i> , <i>Quercus</i>                                                                                                    | 33 |
| 51 |                                   | <i>Phoenix dactylifera</i> 34,25, <i>Foeniculum vulgare</i> t 16,02 | <i>Autre Lamiaceae</i> 6,63, <i>Pimpinella anisum</i> t 5,52, <i>autre Apiaceae</i> 4,42, <i>Carduus</i> t 3,31                                                                                                                         | <i>Thymus</i> t, <i>Brassica napus</i> t, <i>Myrtaceae</i> , <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Olea europea*</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Phacelia</i> , <i>Ononis natrix</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Crocus</i> t                                                                                              | 29 |
| 52 | <i>Eucalyptus</i> 88,91           | <i>Citrus</i> 5,99                                                  | <i>Olea europea*</i> 3,00                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 16 |
| 53 | <i>Foeniculum vulgare</i> t 56,07 |                                                                     | <i>Punica granatum</i> 10,60, <i>Thapsia garganica</i> 6,55, <i>Brassic anapus</i> t5,39 <i>Echium</i> 5,01                                                                                                                             | <i>Phoenix dactylifera</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Genista</i> t, <i>Scorzonera</i> t                                                                                                                                                                                                                              | 25 |
| 54 |                                   | <i>Pimpinella anisum</i> t 23,31<br><i>Ziziphus lotus</i> 17,54     | <i>Thapsia garganica</i> 10,78 , <i>Tamarix</i> 8,77, <i>Echium</i> 6,77 , <i>Hedysarum coronarium</i> 6,77 , <i>Eucalyptus</i> 6,02, <i>Coriandrum sativum</i> t 3,76, <i>Apiumnodiflorum</i> t 3,51, <i>Foeniculum vulgare</i> t3,=01 | <i>Brassic napus</i> t,                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 25 |
| 55 |                                   | <i>Ziziphus lotus</i> 32,14<br><i>Hedysarum coronarium</i> 22,22    | <i>Olea europea*</i> 9,52, <i>Echium</i> 4,96, <i>autre fabaceae</i> 3,97, <i>Pimpinella anisum</i> t 3,37                                                                                                                              | <i>Coriandrum sativum</i> t, <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Cistus</i> , <i>Thapsia garganica</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> t, <i>Chrysanthemum</i> t,                                                                                                                                              | 33 |
| 56 | <i>Coriandrum sativum</i> t 52,14 |                                                                     | <i>Pimpinella anisum</i> t 16,07, <i>Brassica napus</i> t 5,36                                                                                                                                                                          | <i>Ziziphus lotus</i> , <i>Thapsia garganica</i> , <i>Cichorium</i> t, <i>Centaurea</i> t, <i>Euphorbia</i> t, <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Allium</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>Echium</i> , <i>Cyperus</i> , <i>Plantago</i> ,                                                        | 25 |
| 57 |                                   | <i>Brassica napus</i> t 21,25                                       | <i>Hedysarum coronarium</i> 13,75 , <i>Rosmarinus officinalis</i> t 13,75 , <i>Foeniculum vulgare</i> t 6,25, <i>Lotus</i> t 6,25, <i>Pistacia</i> 3,75, <i>Coriandrum sativum</i> t 3,75 <i>Quercus</i> 3,75                           | <i>Thapsia garganica</i> , <i>Taraxacum officinale</i> t, <i>Casuarina</i> , <i>Olea europea*</i> , <i>Malus</i> t, <i>Citrus</i> , <i>Ambrosia</i> t, <i>Echium</i> , <i>Ephedra</i> , <i>Ononis natrix</i> , <i>Trifolium repens</i> t, <i>Eucalyptus</i> , <i>Pinus</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Ziziphus lotus</i> | 23 |
| 58 | <i>Punica granatum</i> 56,23      |                                                                     | <i>Ziziphus lotus</i> 14,20, <i>Eucalyptus</i> 8,99, <i>Tamarix</i> 3,77, <i>Olea europea*</i> 3,48                                                                                                                                     | <i>Acacia</i> , <i>autres</i> , <i>Centaurea</i> t, <i>Brassic napus</i> t,                                                                                                                                                                                                                                         | 19 |
| 59 | <i>Eucalyptus</i> 50,82           |                                                                     | <i>Papaver rhoeas</i> t 9,65, <i>Hedysarum coronarium</i> 9,41, <i>Chrysanthemum</i> t 6,35, <i>Capparis</i> 3,29, <i>Others</i> 3,06                                                                                                   | <i>Olea europea*</i> , <i>Echium</i> , <i>Citrus</i> , <i>Paronychia argentea</i> t, <i>Acacia</i> , <i>Genista</i> t, <i>Cistus</i> ,                                                                                                                                                                              | 22 |
| 60 |                                   | <i>Eucalyptus</i> 32,06                                             | <i>Hedysarum coronarium</i> 12,21 , <i>Genista</i> t 11,45, <i>Papaver rhoeas</i> t 10,69, <i>Acacia</i> 7,63, <i>Olea europae</i> 3,05                                                                                                 | <i>Chrysanthemum</i> t, <i>Other</i> , <i>Brassicaceae</i> , <i>autres</i> , <i>Pimpinella anisum</i> t, <i>Centaurea</i> t, <i>Echium</i> , <i>Paronychia argentea</i> t, <i>Phoenix dactylifera</i> ,                                                                                                             | 24 |
| 61 | <i>Melilotus</i> 68,71            |                                                                     | <i>Ziziphus lotus</i> 5,18, <i>Ceratonis siliqua</i> 4,00, <i>Brassica napus</i> t 3,76, <i>autres</i> 3,06                                                                                                                             | <i>Papaver rhoeas</i> t, <i>OtherBrassicaceae</i> , <i>Sinapis alba</i> t, <i>Euphorbia</i> t, <i>Rosmarinus officinalis</i> t                                                                                                                                                                                      | 27 |
| 62 | <i>Eriobotrya japonica</i> 75,42  | <i>Globularia</i> 16,47                                             |                                                                                                                                                                                                                                         | <i>Chrysanthemum</i> t, <i>Ziziphus lotus</i>                                                                                                                                                                                                                                                                       | 13 |
| 63 | <i>Eucalyptus</i> 46,11           | <i>Hedysarum coronarium</i> 35,39                                   | <i>Punica granatum</i> 4,29, <i>Pimpinella anisum</i> t 3,75, <i>Citrus</i>                                                                                                                                                             | <i>Trifolium repens</i> t, <i>Brassic napus</i> t                                                                                                                                                                                                                                                                   | 19 |

N polen : Nombre de types polliniques ; (\*): espèces non nectarifère ; D : Dominant ; A : Accompagnement ; I = Important ; R : Rare





## Annexe. 2 : Analyse pollinique qualitative des miels, selon leur zone de production

| Zones Arides (n=04)                  |                               |      |           |                   |                          |                            |      |       |                   |                       |                               |      |     |                   |
|--------------------------------------|-------------------------------|------|-----------|-------------------|--------------------------|----------------------------|------|-------|-------------------|-----------------------|-------------------------------|------|-----|-------------------|
| Famille plante                       | Type pollinique               | F    | AR        | DR <sub>Max</sub> | Famille plante           | Type pollinique            | F    | AR    | DR <sub>Max</sub> | Famille plante        | Type pollinique               | F    | AR  | DR <sub>Max</sub> |
| <b>Oleaceae</b>                      | <i>Olea europaea</i> *        | 100  | PRID      | 82,8              | <b>Apiaceae</b>          | <i>Thapsia garganica</i>   | 60   | P I   | 4                 | <b>Brassicaceae</b>   | <i>Raphanus rapahistrum</i> t | 20   | R   | 1,6               |
| <b>Rhamnaceae</b>                    | <i>Ziziphus lotus</i>         | 80   | PRID      | 81,5              | <b>Apiaceae</b>          | <i>Pimpinella anisum</i> t | 80   | P R I | 3,7               | <b>Fagaceae</b>       | <i>Quercus</i> *              | 40   | P R | 1,5               |
| <b>Brassicaceae</b>                  | <i>Brassica napus</i> t       | 60   | RID       | 75,1              | <b>fabaceae</b>          | <i>Acacia</i>              | 40   | R     | 2,9               | <b>Apiaceae</b>       | <i>Coriandrum sativum</i> t   | 80   | PR  | 1,4               |
| <b>Lythraceae</b>                    | <i>Punica granatum</i>        | 80   | PRID      | 56,2              | <b>Apiaceae</b>          | <i>Apium nodiflorum</i> t  | 20   | R     | 2,7               | <b>Nitrariaceae</b>   | <i>Peganum harmala</i>        | 20   | R   | 1,4               |
| <b>Myrtaceae</b>                     | <i>Eucalyptus</i>             | 60   | P I A     | 32,5              | <b>Boraginaceae</b>      | <i>Phacelia</i>            | 20   | R     | 2,6               | <b>Arecaceae</b>      | <i>Phoenix dactylifera</i>    | 20   | R   | 1,4               |
| <b>fabaceae</b>                      | <i>Melilotus</i> t            | 60   | P R A     | 25,6              | <b>fabaceae</b>          | <i>Genista</i> t           | 40   | P R   | 2,3               | <b>Astaceae</b>       | <i>Centaurea</i> t            | 20   | R   | 1,2               |
| <b>Tamaricaceae</b>                  | <i>Tamarix</i>                | 60   | P I       | 14,5              | <b>Capparaceae</b>       | <i>Capparis</i>            | 20   | R     | 1,7               | <b>Papaveraceae</b>   | <i>Papaver rhoeas</i> t       | 40   | P R | 1                 |
|                                      | <i>Autres</i>                 | 60   | P R I     | 6,8               | <b>Lamiaceae</b>         | <i>Autre Lamiaceae</i>     | 20   | R     | 1,6               | <b>Rosaceae</b>       | <i>Malus</i> t                | 20   | R   | 1                 |
| Zonse Semi-arides telliennes (n= 26) |                               |      |           |                   |                          |                            |      |       |                   |                       |                               |      |     |                   |
| Plant Family                         | Pollen type                   | F    | AR        | DR <sub>Max</sub> | Plant Family             | Pollen type                | F    | AR    | DR <sub>Max</sub> | Plant Family          | Pollen type                   | F    | AR  | DR <sub>Max</sub> |
| <b>Apiaceae</b>                      | <i>Eucalyptus</i>             | 88,5 | P R I A D | 88,9              | <i>Sinapis alba</i> t    | <i>Sinapis alba</i> t      | 53,8 | P R I | 7,8               | <b>Nitrariaceae</b>   | <i>Peganum harmala</i>        | 11,5 | P R | 2,4               |
| <b>Rosaceae</b>                      | <i>Eriobotrya japonica</i>    | 15,4 | P I D     | 75,4              | <b>fabaceae</b>          | <i>Acacia</i> *            | 57,7 | P R I | 7,6               | <b>Rosaceae</b>       | <i>Prunus</i> t               | 19,2 | P R | 2,4               |
| <b>fabaceae</b>                      | <i>Melilotus</i> t            | 30,8 | P R I A D | 68,7              | <b>Astaceae</b>          | <i>Chrysanthemum</i> t     | 73,1 | P R I | 7,5               | <b>Poaceae</b>        | <i>Poaceae</i> *              | 34,6 | P R | 2,3               |
| <b>Rhamnaceae</b>                    | <i>Ziziphus lotus</i>         | 42,3 | P R I A D | 59,6              | <b>Rubus</b>             | <i>Rubus</i>               | 7,7  | P I   | 7,3               | <b>Smilax</b>         | <i>Smilax</i>                 | 7,7  | R   | 2,3               |
| <b>fabaceae</b>                      | <i>Genista</i> t              | 80,8 | P R I A D | 58,8              | <b>fabaceae</b>          | <i>Ceratonia siliqua</i>   | 23,1 | P R I | 7,2               |                       |                               |      |     |                   |
| <b>Oleaceae</b>                      | <i>Olea europaea</i> *        | 92,3 | P R I A D | 56,8              | <b>Thapsia garganica</b> | <i>Thapsia garganica</i>   | 19,2 | P R I | 6,6               | <b>Meliaceae</b>      | <i>Melia azedarach</i>        | 3,8  | R   | 2,1               |
| <b>Apiaceae</b>                      | <i>Foeniculum vulgare</i> t   | 57,7 | P R I A D | 56,1              | <b>Amaryllidaceae</b>    | <i>Artemisia</i> t         | 34,6 | P I   | 5,7               | <b>Boraginaceae</b>   | <i>Phacelia</i>               | 11,5 | P R | 2                 |
| <b>Lythraceae</b>                    | <i>Punica granatum</i>        | 50   | P R I D   | 48,6              | <b>Fagaceae</b>          | <i>Quercus</i> *           | 11,5 | P I   | 4,8               |                       |                               |      |     |                   |
| <b>Tamarix</b>                       | <i>Tamarix</i>                | 53,8 | P R I A   | 28,9              |                          | <i>autres</i>              | 76,9 | P R I | 4,8               | <b>Lamiaceae</b>      | <i>Thymus</i> t               | 11,5 | P R | 1,8               |
| <b>Caryophyllaceae</b>               | <i>Paronychia argentea</i> t* | 34,6 | P R I A   | 28,2              | <b>Apiaceae</b>          | <i>Ammi majus</i> t        | 7,7  | P I   | 4,7               | <b>Astaceae</b>       | <i>Scorzonera</i> t           | 23,1 | P R | 1,7               |
| <b>Capparaceae</b>                   | <i>Capparis</i>               | 19,2 | P R I A   | 24,4              | <b>fabaceae</b>          | <i>Galega officinalis</i>  | 11,5 | P R I | 4,4               | <b>Verbenaceae</b>    | <i>Lantana</i> t              | 23,1 | P R | 1,7               |
| <b>Astaceae</b>                      | <i>Centaurea</i> t            | 80,8 | P R I A   | 22                | <b>Astaceae</b>          | <i>Cichorium</i> t         | 11,5 | P I   | 4                 | <b>Astaceae</b>       | <i>Taraxacum officinale</i> t | 42,3 | P R | 1,5               |
| <b>Boraginaceae</b>                  | <i>Echium</i>                 | 76,9 | P R I A   | 18,2              | <b>Convolvulaceae</b>    | <i>Convolvulus</i>         | 42,3 | P R I | 4                 | <b>Cistaceae</b>      | <i>Cistus</i> *               | 38,5 | P R | 1,4               |
| <b>Globulariaceae</b>                | <i>Globularia</i>             | 3,8  | A         | 16,5              | <b>Plantaginaceae</b>    | <i>Plantago</i>            | 30,8 | P R I | 4                 | <b>Myrtaceae</b>      | <i>Euphorbia</i> t            | 19,2 | P R | 1,4               |
| <b>Rutaceae</b>                      | <i>Citrus</i>                 | 53,8 | P R I A   | 16,3              | <b>Simaroubaceae</b>     | <i>Ailanthus altissima</i> | 11,5 | P I   | 4                 |                       |                               |      |     |                   |
| <b>Brassicaceae</b>                  | <i>Brassica napus</i> t       | 92,3 | P R I A   | 15,2              |                          | <i>Autre fabaceae</i>      | 19,2 | P R I | 3,7               | <b>Chenopodiaceae</b> | <i>Chenopodium</i> t          | 42,3 | P R | 1,3               |



|                        |                             |      |       |      |                      |                             |      |       |     |                      |                                 |      |     |     |
|------------------------|-----------------------------|------|-------|------|----------------------|-----------------------------|------|-------|-----|----------------------|---------------------------------|------|-----|-----|
| <b>fabaceae</b>        | <i>Hedysarum coronarium</i> | 57,7 | P R I | 12,2 | <b>Buxaceae</b>      | <i>Buxus sempervirens</i>   | 38,5 | P R I | 3,6 | <b>lamiaceae</b>     | <i>Rosmarinus officinalis t</i> | 11,5 | P R | 1,2 |
| <b>Papaveraceae</b>    | <i>Papaver rhoeas t*</i>    | 57,7 | P R I | 11,3 | <b>Arecaceae</b>     | <i>Chamaerops*</i>          | 34,6 | P R I | 3,5 |                      | <b>OtherAstreaceae</b>          | 11,5 | P R | 1,1 |
| <b>Schinus molle t</b> | <i>Schinus molle t</i>      | 15,4 | P I   | 10,4 | <b>Arecaceae</b>     | <i>Phoenix dactylifera*</i> | 26,9 | P R   | 2,9 | <b>Cucurbitaceae</b> | <i>Bryonia cretica</i>          | 11,5 | P R | 1   |
| <b>Asparagaceae</b>    | <i>Muscari comosum</i>      | 19,2 | P R I | 8,6  | <b>Apiaceae</b>      | <i>Pimpinella anisum t</i>  | 30,8 | P R   | 2,7 | <b>fabaceae</b>      | <i>Ononis natrix</i>            | 15,4 | P   | 1   |
| <b>Apiaceae</b>        | <i>Coriandrum sativum t</i> | 30,8 | P R I | 8,1  | <b>Anacardiaceae</b> | <i>Pistacia*</i>            | 38,5 | P R   | 2,5 | <b>fabaceae</b>      | <i>Psoralea t</i>               | 3,8  | P   | 1   |
|                        |                             |      |       |      | <b>Casuarinaceae</b> | <i>Casuarina*</i>           | 23,1 | P R   | 2,4 |                      |                                 |      |     |     |

### Zones Semi-arides stepiques (n= 6)

| Family              | Pollen type                     | F    | AR      | DR <sub>Max</sub> | Family               | Pollen type                 | F    | AR    | DR <sub>Max</sub> | Family               | Pollen type                   | F    | AR  | DR <sub>Max</sub> |
|---------------------|---------------------------------|------|---------|-------------------|----------------------|-----------------------------|------|-------|-------------------|----------------------|-------------------------------|------|-----|-------------------|
| <b>Brassicaceae</b> | <i>Brassica napus t</i>         | 66,7 | I A D   | 69                | <b>Brassicaceae</b>  | <i>Autres Brassicaceae</i>  | 16,7 | I     | 6,3               | <b>Oleaceae</b>      | <i>Olea europaea</i>          | 66,7 | P R | 2,5               |
| <b>Rhamnaceae</b>   | <i>Ziziphus lotus</i>           | 100  | P R D   | 68,9              | <b>Astreaceae</b>    | <i>Centaurea t</i>          | 50   | P I   | 6,2               | <b>autres</b>        | <i>Others</i>                 | 66,7 | R   | 2,5               |
| <b>fabaceae</b>     | <i>Hedysarum coronarium</i>     | 50   | I D     | 46                | <b>Lamiaceae</b>     | <i>Autre Lamiaceae</i>      | 16,7 | I     | 5,7               | <b>Astreaceae</b>    | <i>Taraxacum officinale t</i> | 66,7 | P R | 2,5               |
| <b>Capparaceae</b>  | <i>Capparis</i>                 | 50   | R I A   | 36,7              | <b>Astreaceae</b>    | <i>Artemisia t</i>          | 66,7 | P R I | 5,2               | <b>Apiaceae</b>      | <i>Thapsia garganica</i>      | 50   | P R | 2,5               |
| <b>fabaceae</b>     | <i>Galega officinalis</i>       | 16,7 | A       | 21,1              | <b>Lamiaceae</b>     | <i>Thymus t</i>             | 33,3 | P I   | 4,5               | <b>Euphorbiaceae</b> | <i>Euphorbia t</i>            | 50   | P R | 1,8               |
| <b>Myrtaceae</b>    | <i>Eucalyptus</i>               | 66,7 | P R I A | 19,7              | <b>Cistaceae</b>     | <i>Cistus*</i>              | 50   | P I   | 4                 | <b>Astreaceae</b>    | <i>Ambrosia t</i>             | 16,7 | R   | 1,3               |
| <b>Arecaceae</b>    | <i>Chamaerops</i>               | 16,7 | A       | 17,6              | <b>Apiaceae</b>      | <i>Coriandrum sativum t</i> | 66,7 | P I   | 3,8               | <b>Boraginaceae</b>  | <i>Echium</i>                 | 50   | P R | 1,3               |
| <b>Lamiaceae</b>    | <i>Rosmarinus officinalis t</i> | 50   | R I     | 13,8              | <b>Anacardiaceae</b> | <i>Pistacia</i>             | 33,3 | R I   | 3,8               | <b>Ephedraceae</b>   | <i>Ephedra</i>                | 16,7 | R   | 1,3               |
| <b>Asparagaceae</b> | <i>Asparagus t</i>              | 16,7 | I       | 7,2               | <b>Fagaceae</b>      | <i>Quercus*</i>             | 16,7 | I     | 3,8               | <b>fabaceae</b>      | <i>Ononis natrix</i>          | 33,3 | P R | 1,3               |
| <b>Tamaricaceae</b> | <i>Tamarix</i>                  | 33,3 | P I     | 7,1               | <b>Brassicaceae</b>  | <i>Sinapis alba t</i>       | 33,3 | P I   | 3,5               | <b>Pinaceae</b>      | <i>Pinaceae</i>               | 16,7 | R   | 1,3               |
| <b>Apiaceae</b>     | <i>Foeniculum vulgare t</i>     | 50   | P I     | 6,3               | <b>Casuarinaceae</b> | <i>Casuarina*</i>           | 33,3 | R     | 2,5               | <b>Poaceae</b>       | <i>Poaceae*</i>               | 33,3 | P R | 1,3               |
| <b>fabaceae</b>     | <i>Lotus t</i>                  | 50   | R I     | 6,3               | <b>Rutaceae</b>      | <i>Citrus</i>               | 33,3 | P R   | 2,5               | <b>fabaceae</b>      | <i>Trifolium repens t</i>     | 16,7 | A   | 1,3               |
|                     |                                 |      |         |                   | <b>Rosaceae</b>      | <i>Malus t</i>              | 33,3 | P R   | 2,5               | <b>Thymelaeaceae</b> | <i>Daphnegrindium</i>         | 33,3 | P R | 1,2               |

### Subhumide (n=22)

| Family           | Pollen type                 | F    | AR        | DR <sub>Max</sub> | Family             | Pollen type      | F    | AR    | DR <sub>Max</sub> | Family               | Pollen type                | F    | AR    | DR <sub>Max</sub> |
|------------------|-----------------------------|------|-----------|-------------------|--------------------|------------------|------|-------|-------------------|----------------------|----------------------------|------|-------|-------------------|
| <b>Apiaceae</b>  | <i>Foeniculum vulgare t</i> | 77,3 | P R I A D | 82,8              | <b>Capparaceae</b> | <i>Capparis</i>  | 31,8 | P R I | 9,3               | <b>fabaceae</b>      | <i>Onobrychis</i>          | 31,8 | P R I | 3,4               |
| <b>Myrtaceae</b> | <i>Eucalyptus</i>           | 90,9 | P R I A D | 76,1              | <b>Astreaceae</b>  | <i>Carduus t</i> | 59,1 | P I   | 7,7               | <b>Simaroubaceae</b> | <i>Ailanthus altissima</i> | 9,1  | P I   | 3,1               |



|                       |                             |      |           |      |                |                    |      |       |     |                 |                        |      |       |     |
|-----------------------|-----------------------------|------|-----------|------|----------------|--------------------|------|-------|-----|-----------------|------------------------|------|-------|-----|
| <b>Tamaricaceae</b>   | <i>Tamarix</i>              | 63,6 | P R I A D | 58,1 | Chenopodiaceae | Chenopodium t      | 40,9 | P R I | 7,2 | Boraginaceae    | Boragoofficinalis      | 9,1  | P I   | 3,1 |
| <b>Apiaceae</b>       | <i>Coriandrum sativum t</i> | 77,3 | P R I A D | 52,1 | Autres         | Autres             | 95,5 | P R I | 6,8 | Astreaceae      | Centaurea t            | 27,3 | P R I | 3   |
| <b>Lythraceae</b>     | <i>Punica granatum</i>      | 45,5 | P R I A   | 42,4 | Lamiaceae      | Autre Lamiaceae    | 13,6 | P R I | 6,6 | Caryophyllaceae | Paronychiaargentea t*  | 4,5  | R     | 2,9 |
| <b>Rhamnaceae</b>     | <i>Ziziphus lotus</i>       | 86,4 | P R I A   | 41,5 | Papaveraceae   | Papaver rhoeas t*  | 81,8 | P R I | 6,3 | Anacardiaceae   | Pistacia*              | 9,1  | R     | 2,6 |
| <b>Arecaceae</b>      | <i>Chamaerops*</i>          | 13,6 | P I A     | 37,3 | fabaceae       | Trifolium repens t | 27,3 | P R I | 6,2 | Cistaceae       | Cistus *               | 54,5 | P R   | 2,5 |
| <b>Oleaceae</b>       | <i>Olea europaea*</i>       | 68,2 | P R I A   | 37,2 | fabaceae       | Genista t          | 54,5 | P R I | 5,9 | Euphorbiaceae   | Euphorbia t            | 27,3 | P R   | 1,8 |
| <b>fabaceae</b>       | <i>Hedysarum coronarium</i> | 68,2 | P R I A   | 35,4 | Rosaceae       | Malus t            | 18,2 | P R I | 5,6 | Poaceae         | Poaceae*               | 27,3 | P R   | 1,8 |
| <b>Arecaceae</b>      | <i>Phoenix dactylifera*</i> | 22,7 | P R       | 34,3 | Fagaceae       | Castanea           | 4,5  | I     | 5,3 | Brassicaceae    | OtherBrassicaceae      | 40,9 | P R   | 1,7 |
| <b>Apiaceae</b>       | <i>Pimpinella anisum t</i>  | 86,4 | P R I A   | 29,8 | Rosaceae       | Rubus              | 9,1  | P I   | 5,3 | Astreaceae      | Taraxacum officinale t | 31,8 | P R   | 1,7 |
| <b>Asparagaceae</b>   | <i>Asparagus t</i>          | 4,5  | P A       | 22,1 | Boraginaceae   | Autre Boraginaceae | 9,1  | P I   | 5,2 | Astreaceae      | Arctium t              | 9,1  | R     | 1,6 |
| <b>Boraginaceae</b>   | <i>Phacelia</i>             | 31,8 | P R I A   | 17,6 | Fagaceae       | Quercus*           | 22,7 | P R I | 5,2 | Brassicaceae    | Sinapis alba t         | 22,7 | P R   | 1,6 |
| <b>Myrtaceae</b>      | <i>Myrtaceae</i>            | 22,7 | P R       | 17,3 | Astreaceae     | Cichorium t        | 45,5 | P R I | 5,1 | Asparagaceae    | Muscari comosum        | 13,6 | P R   | 1,5 |
| <b>fabaceae</b>       | <i>Melilotus t</i>          | 31,8 | P R I A   | 15,6 | Ericaceae      | Erica arborea      | 18,2 | P R I | 4,8 | Amarylilidaceae | Allium                 | 22,7 | P R   | 1,4 |
| <b>Convolvulaceae</b> | <i>Convolvulus</i>          | 27,3 | P R I     | 14,3 | Nitrariaceae   | Peganum harmala    | 36,4 | P R I | 4,5 | Apiaceae        | Ammi majus t           | 4,5  | R     | 1,4 |
| <b>Boraginaceae</b>   | <i>Echium</i>               | 63,6 | P R I     | 13,8 |                | Autre Apiaceae     | 31,8 | P R I | 4,4 | Astreaceae      | Chrysanthemum t        | 31,8 | P R   | 1,4 |
| <b>Astreaceae</b>     | <i>Artemisia t</i>          | 22,7 | P R I     | 11,3 | Lamiaceae      | Thymus t           | 18,2 | P R I | 4,2 | Salicaceae      | Salix                  | 13,6 | P R   | 1,3 |
| <b>Apiaceae</b>       | <i>Thapsia garganica</i>    | 54,5 | P R I     | 10,8 | fabaceae       | Autre fabaceae     | 13,6 | P I   | 4   | Buxaceae        | Buxus sempervirens*    | 22,7 | P R   | 1,1 |
| <b>fabaceae</b>       | <i>Ononis natrix</i>        | 27,3 | P R I     | 10,4 | Rutaceae       | Citrus             | 9,1  | P I   | 3,8 | Iridaceae       | Crocus t               | 18,2 | P R   | 1,1 |
| <b>Brassicaceae</b>   | <i>Brassica napus t</i>     | 77,3 | P R I     | 9,9  | Fabaceae       | Lotus t            | 13,6 | P I   | 3,6 | Cyperaceae      | Cyperus*               | 13,6 | P R   | 1,1 |
| <b>Anacardiaceae</b>  | <i>Schinus molle t</i>      | 9,1  | P I       | 9,8  | Apiaceae       | Apium nodiflorum t | 31,8 | P R I | 3,5 | Plantaginaceae  | Plantago               | 18,2 | P R   | 1,1 |

### Zones Humides n=4

|                  | Pollen type          | F   | AR    | DR <sub>Max</sub> |              | Pollen type               | F   | AR    | DR <sub>Max</sub> |              | Pollen type                 | F  | AR  | DR <sub>Max</sub> |
|------------------|----------------------|-----|-------|-------------------|--------------|---------------------------|-----|-------|-------------------|--------------|-----------------------------|----|-----|-------------------|
| <b>Myrtaceae</b> | <i>Eucalyptus</i>    | 100 | P R D | 85,7              | fabaceae     | <i>Melilotus t</i>        | 100 | P R I | 4,8               | Others       | Others                      | 75 | P R | 1,4               |
| <b>Ericaceae</b> | <i>Erica arborea</i> | 100 | P D   | 55,1              | Rosaceae     | <i>Malus t</i>            | 75  | P I   | 4,7               | Papaveraceae | <i>Papaver rhoeas t</i>     | 75 | P R | 1,4               |
| <b>fabaceae</b>  | <i>Genista t</i>     | 100 | P I A | 26,3              | Lythraceae   | <i>Punica granatum</i>    | 25  | R     | 2,5               | Apiaceae     | <i>Foeniculum vulgare t</i> | 50 | P R | 1,1               |
| <b>fabaceae</b>  | <i>Onobrychis</i>    | 75  | R I   | 14                | Boraginaceae | <i>Phacelia</i>           | 75  | P R   | 2,3               | Rhamnaceae   | <i>Ziziphus lotus</i>       | 25 | R   | 1,1               |
| <b>Myrtaceae</b> | <i>Myrtaceae</i>     | 75  | R I   | 5                 | fabaceae     | <i>Trifolium repens t</i> | 50  | P R   | 2,1               | Astreaceae   | <i>Centaurea t</i>          | 25 | P   | 1                 |
|                  |                      |     |       |                   |              |                           |     |       |                   | brassicaceae | <i>OtherBrassicaceae</i>    | 25 | P   | 1                 |

D : > 45%, A : 16-45% ; I : 3-15% ; R : 1-3%, P : < 1% , **F** : Fréquence de présence d'une forme pollinique par rapport à la totalité des échantillons, **AR** : abondance relative d'une forme pollinique dans un échantillon selon Louveaux *et al.* (1978), **DR<sub>Max</sub>** : la densité relative Maximale de chaque forme pollinique selon Louveaux *et al.* (1978).

**Annexe. 03 : Table de CHATAWAY (1935).**

| Teneur en eau (%) | Indice de réfraction (20°C) | Teneur en eau (%) | Indice de réfraction(20°C) | Teneur en eau (%) |
|-------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| 13.0              | 1.4935                      | 17.2              | 1.4835                     | 21.2              |
| 13.2              | 1.4930                      | 17.4              | 1.4830                     | 21.4              |
| 13.4              | 1.4925                      | 17.6              | 1.4825                     | 21.6              |
| 13.6              | 1.4920                      | 17.8              | 1.4820                     | 21.8              |
| 13.8              | 1.4915                      | 18.0              | 1.4815                     | 22.0              |
| 14.0              | 1.4910                      | 18.2              | 1.4810                     | 22.2              |
| 14.2              | 1.4905                      | 18.4              | 1.4805                     | 22.4              |
| 14.4              | 1.4900                      | 18.6              | 1.4800                     | 22.6              |
| 14.6              | 1.4895                      | 18.8              | 1,4795                     | 22.8              |
| 14.8              | 1.4890                      | 19.0              | 1.4790                     | 23.0              |
| 15.0              | 1.4885                      | 19.2              | 1.4785                     | 23.2              |
| 15.2              | 1.4880                      | 19.4              | 1.4780                     | 23.4              |
| 15.4              | 1.4875                      | 19.6              | 1.4775                     | 23.6              |
| 15.6              | 1.4870                      | 19.8              | 1.4770                     | 23.8              |
| 15.8              | 1.4865                      | 20.0              | 1.4765                     | 24.0              |
| 16.0              | 1.4860                      | 20.2              | 1.4760                     | 24.2              |
| 16.2              | 1.4855                      | 20.4              | 1.4755                     | 24.4              |
| 16.4              | 1.4850                      | 20.6              | 1.4750                     | 24.6              |
| 16.6              | 1.4845                      | 20.8              | 1.4745                     | 24.8              |
| 16.8              | 1.4840                      | 21.0              | 1.4740                     | 25.0              |
| 17.0              |                             |                   |                            |                   |



**Annexe.04 : Résultats de l'études des paramètres physicochimiques des miels Algériens**

|                 | Eau (%) |      | CE mS/cm |       | PH    |      | HMF (mg/1Kg ) |      | ID (Schade unit) | Couleur (mm Pfund) | L*     |        | a*      |      | b*      |      |
|-----------------|---------|------|----------|-------|-------|------|---------------|------|------------------|--------------------|--------|--------|---------|------|---------|------|
| Miel            | Moy     | ±SD  | Moy      | ±SD   | Moy   | ±SD  | Moy           | ±SD  |                  |                    | Moy    | ±SD    | Moyenne | ±SD  | Moyenne | ±SD  |
| E <sub>1</sub>  | 18      | 0,00 | 0,250    | 0,000 | 3,75  | 0,02 | 11,59         | 0,26 | 18,5             | 40                 | 81,6   | 0,071  | -1,8    | -    | 0,08    | 0,08 |
| E <sub>2</sub>  | 18      | 0,00 | 0,241    | 0,000 | 3,92  | 0,02 | 10,13         | 0,14 | 22,2             | 40                 | 79,18  | 0,170  | -0,91   | 0,04 | 0,03    | 0,03 |
| E <sub>3</sub>  | 18,9    | 0,07 | 0,440    | 0,001 | 3,58  | 0,01 | 14,54         | 0,05 | 28,3             | 67                 | 73,615 | 0,078  | 5,06    | 0,01 | 0,26    | 0,26 |
| E <sub>4</sub>  | 18,8    | 0,00 | 0,436    | 0,004 | 3,65  |      | 19,36         | 0,26 | 27,1             | 64                 | 79,23  | 0,113  | -2,53   | 0,03 | 0,33    | 0,33 |
| E <sub>5</sub>  | 17,7    | 1,06 | 0,440    | 0,007 | 4,07  | 0,00 | 5,81          | 0,10 | 24,9             | 90                 | 73,295 | 0,078  | 5,69    | 0,06 | 0,04    | 0,04 |
| E <sub>06</sub> | 14,7    | 0,0  | 0,290    | 0,000 | 3,72  | 0,00 | 6,28          | 0,10 | 16,5             | 49                 | 77     | 0,339  | 0,405   | 0,04 | 0,37    | 0,37 |
| E <sub>07</sub> | 14,8    | 0,00 | 0,237    |       | 3,86  |      | 4,85          | 0,37 | 12,8             | 30                 | 82,135 | 0,262  | -2,095  | 0,13 | 0,21    | 0,21 |
| E <sub>08</sub> | 16,2    | 0,00 | 0,685    |       | 4,01  | 0,00 | 14,04         | 0,90 | 24,5             | 86                 | 67,995 | 0,120  | 10,03   | 0,01 | 0,35    | 0,35 |
| E <sub>09</sub> | 18,4    | 0,00 | 0,360    | 0,004 | 3,70  | 0,00 | 14,27         | 0,34 | 26,8             | 67                 | 76,215 | 0,021  | 1,42    | -    | 6,79    | 6,79 |
| E <sub>10</sub> | 19,1    | 0,00 | 0,620    | 0,001 | 4,11  |      | 18,17         | 0,62 | 16,1             | 82                 | 75,27  | 0,099  | 4,09    | 0,06 | 0,13    | 0,13 |
| E <sub>11</sub> | 15      | 0,00 | 0,514    | 0,002 | 4,14  | 0,02 | 11,52         | 0,19 | 18,3             | 72                 | 75,095 | 0,148  | 1,45    | 0,10 | 0,39    | 0,39 |
| E <sub>12</sub> | 16,2    | 0,00 | 0,351    |       | 4,19  |      | 9,18          | -    | 14,3             | 74                 | 73,185 | 0,106  | 7,87    | 0,01 | 0,33    | 0,33 |
| E <sub>13</sub> | 17      | 0,00 | 0,301    | 0,001 | 3,63  |      | 29,20         | 0,67 | 33,4             | 56                 | 75,665 | 0,276  | 0,515   | 0,01 | 0,49    | 0,49 |
| E <sub>14</sub> | 17      | 0,00 | 0,639    | 0,002 | 4,29  | 0,03 | 8,32          | 4,94 | 20,0             | 84                 | 72,15  | 0,099  | 7,335   | 0,08 | 0,04    | 0,04 |
| E <sub>15</sub> | 17,6    | 0,00 | 0,515    | 0,002 | 3,95  | 0,00 | 16,42         | -    | 18,5             | 84                 | 73,56  | 0,156  | 3,795   | 0,02 | 0,31    | 0,31 |
| E <sub>16</sub> | 17,8    | 0,00 | 0,708    | 0,002 | 4,13  | 0,00 | 19,00         | 0,14 | 18,5             | 89                 | 38,22  | 44,081 | 10,985  | 0,18 | 0,06    | 0,06 |
| E <sub>17</sub> | 14,8    | 0,00 | 0,461    | 2,524 | 4,03  | 0,00 | 11,63         | 0,16 | 40,6             | 83                 | 72,11  | 0,297  | 10,15   | 0,02 | 0,59    | 0,59 |
| E <sub>18</sub> | 16,8    | 0,00 | 0,303    | 0,000 | 3,83  | 0,00 | 30,37         | 0,16 | 25,5             | 96                 | 71,285 | 0,247  | 6,205   | 0,01 | 0,02    | 0,02 |
| E <sub>19</sub> | 17      | 0,00 | 0,730    | 0,002 | 3,88  | 0,00 | 13,23         |      | 16,5             | 68                 | 78,545 | 0,516  | 1,59    | 0,03 | 0,37    | 0,37 |
| E <sub>20</sub> | 17,6    | 0,00 | 0,730    | 0,002 | 4,19  | 0,00 | 13,27         | 0,11 | 23,7             | 108                | 65,325 | 0,276  | 10,79   | 0,07 | 0,18    | 0,18 |
| E <sub>21</sub> | 19,4    | 0,00 | 0,620    | 0,000 | 4,3   | 0,00 | 11,41         | 1,06 | 19,3             | 83                 | 73,87  | 0,255  | 6,92    | 0,01 | 0,22    | 0,22 |
| E <sub>22</sub> | 18,4    | 0,00 | 0,546    | 0,004 | 4,04  | 0,01 | 18,21         | 0,08 | 19,1             | 85                 | 70,61  | 0,028  | 7,385   | 0,01 | 0,02    | 0,02 |
| E <sub>23</sub> | 16,6    | 0,00 | 0,546    | 0,004 | 4,28  | 0,05 | 7,68          | 0,58 | 26,6             | 76                 | 75,66  | 0,057  | 3,625   | 0,02 | 0,01    | 0,01 |
| E <sub>24</sub> | 15      | 0,00 | 0,372    |       | 3,65  | 0,04 | 10,91         | 1,72 | 25,4             | 45                 | 84,665 | 0,106  | -2,795  | 0,01 | 0,23    | 0,23 |
| E <sub>25</sub> | 15      | 0,00 | 0,497    | 0,002 | 3,69  | 0,02 | 8,84          | 0,24 | 27,0             | 67                 | 79,09  | 0,198  | -1,57   | 0,01 | 0,62    | 0,62 |
| E <sub>26</sub> | 17,4    | 0,00 | 0,392    | 0,002 | 3,65  | 0,04 | 11,96         | 0,84 | 17,6             | 65                 | 77,7   | 0,113  | 1,5     | 0,08 | 0,25    | 0,25 |
| E <sub>27</sub> | 18,4    | 0,00 | 0,496    | 0,004 | 3,795 | 0,00 | 21,63         | 0,63 | 20,7             | 79                 | 73,455 | 0,148  | 6,33    | 0,11 | 0,24    | 0,24 |



|                 |       |      |       |       |       |      |        |      |      |     |        |       |        |      |      |      |
|-----------------|-------|------|-------|-------|-------|------|--------|------|------|-----|--------|-------|--------|------|------|------|
| E <sub>28</sub> | 13,2  | 0,00 | 0,789 | 0,000 | 4,285 | 0,00 | 13,59  | 0,23 | 95,7 | 99  | 65,155 | 0,544 | 9,53   | 0,11 | 0,04 | 0,04 |
| E <sub>29</sub> | 16    | 0,00 | 0,228 | 0,001 | 4,125 | 0,00 | 15,26  | 0,15 | 9,0  | 49  | 79,855 | 0,262 | -0,093 | 0,03 | 0,20 | 0,20 |
| E <sub>30</sub> | 16,4  | 0,00 | 0,656 | 0,001 | 4,66  | 0,01 | 5,56   | 0,05 | 22,7 | 70  | 83,075 | 0,049 | -2,5   | 0,04 | 0,24 | 0,24 |
| E <sub>31</sub> | 17,2  | 0,00 | 1,460 | 0,000 | 4,455 | 0,02 | 5,47   | 0,01 | 15,4 | 123 | 61,335 | 0,134 | 11,475 | 0,05 | 0,02 | 0,02 |
| E <sub>32</sub> | 15,2  | 0,00 | 0,450 | 0,01  | 4,55  | 0,01 | 5,66   |      | 27,1 | 74  | 74,77  | 0,071 | 4,855  | 0,08 | 0,28 | 0,28 |
| E <sub>33</sub> | 18    | 0,00 | 0,228 |       | 4     | 0,00 | 9,53   | 0,61 | 10,3 | 34  | 87,385 | 0,163 | -4,48  | -    | 0,26 | 0,26 |
| E <sub>34</sub> | 18    | 0,00 | 1,124 | 0,000 | 4,66  | 0,00 | 8,46   | 0,47 | 32,9 | 90  | 77,195 | 0,049 | 1,54   | 0,03 | 0,01 | 0,01 |
| E <sub>35</sub> | 16,2  | 0,00 | 0,490 | 0,002 | 4,425 | 0,03 | 8,02   | 1,47 | 23,0 | 69  | 77,085 | 0,049 | 0,91   | 0,01 | 0,05 | 0,05 |
| E <sub>36</sub> | 17    | 0,00 | 0,395 | 0,000 | 4,065 | 0,00 | 18,00  | 0,27 | 17,5 | 91  | 67,315 | 0,233 | 6,135  | 0,08 | 0,42 | 0,42 |
| E <sub>37</sub> | 19,4  | 0,00 | 0,791 | 0,002 | 3,915 | 0,02 | 8,28   | 1,16 | 18,8 | 89  | 70,22  | 0,226 | 7,25   | 0,02 | 0,45 | 0,45 |
| E <sub>38</sub> | 25    | 0,00 |       |       |       |      | 7,77   | 0,58 | 8,9  | 103 | 75,57  | 0,141 | 1,075  | 0,09 | 0,21 | 0,21 |
| E <sub>39</sub> | 19,85 | 0,00 | 1,127 | 0,009 | 4,29  | 0,01 | 27,22  | 0,72 | 18,7 | 144 | 65,02  | 0,127 | 12,555 | 0,04 | 0,25 | 0,25 |
| E <sub>40</sub> | 20,2  | 0,2  | 0,787 | 0,000 | 4,13  | 0,01 | 0,37   | 0,05 | 9,3  | 139 | 64,67  | 0,085 | 12,365 | 0,05 | 0,17 | 0,17 |
| E <sub>41</sub> | 20,8  | 0,00 | 0,707 | 0     | 3,91  | 0    | 10,22  | 1,96 | 24,3 | 103 | 72,115 | 0,148 | 4,485  | 0,05 | 0,10 | 0,10 |
| E <sub>42</sub> | 15,2  | 0,14 | 0,133 | 0,001 | 3,965 | 0,04 | 112,62 | 2,02 | 6,7  | 34  | 87,805 | 0,021 | -4,435 | 0,04 | -    | -    |
| E <sub>43</sub> | 18,8  | 0,14 | 0,784 | 0,002 | 3,865 | 0,00 | 13,51  | 0,05 | 12,4 | 94  | 69,93  | 0,127 | 7,12   | 0,23 | 0,12 | 0,12 |
| E <sub>44</sub> | 14,6  | 0,00 | 0,451 | 0,000 | 4,16  | 0,00 | 10,64  | 0,08 | 25,9 | 125 | 59,59  | 0,735 | 11,865 | 0,35 | 0,86 | 0,86 |
| E <sub>45</sub> | 15,2  | 0,00 | 0,459 | 0,000 | 4,15  | 0,00 | 5,57   | 1,31 | 26,5 | 114 | 65,15  | 0,764 | 12,255 | -    | 1,29 | 1,29 |
| E <sub>46</sub> | 16,6  | 0,00 | 0,594 | 0,002 | 4,07  | 0,00 | 64,79  | 1,75 | 6,3  | 142 | 56,345 | 0,064 | 14,88  | 0,04 | 0,06 | 0,06 |
| E <sub>47</sub> | 16,2  | 0,00 | 0,733 | 0,002 | 4,04  | 0,00 | 37,61  | 1,19 | 16,7 | 120 | 68,54  | 0,042 | 8,525  | 0,18 | 0,11 | 0,11 |
| E <sub>48</sub> | 17,2  | 0,00 | 0,499 | 0,000 | 4,035 | 0,00 | 32,19  | 1,77 | 12,1 | 101 | 70,8   | 0,735 | 6,84   | 0,02 | 1,50 | 1,50 |
| E <sub>49</sub> | 16,8  | 0,14 | 0,425 | 0,280 | 4,09  | 0,00 | 33,80  | 5,44 | 14,2 | 83  | 77,32  | 0,212 | 1,905  | 0,03 | 0,49 | 0,49 |
| E <sub>50</sub> | 16,8  | 0,00 | 0,474 | 0,000 | 3,73  | 0,00 | 10,39  | 0,26 | 34,1 | 91  | 73,295 | 0,205 | 5,07   | 0,03 | 0,47 | 0,47 |
| E <sub>51</sub> | 16    | 0,00 | 0,666 | 0,250 | 3,76  | 0,00 | 8,94   | 0,79 | 38,0 | 95  | 72,95  | 0,127 | 5,3    | 0,02 | 0,25 | 0,25 |
| E <sub>52</sub> | 20,6  | 0,00 | 1,046 | 0,000 | 4,14  | 0,00 | 12,88  | 0,29 | 10,1 | 143 | 64,26  | 0,014 | 10,545 | 0,02 | 7,15 | 7,15 |
| E <sub>53</sub> | 17,8  | 0,00 | 0,468 | 0,000 | 3,94  | 0,01 | 9,95   | 0,80 | 11,8 | 150 | 53,495 | 0,375 | 8,505  | 6,55 | 0,12 | 0,12 |
| E <sub>54</sub> |       |      | 0,380 | 0,000 | 3,98  | 0,00 | 10,90  |      | 33,0 | 78  | 79,765 | 0,049 | -5,67  | 0,08 | 0,11 | 0,11 |
| E <sub>55</sub> | 17,2  | 0,00 | 0,674 | 0,001 | 4,05  | 0,00 | 33,36  | 1,82 | 11,5 | 150 | 55,535 | 0,431 | 11,85  | 0,03 | 0,07 | 0,07 |
| E <sub>56</sub> | 15,6  | 0,00 | 0,322 | 0,003 | 3,62  | 0,00 | 32,93  | 0,21 | 18,9 | 49  | 84,85  | 0,057 | -4,37  | 0,04 | 0,20 | 0,20 |
| E <sub>57</sub> | 16    | 0,00 | 0,730 | 0,000 | 3,8   | 0,00 | 9,06   | 0,42 | 6,4  | 13  | 89,59  | 0,000 | -5,645 | 0,03 | 0,15 | 0,15 |
| E <sub>58</sub> | 14,6  | 0,00 | 0,634 | 0,007 | 4,05  | 0,00 | 16,97  | 1,36 | 17,6 | 85  | 70,01  | 0,099 | 10,62  | 0,01 | 0,04 | 0,04 |
| E <sub>59</sub> | 16,6  | 0,00 | 0,640 | 0     | 4,13  | 0,00 | 19,70  |      | 9,7  | 37  | 81,555 | 0,007 | -2,08  | 0,05 | 0,13 | 0,13 |
| E <sub>60</sub> | 16,4  | 0,00 | 0,860 | 0,001 | 4,1   | 0,00 | 43,17  | 2,26 | 11,7 | 102 | 69,42  | 0,156 | 7,845  | 0,03 | 0,33 | 0,33 |





|     |      |      |       |       |       |      |       |      |      |    |        |       |       |      |      |      |
|-----|------|------|-------|-------|-------|------|-------|------|------|----|--------|-------|-------|------|------|------|
| E61 | 16,4 | 0,00 | 0,302 | 0     | 3,86  | 0,00 | 20,40 | 0,66 | 18,7 | 97 | 72,04  | 0,085 | 5,4   | -    | 0,20 | 0,20 |
| E62 | 14,6 | 0,00 | 0,135 | 0,002 | 3,92  | 0,00 | 7,50  | 0,66 | 20,6 | 28 | 88,41  | 0,014 | -4,55 | 0,01 | 0,06 | 0,06 |
| E63 | 16   | 0,00 | 0,630 | 0,000 | 4,045 | 0,00 | 19,13 | 0,27 | 18,8 | 91 | 74,695 | 0,007 | 4,06  | -    | 0,23 | 0,23 |

### Annexe.05 : Résultats du dosage des sucres par RMN

| Miel            | G+F  | F/G  | Fructose | Glucose | Sucrose | turanose | Maltose | Melezitose | Maltotriose | Gentiobiose | Raffinose | Mannose |
|-----------------|------|------|----------|---------|---------|----------|---------|------------|-------------|-------------|-----------|---------|
| E <sub>01</sub> | 72.4 | 1.31 | 41.1     | 31.2    | <LOQ    | 1.8      | 2.4     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>02</sub> | 73.3 | 1.36 | 42.2     | 31.1    | <LOQ    | 1.9      | 1.9     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>03</sub> | 69.8 | 1.21 | 38.2     | 31.6    | 0.7     | 1.3      | 2.4     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>04</sub> | 70.2 | 1.22 | 38.6     | 31.6    | <LOQ    | 1.6      | 2.1     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>05</sub> | 68.1 | 1.67 | 42.6     | 25.5    | <LOQ    | 1        | 1.5     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>06</sub> | 69.4 | 1.32 | 39.5     | 30      | 3.3     | 1.4      | 2.7     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>07</sub> | 72.1 | 1.29 | 40.6     | 31.5    | 2       | 1.7      | 2.8     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>08</sub> | 70.5 | 1.30 | 39.8     | 30.6    | <LOQ    | 1.7      | 1.5     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 1.1       | <LOQ    |
| E <sub>09</sub> | 70.4 | 1.15 | 37.6     | 32.8    | 0.7     | 1.8      | 2.0     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>10</sub> | 73.8 | 1.40 | 43       | 30.8    | <LOQ    | 2.3      | 2.1     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>11</sub> | 65.2 | 1.30 | 36.8     | 28.4    | <LOQ    | 1.8      | 2.8     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.4       | <LOQ    |
| E <sub>13</sub> | 68.7 | 1.56 | 41.8     | 26.8    | <LOQ    | 2        | 2.5     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.7       | <LOQ    |
| E <sub>14</sub> | 68.8 | 1.44 | 40.6     | 28.2    | <LOQ    | 2.2      | 0.6     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.3       | <LOQ    |
| E <sub>15</sub> | 69.2 | 1.54 | 42       | 27.3    | <LOQ    | 2        | 2.6     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.7       | <LOQ    |
| E <sub>16</sub> | 69   | 1.4  | 40.2     | 28.8    | <LOQ    | 1.9      | 2.5     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 1.2       | <LOQ    |
| E <sub>19</sub> | 72.2 | 1.12 | 38.2     | 34      | 0.5     | 1.7      | 1.9     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>20</sub> | 68.1 | 1.37 | 39.4     | 28.7    | <LOQ    | 2        | 2.2     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 1.7       | <LOQ    |
| E <sub>21</sub> | 68.3 | 1.41 | 39.9     | 28.4    | <LOQ    | 1.3      | 1.6     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | <LOQ      | <LOQ    |
| E <sub>22</sub> | 71.2 | 1.31 | 40.4     | 30.8    | <LOQ    | 1.9      | 1.7     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>23</sub> | 72.5 | 1.32 | 41.2     | 31.3    | <LOQ    | 2.1      | 0.8     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>24</sub> | 73.9 | 1.39 | 43       | 30.9    | <LOQ    | 2.2      | 2       | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>25</sub> | 75.6 | 1.42 | 44.4     | 31.2    | 1       | 1.2      | 2       | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.1       | <LOQ    |
| E <sub>26</sub> | 72.3 | 1.35 | 41.6     | 30.7    | <LOQ    | 1.3      | 1.9     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>27</sub> | 71.6 | 1.28 | 40.2     | 31.4    | 0.5     | 1.5      | 2.4     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.5       | <LOQ    |
| E <sub>28</sub> | 71.5 | 1.33 | 40.9     | 30.7    | <LOQ    | 2.3      | 1.5     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>29</sub> | 68.7 | 1.31 | 39       | 29.7    | 1.5     | 2.6      | 3.6     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |
| E <sub>30</sub> | 67.9 | 1.34 | 39       | 29      | 1.7     | 2.5      | 2.9     | <LOQ       | <LOQ        | <LOQ        | 0.2       | <LOQ    |



|     |      |      |      |      |      |     |     |      |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| E32 | 66.3 | 1.51 | 39.8 | 26.5 | 1    | 3   | 2.2 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.4  | <LOQ |
| E33 | 68.6 | 1.21 | 37.6 | 31   | 1.4  | 2.1 | 3.3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.5  | <LOQ |
| E34 | 61.2 | 1.65 | 38.1 | 23.1 | 1.1  | 2   | 2.5 | <LOQ | 1.6  | <LOQ | 1.4  | <LOQ |
| E35 | 67.7 | 1.34 | 38.8 | 28.9 | 1.1  | 2.8 | 1.8 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.3  | <LOQ |
| E36 | 69.2 | 1.22 | 38.1 | 31.2 | <LOQ | 1.7 | 1.5 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E37 | 65.6 | 1.33 | 37.4 | 28.2 | <LOQ | 1.8 | 2.3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 3.2  | <LOQ |
| E38 | 52.8 | 0.86 | 24.4 | 28.5 | <LOQ | 1.7 | 1.7 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 3.1  | <LOQ |
| E39 | 66.1 | 1.28 | 37.2 | 28.9 | <LOQ | 1.4 | 1.6 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E40 | 70.4 | 1.1  | 36.9 | 33.5 | <LOQ | 1.2 | 1.4 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E41 | 71.2 | 1.16 | 38.3 | 33   | 1    | 2.8 | 2.6 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E42 | 58.9 | 1.27 | 33   | 25.9 | <LOQ | 1.2 | 1.8 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 1.5  | <LOQ |
| E43 | 63.6 | 1.68 | 39.9 | 23.7 | 1.4  | 1.3 | 3   | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.8  | <LOQ |
| E45 | 70.5 | 1.29 | 39.8 | 30.7 | <LOQ | 2.1 | 1.8 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E46 | 67.4 | 1.31 | 38.2 | 29.1 | <LOQ | 2.2 | 2   | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E47 | 67.2 | 1.27 | 37.7 | 29.6 | 1.4  | 2.2 | 3.3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ |
| E48 | 68.1 | 1.55 | 41.4 | 26.7 | <LOQ | 2.1 | 1.5 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E49 | 69.7 | 1.33 | 39.7 | 29.9 | <LOQ | 2.2 | 0.9 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E50 | 74.3 | 1.36 | 42.9 | 31.4 | <LOQ | 1.4 | 2   | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E51 | 73.4 | 1.37 | 42.4 | 31   | <LOQ | 1.4 | 2   | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E52 | 64.7 | 1.27 | 36.2 | 28.5 | <LOQ | 1.7 | 1.8 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.8  | <LOQ |
| E53 | 66.7 | 1.29 | 37.5 | 29.1 | <LOQ | 1.9 | 1.2 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E54 | 70.8 | 1.4  | 41.3 | 29.5 | <LOQ | 2   | 1.1 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E55 | 67   | 1.32 | 38.1 | 28.8 | <LOQ | 2.2 | 1.6 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.4  | <LOQ |
| E56 | 71.1 | 1.4  | 41.4 | 29.7 | <LOQ | 1.7 | 1.5 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E57 | 68.1 | 1.26 | 38.1 | 30.1 | 1.8  | 3.1 | 3.3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.3  | <LOQ |
| E58 | 69.5 | 1.38 | 40.4 | 29.1 | 0.5  | 2.1 | 2.4 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.3  | <LOQ |
| E59 | 69.3 | 1.32 | 39.4 | 29.9 | <LOQ | 2.1 | 2   | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E60 | 66.8 | 1.19 | 36.4 | 30.5 | <LOQ | 1.8 | 1.6 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E61 | 69.4 | 1.27 | 38.9 | 30.5 | <LOQ | 2.2 | 1.8 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.2  | <LOQ |
| E62 | 74.4 | 1.18 | 40.3 | 34.1 | 0.6  | 1.7 | 2.1 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.1  | <LOQ |
| E63 | 66.5 | 1.32 | 37.8 | 28.7 | 0.6  | 1.8 | 2.7 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 2.6  | <LOQ |

F : Fructose ; G : Glucose ; LOQ : limite de quantification

**Annexe 06.** Résultats de l'identification moléculaire des souches isolées à partir de miel

| Lb               | Séquences                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Blast-NCBI               | %   | Référence   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----|-------------|
| 21R19            | CACCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAAGGTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTC<br>ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGTAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCG<br>CGAGTTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGG<br>CAGTCTCACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTATCTACGACACGAGCTGACGACAACCATG<br>CACCACCTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTAGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCT<br>CCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGTGCAGCACTGAAGGGCGGAA<br>ACCTTCCAACACTTAGCAATTCATCGTTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATATCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAG<br>CCGCTTCGCGCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCT<br>TCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGC<br>TGGCAGCTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGTTAATACCGTCAATACCTGAACAGTTAC        | <i>lb.<br/>plantarum</i> | 99  | MG913360.1  |
| Lb <sub>77</sub> | CCCCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAAGGTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTC<br>ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGTAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCG<br>CGAGTTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGG<br>CAGTCTCACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTATCTACGACACGAGCTGACGACAACCATG<br>CACCACCTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTAGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCT<br>CCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGTGCAGCACTGAAGGGCGGAA<br>ACCTTCCAACACTTAGCAATTCATCGTTTACGGATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATATCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGC<br>CGCCTTCGCGCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCT<br>CGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCT<br>GGCAGCTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGTTAATACCGTCAATACCTGAACATTACTCTCAGATT | <i>lb.<br/>plantarum</i> | 99  | MG754553.1  |
| Lb <sub>01</sub> | AACTGTAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGGAGTTCGCAACTCGTTGTACCATCTTGTAGCAGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGA<br>TTTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTCACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTT<br>AACCCAACTATCTACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTATCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTAGTCAAGACCTG<br>GTAAGGTTCTTCCGCTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGG<br>AATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTTCAACACTTAGCAATTCATCGTTTACGGTATGGACTACCAAGGGTATCTAATCTGTTGTACCC<br>ATACTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTTCGCCACTGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCC<br>TCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATAAATCC<br>GGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGCTAGTTAGCCGTGGCTTC                                                                                                                                                                                                                                 | <i>lb sp.</i>            | 99  | KX301286.1L |
| Lb <sub>08</sub> | TTAGGCGGCTGGTTCCTAAAAGGTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCG<br>CGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGTAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGAGTT<br>CGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGTCTATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCT<br>CACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTATCTACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC<br>CTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTAGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG<br>CTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTTC<br>CAACACTTAGCAATTCATCGTTTACGGTATGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATATCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTC<br>GCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTCGGTTGA<br>GCCGAAGGCTTCA                                                                                                                                                                 | <i>lb. pentosus</i>      | 100 | MG976651.1  |
| Lb <sub>09</sub> | GCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGTAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGAGTTC<br>GCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTC<br>ACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTATCTACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC<br>TGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTAGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG<br>TTGTGCGGGCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTTC<br>AACACTTAGCAATTCATCGTTTACGGTATGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATATCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTC<br>CGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTCGGTTG<br>AGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATA                                                                                                                                                                                                                                    | <i>lb.<br/>plantarum</i> | 99  | MH231456.1  |



|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                  |     |            |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----|------------|
| Lb <sub>12</sub> | TGTAGCACGCTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGTCATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACACGGGCAGTCTCACCAGAGTGCCCAA<br>CTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAACACCTGTATCCATG<br>TCCCGAAGGGAAACGCTAATCTCTTAGATTTGCAATAGTATGTCAGAGCTTGAAGGTTCTTGCGGTAGCTTCGAAATTAACACATGCTCCACCGCTTTGTG<br>CGGGCCCCCGTCAATTCTTTAGTTTCAGCCTTTCGCGGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAA<br>CACTTAGCATTCATCGTTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCC<br>TTGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCCGTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTT<br>CGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCATA                                                                                                                                                                                                                                  | lb.<br>plantarum | 100 | KX074217.1 |
| Lb <sub>29</sub> | AAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCG<br>ATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGTTCCGAACTCGTTGTACCAT<br>CCATTGTAGCACGCTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGCATGATGATTTGACGTCACTCCCACTTCCTCCGTTTGTACCGGCAGTCTCACCAGAGTGCCCAACT<br>AATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAACACCTGTATCCATGTCCCGA<br>AGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGCAATGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCGCTGTGTGCGGGCCCCCGT<br>CAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACTTAGCATTCATC<br>GTTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTC<br>CATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTCGGTGTAGCCGAAGGCTTTCC                                                              | lb.<br>plantarum | 100 | MH231456.1 |
| Lb <sub>39</sub> | GACGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAAT<br>CCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGATTTCGCAACTCGTTGTAGCCAGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGA<br>TTTGACGTCACTCCCACTTCCTCCGTTTGTACCGGCAGTCTCACCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTT<br>AACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTAAGACCTG<br>GTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTTCGCGGCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGG<br>AATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACTTAGCATTCATCGTTTACGGTATGGAATACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCC<br>ATACTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCC<br>TCTTCTGCATCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTTCGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCC<br>GGACAACGCTTGCCACGTAGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGG            | lb.<br>Pentosis  | 100 | MG976651.1 |
| Lb <sub>47</sub> | TAGGCGGCTGGTTCTTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCG<br>GGCATGCTGATCCCGGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGAGTT<br>CGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCACTCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCT<br>CACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAACAC<br>CTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTCAAGACCTGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCG<br>CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTTC<br>CAACACTTAGCATTCATCGTTTACGGTATGGAATACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCT<br>TCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCATTTCTCGGT<br>GAGCCGAAGGCTTTCCATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCC | lb.<br>plantarum | 99  | CP024413.1 |
| LB <sub>49</sub> | TATAGCGGCTGGTTCTTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCG<br>CGGCATGCTGATCCCGGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGAGT<br>TCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCACTCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCT<br>CACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAACAC<br>CTGTATCCATGTCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTCAAGACCTGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCG<br>CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTAGTTTCAGCCTTTCGCGCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTTC<br>CAACACTTAGCATTCATCGTTTACG                                                                                                                                                                                                                                                   | lb.<br>pentosis  |     | MF611835.1 |
| Lb <sub>64</sub> | GTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATA<br>TATCAGCGATTTCACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCGCACTCAAGTTTCCGATGCATTTCTCGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAG<br>ACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCATAAATCCGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAATTAGCCGTGGCTTTCTGGT<br>AA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | lb.<br>plantarum | 99  | KY658478.1 |



## Annexes

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                  |     |                   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----|-------------------|
|                  | AACACTTAGCATTATCGTTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGGCTACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTT<br>CGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAGTTCACACTGTCTCTTCTGCACCTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACCTTCTCGGTTG<br>AGCCGAAGGCTTTACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGC<br>TAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAATACCGTCATACCTGAACAGTACTCTC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                  |     |                   |
| Lb <sub>65</sub> | CACCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCA<br>CCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGC<br>GAGTTCGCAACTCGTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTAAGGGGCATGATGATTGACGTCAATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGC<br>AGTCTCACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGC<br>ACCACCTGTATCCATGTCCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTTGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCC<br>ACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATTCTTTGAGTTTCAGCCTTGGCGCCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAAC<br>CCTCCAACACTTAGCAITTCATCGTTACGGTATGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCG<br>CCTTCGCCACTGGTGTCTTCAATATCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCTCTTCTGCACCTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACCTTCTCGGT<br>TGAGCCGAAGGCTTTCATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGCACCTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC<br>GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAAATACCGTCAATACCTGAACAGTACTCTCAGATA                         | Lb.<br>plantarum | 99  | MG913360.1        |
| Lb <sub>76</sub> | ACCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCA<br>CCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCACAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGC<br>AGTTCGCAACTCGTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTAAGGGGCATGATGATTGACGCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAG<br>TCTCACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAC<br>CACCTGTATCCATGTCCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCA<br>CCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATTCTTTGAGTTTCAGCCTTGGCGCCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACC<br>CTCCAACCTTAGCAITTCATCGTTTACGGTATGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGCACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCC<br>TTGCCACTGGTGTCTCATATATCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCTCTTCTGCACCTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACCTTCTCGGTG<br>AGCCGAAGGCTTTCATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA<br>GTAGTTA                                                                                 | lb.<br>plantarum | 100 | MG913360.1        |
| Lb <sub>89</sub> | CTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCAAC<br>GCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGA<br>GTTTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTAAGGGGCATGATGATTGACGTCAATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAG<br>TCTCACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAC<br>CACCTGTATCCATGTCCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTTCGAATTAACACCATGCTCCA<br>CCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATTCTTTGAGTTTCAGCCTTGGCGCCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACC<br>CTCCAACACTTAGCAITTCATCGTTTAC<br>GGTATGGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCAT<br>ATATCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCTCTTCTGCACCTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACCTTCTTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCATCA<br>GACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTG<br>GTTAATACCGTCATACCTGAAC                              | lb.<br>plantarum | 100 | MH231456.1        |
| Lb <sub>84</sub> | CTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCAAC<br>GCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGA<br>GTTTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCTAAGGGGCATGATGATTGACGTCAATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAG<br>TCTCACCAGAGTGCCCACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCAC<br>CACCTGTATCCATGTCCCCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTGTCATAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTTCGAATTAACACCATGCTCCA<br>CCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATTCTTTGAGTTTCAGCCTTGGCGCCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACC<br>CTCCAACACTTAGCAITTCATCGTTTAC<br>CTTCAACACTTAGCAITTCATCGTTTACGGTATGGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCG<br>CTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAGTTCACCTGTCTCTTCTGCACCTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACCTTCTTCGGT<br>TTGAGCCGAAGGCTTTCATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGC<br>ACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAATACCGTCATACCTGAAC | lb.<br>plantarum | 100 | <u>MK818745.1</u> |


**Annexe.07 : Résultats de l'étude de c'activité antioxydante des miels algériens**

| Miel            | PT (mg/100g) |       | FT (mg/100g) |      | DPPH (%RSA ) |      | IC50    |       |
|-----------------|--------------|-------|--------------|------|--------------|------|---------|-------|
| Miel            | Moyenne      | ±SD   | Moyenne      | ±SD  | Moyenne      | ±SD  | Moyenne | ±SD   |
| E <sub>1</sub>  | 43,18        | 0,38  | 2,59         | 0,07 | 15,33        | 1,16 | 32,71   | 2,48  |
| E <sub>2</sub>  | 42,64        | 0,76  | 6,12         | 0,21 | 14,70        | 0,59 | 34,03   | 1,37  |
| E <sub>3</sub>  | 48,14        | 9,30  | 1,40         | 0,45 | 22,44        | 1,43 | 22,32   | 1,43  |
| E <sub>4</sub>  | 95,40        | 0,95  | 4,35         | 0,24 | 32,05        | 1,23 | 15,61   | 0,60  |
| E <sub>5</sub>  | 127,76       | 7,21  | 5,78         | 0,07 | 37,31        | 1,70 | 13,42   | 0,61  |
| E <sub>06</sub> | 20,89        | -     | 0,24         | 0,03 | 13,62        | 0,06 | 36,70   | 0,16  |
| E <sub>07</sub> | 33,51        | -     | 2,59         | 0,07 | 10,22        | 0,39 | 48,98   | 1,88  |
| E <sub>08</sub> | 72,18        | 0,38  | 6,12         | 0,21 | 26,63        | 3,62 | 18,95   | 2,57  |
| E <sub>09</sub> | 57,01        | 0,95  | 5,25         | 0,07 | 19,56        | 5,20 | 26,49   | 7,04  |
| E <sub>10</sub> | 63,45        | 2,47  | 6,60         | 0,14 | 31,42        | 2,15 | 15,95   | 1,09  |
| E <sub>11</sub> | 50,83        | 1,71  | 3,94         | 0,14 | 23,84        | 3,31 | 21,18   | 2,94  |
| E <sub>12</sub> | 66,40        | 1,71  | 5,54         | -    | 3,12         | 4,41 |         |       |
| E <sub>13</sub> | 101,44       | 5,70  | 4,50         | 0,03 | 42,33        | 1,27 | 11,82   | 0,36  |
| E <sub>14</sub> | 86,94        | 9,11  | 5,34         | 0,21 | 28,04        | 4,85 | 18,10   | 3,13  |
| E <sub>15</sub> | 53,92        | 0,38  | 5,20         | 0,07 | 40,81        | 1,76 | 12,26   | 0,53  |
| E <sub>16</sub> | 73,38        | 9,30  | 5,83         | 0,55 | 47,58        | 3,84 | 10,54   | 0,85  |
| E <sub>17</sub> | 90,44        | 3,42  | 7,50         | 1,27 | 33,15        | 6,78 | 15,41   | 3,15  |
| E <sub>18</sub> | 83,59        | 2,47  | 7,57         | 0,14 | 31,17        | 0,41 | 16,04   | 0,21  |
| E <sub>19</sub> | 44,65        | 68,92 | 5,34         | 0,55 | 33,42        | 0,57 | 14,96   | 0,25  |
| E <sub>20</sub> | 40,36        | 11,58 | 6,39         | 0,24 | 57,54        | 2,34 | 8,70    | 0,35  |
| E <sub>21</sub> | 24,38        | 0,38  | 5,61         | 0,03 | 37,66        | 7,88 | 13,57   | 2,84  |
| E <sub>22</sub> | 33,91        | 0,19  | 6,77         | 0,38 | 22,78        | 3,14 | 22,16   | 3,05  |
| E <sub>23</sub> | 28,95        | 1,90  | 5,34         | 0,07 | 25,07        | 1,98 | 20,00   | 1,58  |
| E <sub>24</sub> | 35,79        | 0,57  | 3,75         | -    | 11,12        | 3,83 | 47,81   | 16,46 |
| E <sub>25</sub> | 73,92        | 0,19  | 5,22         | 0,17 | 40,38        | 0,71 | 12,38   | 0,22  |
| E <sub>26</sub> | 73,92        | 0,19  | 2,13         | 0,10 | 21,27        | 3,20 | 23,78   | 3,58  |
| E <sub>27</sub> | 60,09        | 2,28  | 4,96         | -    | 35,96        | 3,45 | 13,97   | 1,34  |
| E <sub>28</sub> | 109,90       | 4,37  | 10,50        | 0,03 | 23,70        | 1,65 | 21,15   | 1,47  |
| E <sub>29</sub> | 88,02        | 1,90  | 2,68         | 0,07 | 17,98        | 1,53 | 27,91   | 2,37  |
| E <sub>30</sub> | 84,93        | 3,23  | 5,10         | 0,07 | 38,19        | 3,42 | 13,14   | 1,18  |
| E <sub>31</sub> | 177,70       | 4,56  | 8,61         | 0,03 | 62,07        | 0,66 | 8,06    | 0,09  |
| E <sub>32</sub> | 72,31        | 2,85  | 5,20         | 0,21 | 33,19        | 0,73 | 15,07   | 0,33  |
| E <sub>33</sub> | 24,38        | 2,28  | 2,51         | 0,17 | 10,05        | 0,93 | 49,97   | 4,61  |
| E <sub>34</sub> | 96,48        | 7,03  | 4,55         | 0,10 | 52,99        | 1,24 | 9,44    | 0,22  |
| E <sub>35</sub> | 63,72        | 1,71  | 5,08         | 0,03 | 17,99        | 0,34 | 27,80   | 0,53  |
| E <sub>36</sub> | 68,95        | 4,56  | 7,04         | 0,14 | 13,53        | 0,78 | 37,01   | 2,13  |
| E <sub>37</sub> | 89,50        | 2,09  | 6,05         | 0,65 | 46,71        | 1,52 | 10,71   | 0,35  |
| E <sub>38</sub> | 74,59        | 1,52  | 9,12         | 0,34 | 39,33        | 0,64 | 12,72   | 0,21  |
| E <sub>39</sub> | 123,19       | 1,14  | 10,45        | 0,72 | 47,28        | 0,06 | 10,58   | 0,01  |
| E <sub>40</sub> | 138,50       | 9,49  | 11,69        | 0,41 | 40,15        | 2,21 | 12,47   | 0,69  |
| E <sub>41</sub> | 83,86        | 2,47  | 7,74         | 0,10 | 46,15        | 2,72 | 10,85   | 0,64  |
| E <sub>42</sub> | 40,49        | 0,76  | 1,86         | 0,07 | 17,02        | 0,63 | 29,40   | 1,09  |
| E <sub>43</sub> | 72,45        | -     | 5,22         | 0,31 | 37,38        | 0,27 | 13,38   | 0,10  |
| E <sub>44</sub> | 173,54       | 8,92  | 8,78         | 0,41 | 79,50        | 0,31 | 6,29    | 0,02  |
| E <sub>45</sub> | 182,27       | 0,38  | - 0,22       |      | 78,94        | 0,49 | 6,33    | 0,04  |
| E <sub>46</sub> | 98,49        | 2,28  | 13,43        | 0,62 | 34,31        | 0,32 | 14,57   | 0,13  |
| E <sub>47</sub> | 103,73       | 0,19  | 12,49        | 0,17 | 37,63        | 1,46 | 13,30   | 0,52  |
| E <sub>48</sub> | 81,98        | 4,37  | 6,56         | 0,55 | 40,38        | 0,04 | 12,38   | 0,01  |

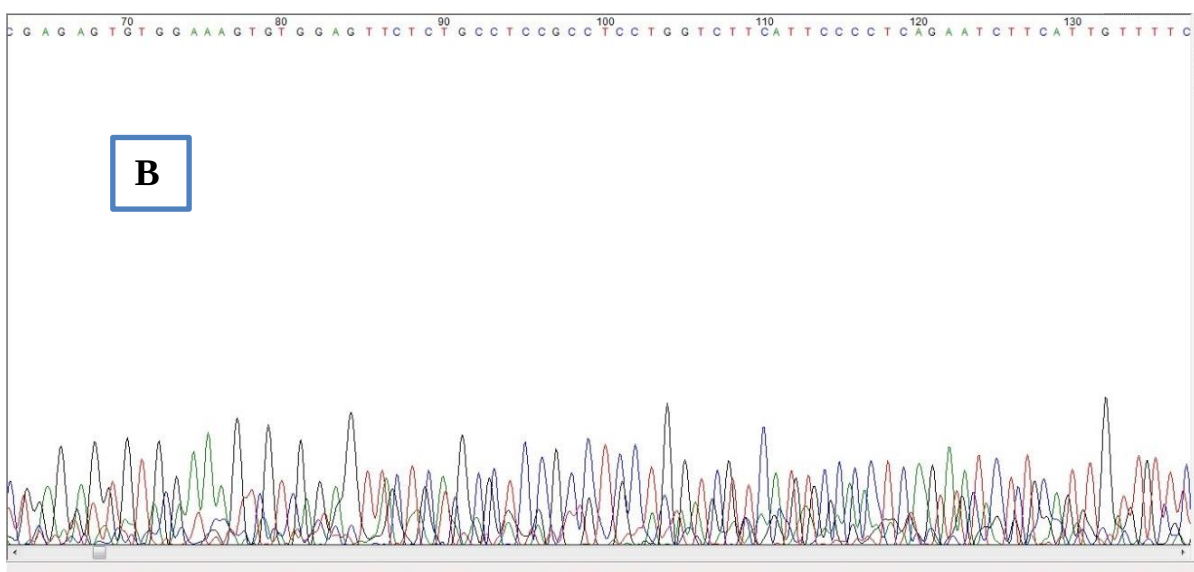
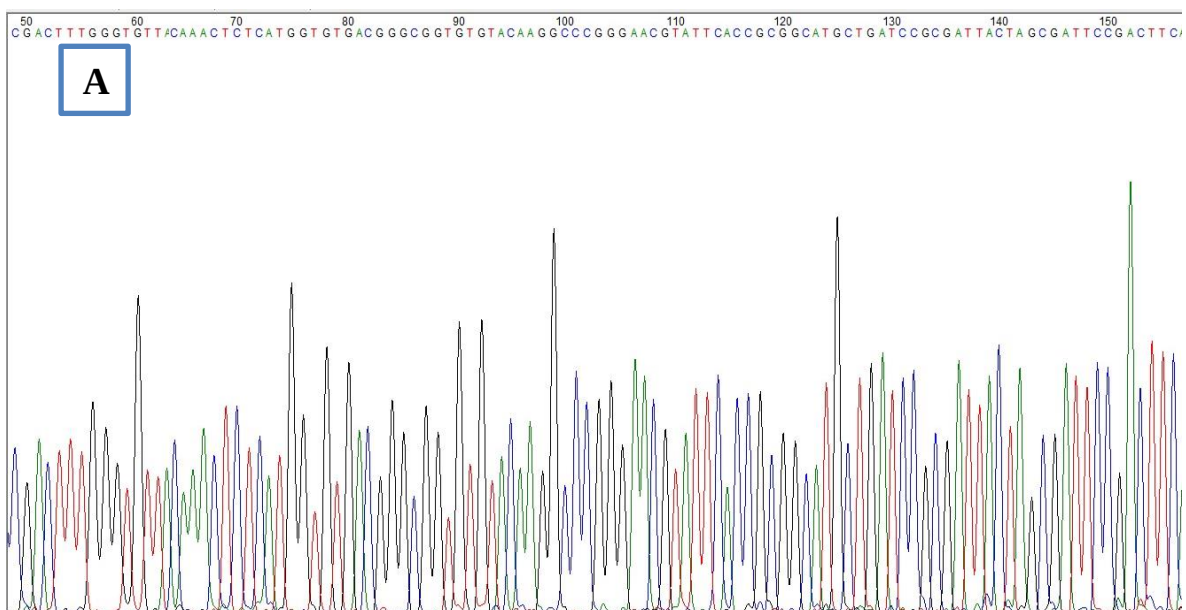




|                 |        |      |  |       |      |       |      |       |      |
|-----------------|--------|------|--|-------|------|-------|------|-------|------|
| E <sub>49</sub> | 80,37  | 1,33 |  | 4,64  | 0,03 | 35,17 | 0,40 | 14,22 | 0,16 |
| E <sub>50</sub> | 94,60  | 0,57 |  | 6,99  | 0,89 | 39,51 | 0,86 | 12,66 | 0,27 |
| E <sub>51</sub> | 102,25 | 5,70 |  | 7,48  | 0,07 | 34,73 | 0,20 | 14,40 | 0,08 |
| E <sub>52</sub> | 103,86 | 2,66 |  | 12,92 | 0,10 | 48,77 | 0,31 | 10,25 | 0,07 |
| E <sub>53</sub> | 136,49 | 4,37 |  | 10,86 | 0,41 | 32,11 | 6,76 | 15,93 | 3,35 |
| E <sub>54</sub> | 79,29  | 0,19 |  | 5,15  | 0,48 | 38,19 | 3,45 | 13,14 | 1,19 |
| E <sub>55</sub> | 139,71 | 2,09 |  | 9,97  | 0,51 | 47,72 | 0,84 | 10,48 | 0,18 |
| E <sub>56</sub> | 90,17  | -    |  | 3,58  | 0,38 | 41,75 | 1,34 | 11,98 | 0,38 |
| E <sub>57</sub> | 26,53  | 1,14 |  | 0,72  | 0,03 | 13,35 | 0,19 | 37,45 | 0,53 |
| E <sub>58</sub> | 88,82  | 0,38 |  | 5,30  | 0,27 | 41,73 | 3,35 | 12,02 | 0,96 |
| E <sub>59</sub> | 38,34  | -    |  | 1,25  | 0,10 | 16,62 | 0,07 | 30,08 | 0,12 |
| E <sub>60</sub> | 75,67  | 1,14 |  | 3,80  | 0,07 | 52,16 | 3,45 | 9,61  | 0,64 |
| E <sub>61</sub> | 70,16  | 2,47 |  | 6,51  | 0,62 | 20,70 | 4,49 | 24,73 | 5,36 |
| E <sub>62</sub> | - 4,08 | -    |  | 1,33  | 0,21 | 14,34 | 1,18 | 34,99 | 2,87 |
| E <sub>63</sub> |        |      |  | 6,36  | 0,14 | 49,57 | 0,61 | 10,09 | 0,12 |

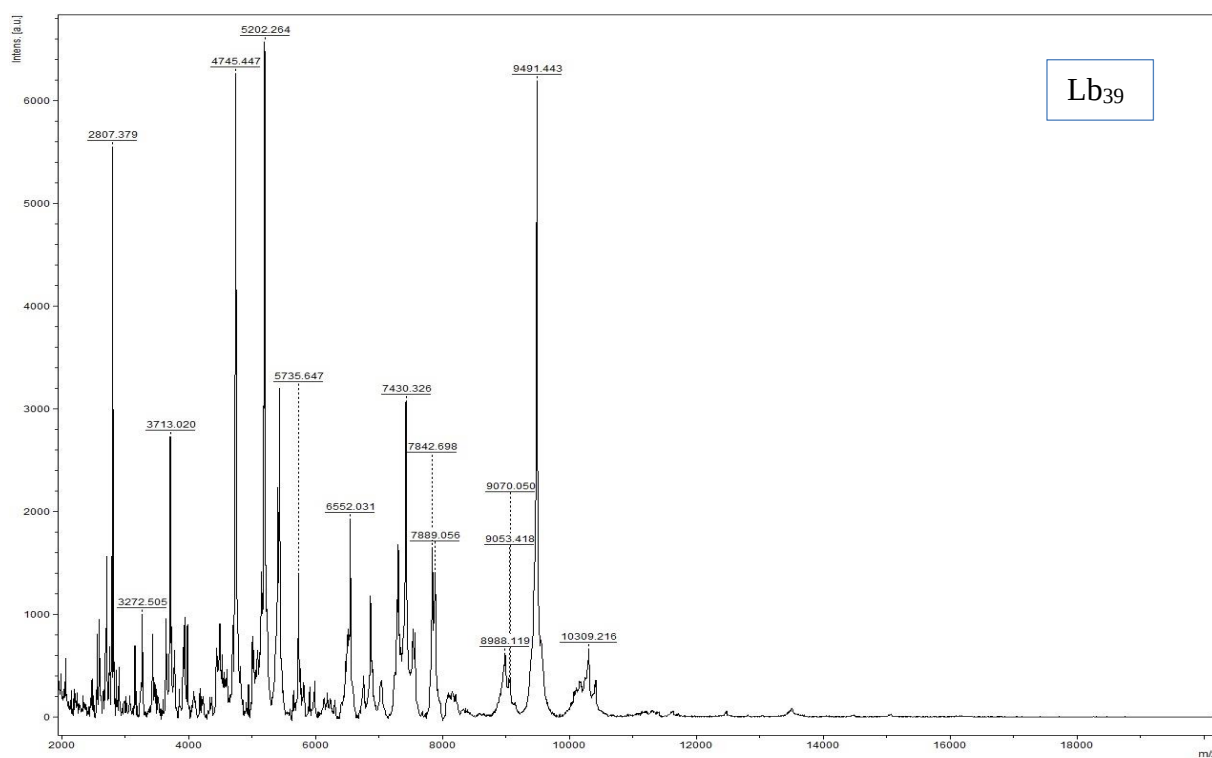
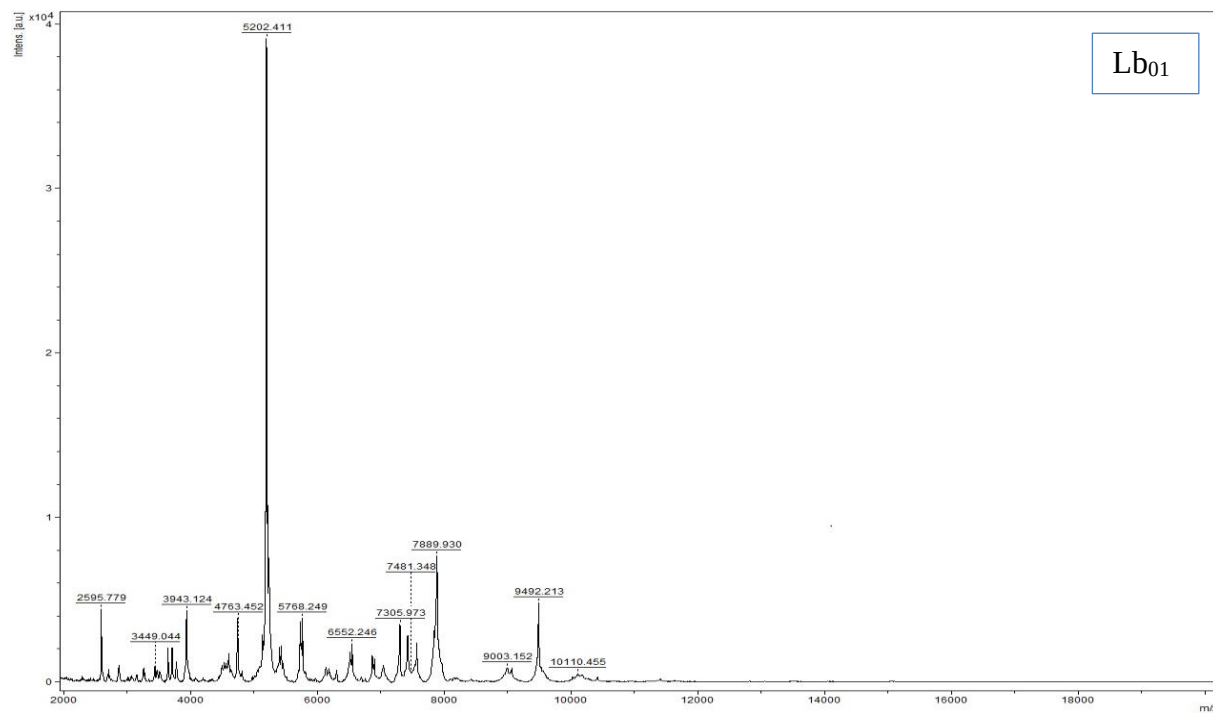


**Annexe. 08.** Chromatogramme obtenu pour les séquences du gène 16S rDNA de différentes souches de lactobacilles (A=Lb<sub>01</sub>, B=Lb<sub>49</sub>)





**Annexe.09 :** Profils des spectres de MALDI-TOF/MS de différentes souches de lactobacilles. A : Lb<sub>01</sub>, B : Lb<sub>39</sub>





### Annexe. 10 : Résultat obtenu de l'identification par MALDI-TOF

| VITEK® MS Reviews                                             |  |                |                                                |      |  |  |        |
|---------------------------------------------------------------|--|----------------|------------------------------------------------|------|--|--|--------|
| 172.16.16.85/myla/Views/msid/review/msidReview.jsf?cid=657897 |  |                |                                                |      |  |  |        |
| VITEK® MS Reviews                                             |  |                |                                                |      |  |  |        |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB104-1        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB29-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB116-1        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb47-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb66-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lc2-1          | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB106-1        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb12-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | Ech21purif19-1 | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB1191-1       | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb09-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb132-2        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | lb98-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB120-2        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | 37R14-1        | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB44-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB65-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB42-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB120-1        |                                                |      |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB64-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |
| <input type="checkbox"/>                                      |  | LB99-1         | Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum | 99.9 |  |  | Écarté |

### Annexe. 11 : Préparation de la solution de CARREZ I et CARREZ II

- Solution de CARREZ I 15g d'Hexacyanoferrate de Potassium  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  dissouts dans de l'eau en rapportant de volume à 100ml
- Solution de CARREZ II 30g d'Acétate de Zinc  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ , dissouts dans de l'eau en rapportant ensuite le volume à 100ml

### Annexe. 12 : Préparation de la solution d'acétate tampon (pH =5,3)

43,5g d'acétate de sodium ( $CH_3COONa$ ),est dissout dans de l'eau distillée. Le pH est ajusté à 5,3 avec de l'acide acétique glacial et le volume de la solution est ramené à 250ml avec de l'eau distillée.





## Publications scientifiques

 **Homrani Mounia**, Dalache Fatiha, Bouzouina Mohammed, Nemiche Said, Homrani Abd el Kader, 2019. Antibacterial Activities of Algerian raw Honeys and Isolated *Lactobacillus* against Gram-negative Bacteria, ADVANCES IN BIORESEARCH Vol 10 [1] 2019. <http://soeagra.com/abr/abrjan2019/6a.pdf>

 **Homrani Mounia**, Dalache Fatiha, Bouzouina Mohammed, Nemmiche Said, Homrani Abdelkader, 2018. Activité antibactérienne de lactobacilles détectés dans des miels bruts algériens contre des bactéries à Gram négatif. South Asian Journal of Experimental Biology, 8 (3), <http://sajeb.org/index.php/sajeb/article/view/20549>

## Communications internationales

 **Homrani M.**, Seijo M. C., Dalache F., Bouzouina M., Rodríguez-Flores M. S., Escuredo O., 2019. Etude méliissopalynologique des miels de la région de Médéa (Algérie), MedPalyno 2019 : The Mediterranean Palynological Societies Symposium, 9 – 11 juillet 2019, Bordeaux (France). <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02274992/document>

 **HOMRANI Mounia**, DALACHE Fatiha, BOUZOUINA Mohammed, HOMRANI Abdelkader, 2019. Identification des Lactobacilles isolés à partir de miels frais Algériens, 2<sup>ème</sup> Colloque des Bactéries Lactiques, 12—14 juin 2019, Caen (France). <https://cbl2019.sciencesconf.org/resource/page/id/6>

 **Mounia Homrani**, Fatiha Dalache, Mohammed Bouzouina, Abdelkader Homrani, 2018. Identification des Lactobacilles isolés à partir de miels algériens, 1<sup>ère</sup> Conférence Internationale sur l'Apiculture, les Produits de la Ruche et du Développement Durable « ICAPSD2018 » les 25 et 26 novembre 2018 à la bibliothèque centrale, Université de Mostaganem. <https://www.univ-mosta.dz/wp-content/uploads/2018/11/programme.pdf>

 Benabellah Gacemi, Fatiha Dalache, **Mounia Homrani**, 2018. Contribution à l'étude in vitro de l'effet antibactérien et antioxydant de quelques extraits de la propolis (collectés de différentes régions géographiques d'Algérie), 1<sup>ère</sup> Conférence Internationale sur l'Apiculture, les Produits de la Ruche et du Développement Durable « ICAPSD2018 » les 25 et 26 novembre 2018 à la bibliothèque centrale, Université de Mostaganem. <https://www.univ-mosta.dz/wp-content/uploads/2018/11/programme.pdf>

 Abdelbaki Bouhali, Fatima Liche, **Mounia Homrani**, Hadda Sayhi, Abdelkader Homrani, 2018. Etude de quelques propriétés physicochimiques de miels algériens, 1<sup>ère</sup> Conférence Internationale sur l'Apiculture, les Produits de la Ruche et du Développement Durable « ICAPSD2018 » les 25 et 26 novembre 2018 à la bibliothèque centrale, Université de Mostaganem. <https://www.univ-mosta.dz/wp-content/uploads/2018/11/programme.pdf>

 Carmen M. Seijo, **Mounia Homrani**, M. Chantal Rodriguez-Flores, Escuredo Olga, Honey and territory, melissopalynology as a tool to guarantee quality and geographical





origin, 2018. 1<sup>ère</sup> Conférence Internationale sur l'Apiculture, les Produits de la Ruche et du Développement Durable « ICAPSD2018 » les 25 et 26 novembre 2018 à la bibliothèque centrale, Université de Mostaganem. <https://www.univ-mosta.dz/wp-content/uploads/2018/11/programme.pdf>



**Mounia Homrani**, Fatiha Dalache, Mohammed Bouzouina, Abdelkader Homrani, 2018. Etude du pouvoir inhibiteur des miels sur l'adhésion Adherent-Invasive *E. coli* aux cellules intestinales, 1<sup>ère</sup> Conférence Internationale sur l'Apiculture, les Produits de la Ruche et du Développement Durable « ICAPSD2018 » les 25 et 26 novembre 2018 à la bibliothèque centrale, Université de Mostaganem. <https://www.univ-mosta.dz/wp-content/uploads/2018/11/programme.pdf>



**Homrani M.**, Rodriguez-Flores M.S., Dalache F., Escuredo O., Bouzouina M. Seijo M. C., 2017. Mellissopalynological analysis of honey from the region of Mostaganem (Algeria), MedPalyno, Mediterranean Palynology APLE-GPPSBI-APLF Symposium, Barcelona, 4-6 september 2017. <http://lap.uab.cat/aerobiologia/es/bibliography#organizedcongresses>



**Homrani Mounia**, Boudroua Kaddour et Bouzouina Mohamed, 2015. Caractéristiques physicochimiques, propriétés sensorielles et activités antioxydantes des miels Algériens en relation avec la flore mellifère : 2<sup>ème</sup> Journée Internationale sur les Sciences de l'agriculture, Environnement et Santé, 15 avril 2015 Université de Tlemcen.

## Communications nationales



**Homrani M.**, Rodriguez-Flores M.S., Dalache F., Escudo O., Bouzouina M., Seijo MC., Homrani A. 2017. Etudes des Caractéristiques physico-chimiques de miels de la région de Mostaganem, 2<sup>ème</sup> Journée Scientifique et Technique : Apiculture et Valorisation des Produits de la Ruche ; 21 mai 2017, Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale – Université de Mostaganem



**Homrani M** 2017. Les critères de qualité du miel. Expo Miel 2017 du 8 au 12 janvier 2017 Université de Mostaganem



**Homrani M.** 2016. Composition biochimique et pouvoir antioxydant du miel. Journée Scientifique et Technique : Apiculture et Valorisation des Produits de la Ruche, 14 Février 2016, Université de Mostaganem.