



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية عاوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie végétale.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Intitulé :

**Etude phytochimiques comparative entre le miel introduit
et le miel d'origine Algérien. Mise en évidence de l'activité
antibactérienne et antifongique du miel.**

Présenté par :

BAHLOUL Rayene

MEZIANI Amira

Soutenu Le : 18/06/2017

Jury d'évaluation :

Président: CHIBANI Salih MCB Constantine 1

Encadreur: LABBANI Zelikha Pr- UFM Constantine1

Examineurs: KBAILI Zoubir MAA Constantine1

*Année universitaire
2016 - 2017*

Remerciements

Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à Madame **Labrani Zelikha**, Professeur au Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1 qui nous a honorées en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité. Nous étions satisfaites de votre bon enseignement, merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; nous ne pouvons, Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

Nous remercions Monsieur **Chibbani Salih**, Maître de conférence (classe B) au Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté de nous faire l'honneur de présider notre travail.

Nous remercions également Monsieur **Kbailli Zoubir**, Maître-Assistant (classe A) au département de biologie et écologie végétale. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer aux membres de jury.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la
vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma
réussite, qui a été à mes cotées durant toutes les
années de mes études, à ma très chère mère.*

*A mon cher père, qui a toujours été là pour moi, et
qui m'a encouragé pendant toute ma vie.*

Qu'ALLAH les gardes et les protège.

A mon cher mari.

A mes frères.

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A tous ceux qui me sont chères.

Rayene.

Dédicace

Au nom du DIEU clément et miséricordieux qui termine par leur

Aubaine tous les travaux

Et que le salut de DIEU soit sur son prophète MOHAMED

Je dédie ce Modeste travail :

*A ma chère mère, l'être le plus pur, le plus honnête, l'ange Gardien de
ma vie*

*A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.
Aucun mot ne peut exprimer ta valeur pour moi.*

A tous mes chers frères et sœurs

A tous mes amies

A toute ma famille.

Et à toutes les personnes qui me connaît.

A tous mes enseignants, je leurs exprime ma profonde gratitude.

A tous la promotion biologie Végétale 2016-2017.

Amira.

Résumé

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel. On peut cependant déjà citer: le pH acide (constituant un milieu défavorable à la prolifération bactérienne), le peroxyde d'hydrogène (libéré de façon lente et prolongée au sein du miel), les facteurs phytochimiques (les polyphénols), comme défensive (petit peptide possédant un large spectre antimicrobien) et aussi c'est un produit très déshydraté empêchant ainsi toute prolifération microbienne.

Notre travail montre une richesse en composés secondaires respectivement en tanins, en flavonoïdes, et alcaloïdes avec une supériorité observés au niveau du miel d'importation. Cependant l'étude biologique montre une sensibilité plus marquée chez l'espèce *Escherichia. Coli* avec une zone d'inhibition de 11mm et une sensibilité pour *Rhizopus stolonifer* avec la même zone d'inhibition.

Mots clés: Miel, antibactérien, antifongique, CCM, métabolites secondaires, pH, conductivité électrique

Abstract

Honey is a rich nutrient; it has a high diversity, which gives it many properties from the nutritional side as well as from the medical aspect. This study showed the richness of this compound with the secondary metabolites, especially the tannins, followed by phenols and alkaloids.

This activity also shows a biological activity (bacterial, fungal), where the results are very significant, especially *Escherichia.Coli*, as the latter is considered a sensitive species, as the horse at 11 cm so-called inhibition zone; the same result obtained at the fungal type *Rhizopus stolonifer*.

We also examined the pH and the electric conductivity of both imported honey and local honey. The latter showed a pH of 4.58 and is better than the second type, the importer on the one hand. On the other hand, the electrical conductivity gave results that are considered to be in accordance with the international standards of FAO.

Key words: Honey, secondary metabolites, anti-bacterial activity, anti-fungal activity, electrical conductivity, pH, CCM.

ملخص

يعتبر العسل من المواد الغذائية الغنية؛ ذا تنوع عالي مما يعطيه خواص متعددة من الجانب التغذوي كما من الجانب الطبي حيث اظهرت هذه الدراسة مدى غنى هذا المركب بنواتج الأيض الثانوي خاصة الطانينات متبوعة بالفينولات و القلويدات. كما يبين هذا العمل نشاط ضد بيولوجي (بكتيري، فطري) حيث أوضحت نتائج جد معتبرة خاصة عند النوع *Escherichia.Coli* اذ اعتبر هذا الأخير من الأنواع الجد حساسة اذ حصانا على 11 سم بما يسمى منطقة تثبيط؛ نفس النتيجة تحصلنا عليها عند النوع الفطري *Rhizopus stolonifer* كذلك قمنا بمعاينة كل من درجة الحموضة و الناقلية الكهربائية عند النوعين العسل المستورد و العسل المحلي هذا الأخير اظهر درجة حموضة تقدر ب 4.58 وتعتبر أحسن من النوع الثاني أي المستورد هذا من جهة، ومن جهة أخرى فان الناقلية الكهربائية أعطت نتائج تعتبر موافقة للمعايير العالمية لمنظمة FAO .

الكلمات الأساسية: العسل، مركبات الأيض الثانوية ، نشاط ضد بكتيري، نشاط ضد فطري، الناقلية الكهربائية، pH،

CCM

Lexique

Antifongique: Molécule agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites

Anti-inflammatoire: Qui calme les inflammations

Antimicrobien: Détruit les micro-organismes

Antimicrobienne: un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer ou de réduire la prolifération de microbes.

Antioxydant: Molécules ou ensemble de molécules capables de neutraliser des radicaux libres

Antiseptique: qui détruit la prolifération des bactéries, champignons et virus

Antivirale: Ce dit d'une substance active contre les virus

Biosynthétique: Élaboration d'une substance organique dans un être vivant. Les biosynthèses que la cellule entretient pour croître.

Corolle: Ensemble des pétales d'une fleur

Criblage: Technique qui prouve la présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait de plante

Flavonoïdes: Pigments rencontrés chez les végétaux qui donnent des couleurs aux fruits et légumes.

Inhibition: Processus interne qui est supposé empêcher ou freiner l'apparition d'une réponse.

Métabolite: Produit de la transformation d'une substance de l'organisme.

Pathogène: qualifie ce qui provoque une maladie, en particulier un germe capable de déterminer une infection.

Plaies: déchirure des tissus due à un accident (blessure, brûlure) ou à une intervention chirurgicale.

Souches: une souche regroupe ensemble des individus issus de repiquages successifs d'une colonie microbienne (bactéries ou virus).

Stéroïde: Substance chimique d'origine animale ou végétale ayant une puissante action hormonale.

Liste des tableaux

Tableau 1: les individus de la ruche.....	03
Tableau 2: Les produits de la ruche.....	09
Tableau 3: Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	19
Tableau 4: Quelque type de miel.....	21
Tableau 5: Les principaux constituants des miels choisis.....	27
Tableau 6: Choix de la phase mobile.....	29
Tableau 7: Les caractéristiques des souches bactériennes choisies.....	36
Tableau 8: Des trois concentrations utilisées.....	37
Tableau 9: Résultat des tests chimique de Miel d'Algérie.....	40
Tableau 10: Résultat des tests chimique de Miel d'importation.....	41
Tableau 11: Les mesures de la conductivité.....	44
Tableau 12: Les mesures du pH.....	45
Tableau 13: Diamètre de la zone inhibitrice des quatre souches bactériennes étudiées (mm)	47
Tableau 14: Diamètre de la zone inhibitrice des deux souches fongiques (mm).....	50

Liste des figures

Figure 1: Scène de récolte du miel dans l'Egypte antique (Allain Guilleux).....	01
Figure 2: Une « cueillette » de miel à l'époque (grotte de l'Araignée, bicorp, Espagne)...	01
Figure 3: Versets 68-69 de sourate Nahl (Les abeilles).....	02
Figure 4: De l'œuf à la reine (Le Conte Y., 2002).....	04
Figure 5: De l'œuf au faux bourdon (Le conte Y., 2002).....	04
Figure 6: De l'œuf à l'ouvrière (le Conte Y., 2002).....	05
Figure 7: Ligne de vie de l'abeille ouvrière.....	06
Figure 8: (1) Abeille bâtisseuse, (2) ventileuse, (3) sentinelle, (4) butineuse.....	06
Figure 9: Les principaux organes de l'ouvrière.....	08
Figure 10: Tête de l'abeille.....	08
Figure 11: Composition moyenne de miel.....	13
Figure 12: Structure de base des polyphénols.....	23
Figure 13: Les différentes classes des composés phénoliques.....	24
Figure 14: Squelette de base des flavonoïdes.....	25
Figure 15: Structures chimiques de quelques flavonols	26
Figure 16: Préparation de la plaque CCM (phase stationnaire).....	29
Figure 17: Dépôt de l'échantillon.....	30
Figure 18: Emplacement de la plaque CCM dans la cuve.....	30
Figure 19: l'appareil de conductimètre.....	31
Figure 20: l'appareil de PH mètre.....	32
Figure 21: Mesure de la conductivité électrique du miel.....	32
Figure 22: Mesure de pH du miel.....	33
Figure 23: Aspect microscopique <i>Bacillus subtilis</i>	34
Figure 24: Aspect microscopique <i>Escherichia coli</i>	34
Figure 25: Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figure 26: Aspect de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Figure 27: Aspect d' <i>Alternaria solani</i>	38
Figure 28: Aspect de <i>Rhizopus stolonifer</i>	39
Figure 29: Résultat de la CCM sous rayons ultras violets.....	43
Figure 30: Mesures de la conductivité électrique des deux échantillons.....	44
Figure 31: Mesures du pH des deux échantillons.....	46
Figure 32: Diamètre de la zone inhibitrice des quatre souches bactériennes en (mm)....	48

Figure 33: Résultat repiquage des deux souches bactérienne (Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis) dans le milieu liquide (MA, MI).....	49
Figure 34: Diamètre de la zone inhibition des deux souches fongiques en (mm).....	51
Figure 35: Diamètre de la zone inhibition des deux souches fongiques en (mm).....	51

Table des matières

Introduction générale

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre 1: Généralités sur le miel

1. Le miel à travers les siècles	01
2. Le miel dans le coran et la sunna	02
3. Organisation de la ruche	03
3.1 La reine ou mère.....	03
3.2 Le mâle ou faux bourdon.....	04
3.3 L'abeille ouvrière.....	05
4. Les produits de la ruche	09
4.1 La gelée royale « le lait maternel des abeilles ».....	10
4.2 Le pollen	10
4.3 La propolis	10
4.4 La cire	11
4.5 Le venin	11
5. Définition du miel	12
6. Pour aboutir au miel : de multiples transformations.....	12
7. Composition moyenne de miel	13
8. Les propriétés du miel.....	18
8.1 Antimicrobiennes.....	18
8.2 Anti-radicalaire.....	20
8.3 Le miel se révèle être aussi un super antifongique.....	20
8.4 Miel et diabète.....	21

Chapitre 2: Métabolites secondaires

1. Les composés phénoliques.....	23
1.1 Les polyphénols.....	23
1.2 Classification des polyphénols	23
1.3 Flavonoïdes.....	24

Partie II: Etude expérimentale

1. Matériel biologique.....	27
1.1 Le miel.....	27
2. Détection des polyphénols.....	27
A. Criblage des flavonoïdes	27

B. Criblage des tanins.....	27
C. Criblage des alcaloïdes	28
D. Criblage des stéroïdes.....	28
3. Chromatographie sur couche mince	28
A. Préparation de la phase stationnaire.....	28
B. Préparation de la phase mobile	28
C. Le Dépôt.....	29
D. Migration.....	30
E. Révélation	30
4. Mesure de la Conductivité électrique et pH.	31
4.1 La conductivité électrique.....	31
4.2 Le pH	31
4.3 Mode opératoire.....	32
A. Mesure de la conductivité électrique.....	32
B. Mesure du pH.....	32
5. Etude du pouvoir antibactérien et antifongique du miel.....	33
5.1 Activité antibactérienne	33
5.1.1 Matériel.....	33
5.1.2 Principales caractéristiques des souches testées	33
5.1.3 Choix du milieu de culture.....	36
5.1.4 Préparation des précultures.....	36
5.1.5 Préparation des milieux de culture.....	36
5.1.6 Préparations des disques.....	37
5.1.7 L'ensemencement.....	37
5.1.8 Dépôt des disques.....	37
5.1.9 Incubation des boîtes.....	38
5.2 Activité antifongique.....	38
5.2.1 Principales caractéristiques des souches testées	38
5.2.2 Milieu de culture.....	39
5.2.3 Préparation des milieux de culture.....	39
5.2.4 Isolement et repiquage des champignons	39
Chapitre 2:Resultat et discussion	
1. Détection des polyphénols.....	40
2. Chromatographie sur couche mince	43
3. Conductivité électrique et pH.....	44

3.1 La Conductivité électrique.....	44
3.2 Le pH.....	45
4. L'Activité antibactérienne:.....	47
5. L'activité antifongique:	50
Conclusion générale	52
Références bibliographiques.....	53
Annexe	

Liste des Abréviations

% : pourcentage

μS : Micro siemens

C ° : Degré Celsius

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CHCL₃ : Chloroforme

Cm : Centimètre

E (1,2) : Echantillons (1,2)

G : Gramme

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Hcl : Acide chlorhydrique

Min : Minute

ml : millilitre

mm : Millimètre

Nm : Nanomètre

PDA : Potato Dextrose Agar

PH : potentiel Hydrogène

UV : Ultraviolet

V : Volume

Introduction générale

Introduction

Le miel, cette substance naturelle précieuse, est connue et utilisée par l'homme depuis la nuit des temps. Ce produit noble de la ruche représente l'une de denrées alimentaires les plus appréciées par l'homme et ceci grâce à ses propriétés nutritives et thérapeutiques.

Dans un premier lieu nous décrivons une synthèse bibliographique, suivi par un chapitre matériel et méthodes où nous allons mentionner les principales méthodes d'analyses qualitatives et quantitatives.

Les résultats obtenus seront analysés et discutés en comparant nos propres résultats avec ceux obtenus précédemment sur le miel. Et enfin nous terminons par une partie réservée à l'ensemble des références bibliographiques mentionnées dans ce travail.

Notre principal objectif est d'apporter notre contribution relative à l'explication du verset coranique :

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ
ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا مَخْرُجًا مِنْ
بَطْنِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ

الآية 68-69 من سورة النحل

Partie I: Revues bibliographique

Chapitre 1: Historique

1. Le miel à travers les siècles

Entre l'homme et l'abeille existe une formidable histoire d'amour qui remonte à une dizaine de millénaires. Les travaux de la ruche et la récolte du miel, souvent auréolés de mythes et de légendes, font partie intégrante de l'histoire de l'humanité.

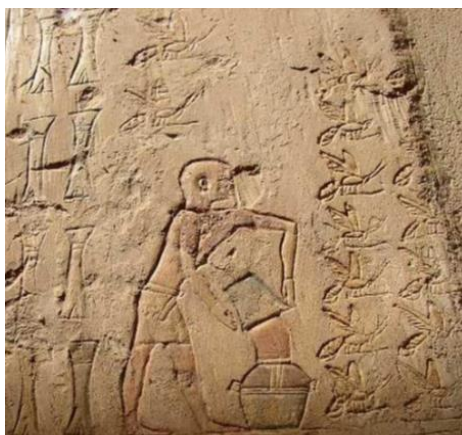


Figure 1: Scène de récolte du miel dans l'Egypte antique (Allain Guilleux).

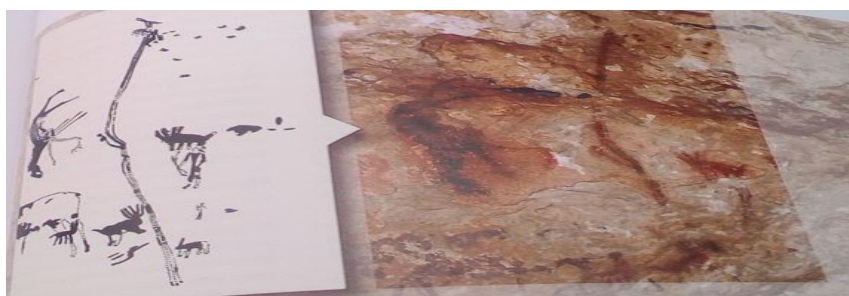


Figure 2: Une cueillette de miel (grotte de l'Araignée, bicorp, Espagne). (Clément et *al.*, 2011).

C'est en Mésopotamie, dès le III^{ème} millénaire, qu'apparaissent les premières abeilles domestiques. En Grèce, le miel était donné en offrande aux Dieux, d'où le terme "nectar des Dieux". Il était cependant aussi connu et utilisé pour ses vertus comme en témoignent les écrits d'Hippocrate, père de la médecine (460-370 avant J-C.).

Fruit d'un grand intérêt pour l'apithérapie, on peut donc trouver dans ces derniers de nombreuses indications tantôt surprenantes avec la confection de suppositoires au miel pour traiter les hémorroïdes, tantôt judicieuses notamment avec l'utilisation du miel pour la cicatrisation des plaies, ou encore novatrices avec l'utilisation du miel contre la toux et les douleurs de la gorge. Il faut cependant attendre le début du XX^{ème} siècle pour qu'il soit consommé en routine afin de soulager les gorges irritées, notamment avec les fameux bonbons au miel. Pendant longtemps, le miel fut la première et unique source de sucre pour l'homme et cela jusqu'à la renaissance.

2. Le miel dans le coran et la sunna

Le miel est reconnu par la science, comme étant un remède pour de nombreux maux qui touchent l'être humain. Et notre Saint Coran mentionne ses bienfaits dans la sourate Les abeilles (Nahl): traduction du verset 68-69au français

« [Et voilà] ce que ton seigneur enseigna aux abeilles : « Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres et les treillages que les hommes font * Puis mangez de toute espèce de fruits, et suivez les sentiers de votre Seigneur, rendus faciles pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour les gens qui réfléchissent*. » Versets 68 et 69



Figure 3: Versets 68-69 de sourate Nahl (les abeilles).




De même, la Sunna vient confirmer des vertus bénéfiques du miel pour nous soigner. Voici un exemple de hadith :

Selon Abou Saïd, un homme vint dire au Prophète (**salallahu ‘alayhi wa salam**) : « Mon frère a mal au ventre. – Donne-lui du miel à boire, répondit le Prophète (**salallahu ‘alayhi wa salam**). L’homme revint à nouveau et le Prophète lui dit :- Donne-lui du miel à boire. L’homme revint encore et dit : – J’ai fait ce que tu m’as conseillé. – Dieu a dit la vérité, s’écria alors le Prophète (**salallahu ‘alayhi wa salam**), c’est le ventre de ton frère qui a menti. – Donne-lui du miel à boire. On fit boire du miel au malade et il guérit. » (**Rapporté par Boukhari**).

3. Organisation de la ruche

Dans une ruche, il y a trois types d'abeilles : la reine, les ouvrières et les faux bourdons qui s'organisent pour fabriquer leur miel, dans ce que l'on appelle une colonie d'abeilles composée de 4000 à 6000 individus (**Tableau 1**).

Tableau 1. composition de la ruche

	Description	Durée de vie	Fonction	
Reine ou mère	La morphologie de la reine se caractérise par un abdomen très développé, un thorax plus volumineux que celui de l'ouvrière.	en moyenne trois à quatre ans.	La ponte est sa seule occupation. Réguler les activités de la colonie grâce aux phéromones que sécrètent ses glandes mandibulaires.	
Mâle ou faux bourdon	Sa morphologie se caractérise par un corps plus trapu et de taille plus grande que l'ouvrière ; le mâle possède aussi des yeux composés de surface plus importante, mais pas de dard.	Présents uniquement d'avril à septembre (environ 7 mois).	On ne lui connaît qu'un rôle de reproduction.	
Ouvrière	La langue très développée permet la récolte du nectar, et ses pattes arrière, celles du pollen et de la propolis. Son appareil vulnérant sert à la défense de la colonie et ses plaques cirières produisent la cire pour construire les alvéoles.	ne dure que quelques semaines (environ 40 jours).	Prendre part à toutes les activités de la ruche. Elle change de fonction au fur et à mesure de son évolution physique. l'ouvrière passe de la fonction de nettoyeuse nourrice puis butineuse , en fin de carrière, en passant par bâtisseuse, ventileuse, sentinelle (gardienne).	

3.1 La reine ou mère

Issue d'un œuf similaire à celui d'une ouvrière, mais pondue dans une cellule royale accrochée au rayon, la larve de la reine est nourrie uniquement avec de la gelée royale et naît seize jours après (**Marchenay P ; et Bérard L., 2007**), (**figure 4**)

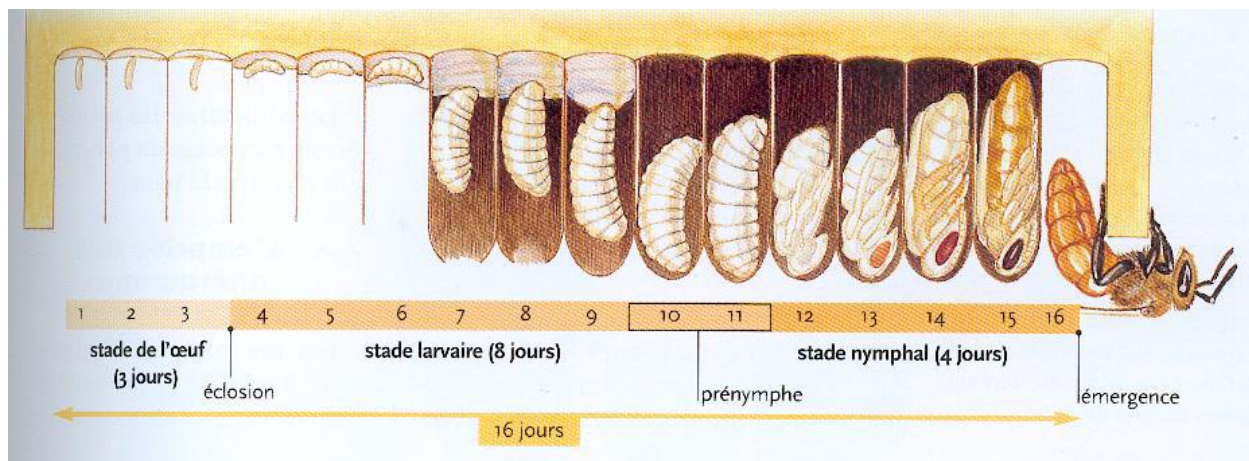


Figure 4: Schéma montrant le développement de la reine : De l'œuf à la reine (Le Conte Y., 2002).

La ponte est sa seule occupation (Marchenay. P et Bérard. L., 2007). Adaptée à la reproduction, la morphologie de la reine lui permet de pondre des œufs mais aussi de réguler les activités de la colonie grâce aux phéromones que sécrètent ses glandes mandibulaires. Sa tête est dotée d'une langue de petite taille et de mandibules très développées (Tableau 1). Son thorax est plus gros et son abdomen deux fois plus long que celui d'une ouvrière.

3.2 Le mâle ou faux bourdon:

Les mâles ne naissent qu'à partir du mois de mars, vingt-quatre jours après la ponte des œufs déposés dans des alvéoles plus grandes que celles des ouvrières (figure 5). (Tableau 1)

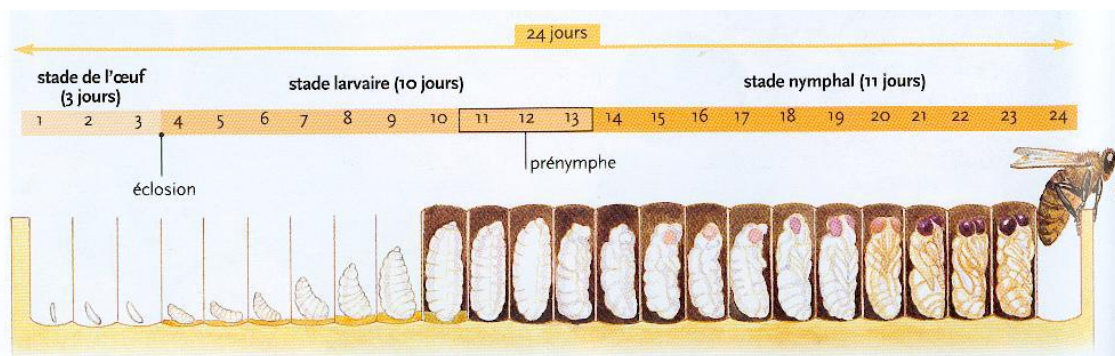


Figure 5: Schéma montrant le développement de mâle: De l'œuf au faux bourdon (Le conte Y., 2002).

Puis, il faut environ 15 jours pour qu'ils atteignent la maturité sexuelle. Ils ne sont donc « Opérationnels » qu'à partir de la deuxième moitié d'avril, ce qui précède légèrement le début de la période d'essaimage. La principale mission des mâles est la reproduction (Le Conte Y., 2002). Facilement reconnaissables, leur vol est lourd et bruyant. Grâce à leurs grandes ailes, ils participent à la ventilation de la ruche. Bons vivants et très peu fidèles à leur colonie, ils vagabondent de ruche en ruche (où ils sont facilement acceptés contrairement aux

ouvrières) sans assurer la moindre activité de butinage ou de tâche ménagère. Ils se contentent de consommer le pollen et le nectar apportés par les ouvrières, et attendent l'envol d'une reine vierge pour tenter de la féconder (Clément H., 2009). Au sein de la ruche, ils sont volontiers assimilés à des paresseux oisifs (Marchenay P. et Bérard L., 2007). A la fin de l'été, sentant venir la pénurie de nourriture, les ouvrières nourricières chassent hors de la ruche les mâles qui ne se sont pas accouplés et les massacrent ou les laissent mourir de faim (Pham-Délégue M., 1999).

3.3 L'abeille ouvrière:

Ce sont des femelles à l'appareil génital atrophié. Elles constituent la quasi-totalité des individus de la ruche (entre vingt et vingt-cinq mille individus en hiver, jusqu'à plus de cinquante mille parfois en pleine saison) (Clément H., 2009). Le développement de l'ouvrière dure environ 21 jours, puis elle découpe l'opercule de sa cellule avec ses mandibules pour en sortir (Pham-Délégue M., 1999), (figure6). (Tableau 1)

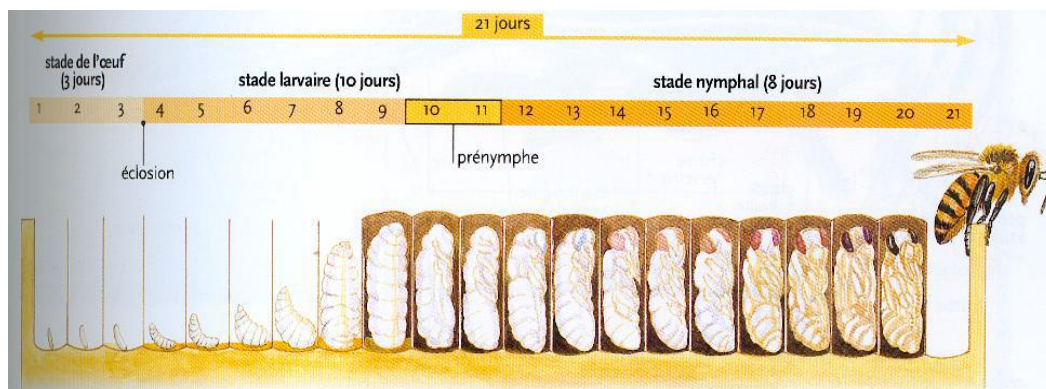


Figure 6: Schéma montrant le développement de l'ouvrière: De l'œuf à l'ouvrière (le Conte Y., 2002).

Une abeille, au cours de sa vie qui ne dure que quelques semaines, est amenée à prendre part à toutes les activités de la ruche. Elle change de fonction au fur et à mesure de son évolution physique. Ainsi, l'ouvrière passe de la fonction de nourrice, nettoyeuse à celle de butineuse, en fin de carrière, en passant par bâtisseuse, ventileuse, sentinelle, c'est-à-dire gardienne (figure 7,8).

Ligne de vie de l'abeille ouvrière

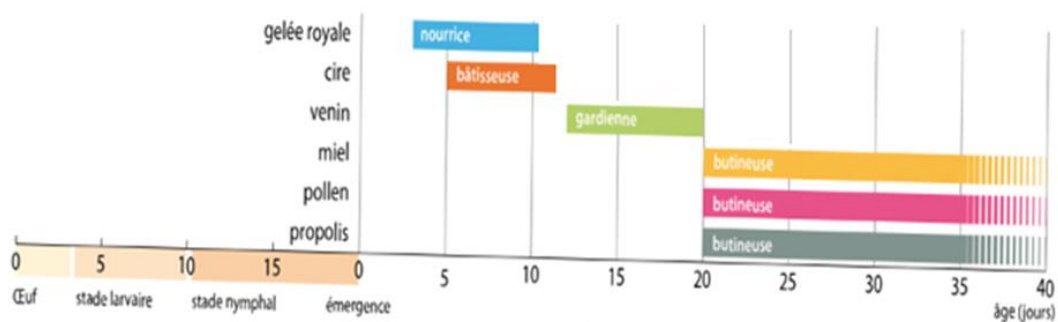


Figure 7: Cycle de vie de l'abeille ouvrière



(1)



(2)



(3)



(4)

Figure 8: (1) Abeille bâtisseuse, (2) ventileuse, (3) sentinelle, (4) butineuse

Dans un premier temps, on a les abeilles butineuses qui sont les plus nombreuses, elles travaillent en groupe car isolées, elles ne retrouveraient pas le chemin de la ruche. Attirées par les fines gouttelettes sucrées qui perlent sur la surface des plantes à fleurs, appelées angiospermes, les abeilles en écartent les pétales, allongent leurs langues et aspirent le nectar avec leurs trompes qu'elles stockent dans leurs jabots (**Figure 9**), petits réservoirs qui leur permettent de filtrer le nectar et d'en éliminer les impuretés. Ce nectar est un liquide sucré, sécrété au niveau de la corolle des fleurs, qui contient des traces d'acides aminés, de vitamines et de minéraux. Du fait de son anatomie, l'abeille ne peut récolter le nectar que sur certaines fleurs, dites mellifères. Elle peut aussi récolter du miellat, il s'agit d'excrétions produites par

des insectes comme les pucerons à partir de la sève des arbres et laissées sur les végétaux. En moyenne chaque jour, elle effectue 25 kilomètres et butine 3000 à 4000 fleurs.

Elle récolte également du pollen, mais celui-ci n'intervient pas dans la fabrication du miel, il sert à nourrir les larves pondues par la reine (qui est la mère de la colonie sans laquelle celle-ci disparaîtrait, elle peut vivre jusqu'à cinq ans et se nourrit de gelée royale). Ensuite, elle retourne à la ruche pour donner sa récolte à d'autres abeilles qui vont se charger de modifier les sucres qui composent le miellat ou le nectar grâce à leurs enzymes salivaires.

Un scientifique autrichien, Heinrich, a chiffré le travail effectué par les abeilles butineuses. Ainsi, pour produire 500 grammes de miel, elles doivent effectuer plus de 17 000 voyages, visiter 8 700 000 fleurs, généralement dans un rayon de 3 km autour de la ruche, cela représentant plus de 7 000 heures de travail. A chaque vol elles transportent 50 à 70 mg alors qu'une abeille ne dépasse pas 1 cm de long pour un poids avoisinant 90 mg.

Dans un second temps, entre en jeu l'abeille magasinnière, qui travaille à l'intérieur de la ruche. Elle s'affaire à sécher le miel en le régurgitant plusieurs fois pour l'étaler dans des sortes de cellules appelées des alvéoles, créées par les abeilles bâtisseuses à partir des cadres de la ruche.

Et enfin, l'abeille ventileuse crée des courants d'air et augmente la température de la ruche en agitant très rapidement ses ailes, tête tournée vers l'ouverture. Et ceci pendant quelques jours pour réguler l'humidité de l'air (l'hygrométrie), la température et le taux de gaz carbonique à l'intérieur du nid.

Pour finir, lorsque les alvéoles sont pleines, les cirières, comme leur nom l'indique, les recouvrent d'une fine couche de cire pour bien les conserver, c'est l'operculation.

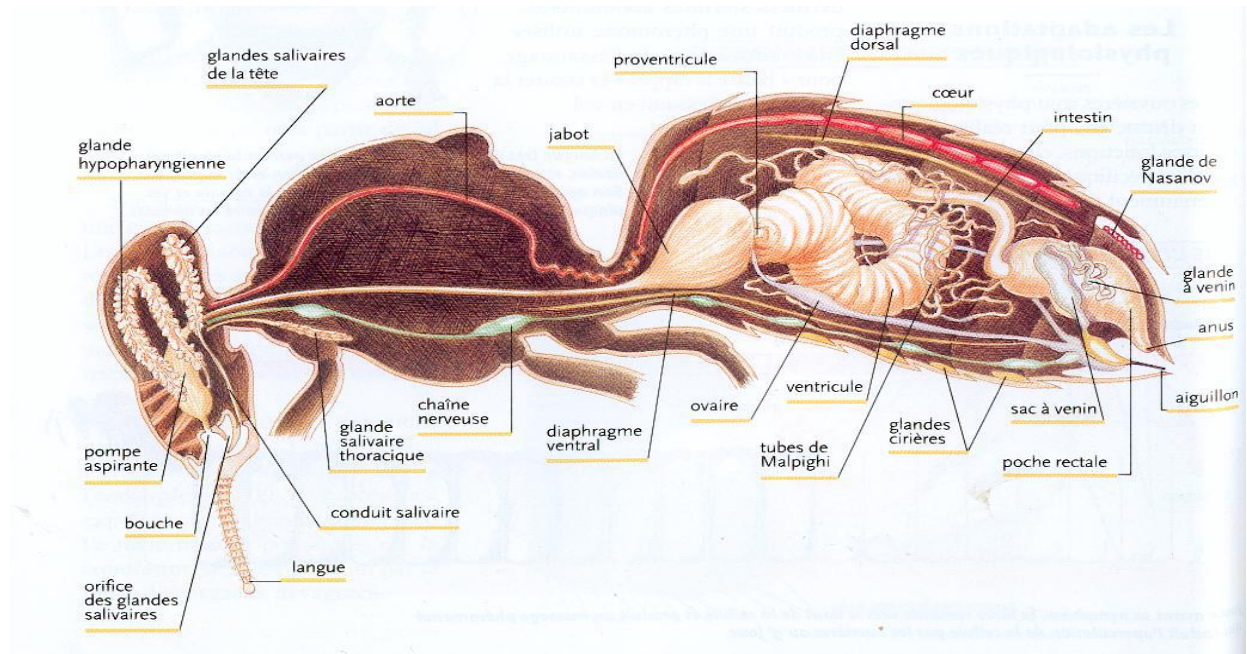


Figure 9: Les principaux organes de l'ouvrière (Le Conte Y., 2002)

Leur système buccal permet la récolte du nectar qu'elles emmagasinent dans leur jabot (organe présent dans l'appareil digestif de l'ouvrière adulte (**figure 9**), il sert au transport du nectar et de l'eau que l'abeille peut ensuite régurgiter). Ce système buccal est composé de mandibules courtes et puissantes qui fonctionnent comme des pinces et qui permettent à l'abeille de façonner la cire, de récolter le pollen et des fragments de propolis sur les bourgeons. Ce sont aussi des armes contre les ennemis de petites tailles. Le système buccal contient également les maxilles, les palpes labiaux et la langue qui permettent à l'abeille d'aspirer les aliments liquides (**Pham-Délègue M., 1999**), (**figure 10**).

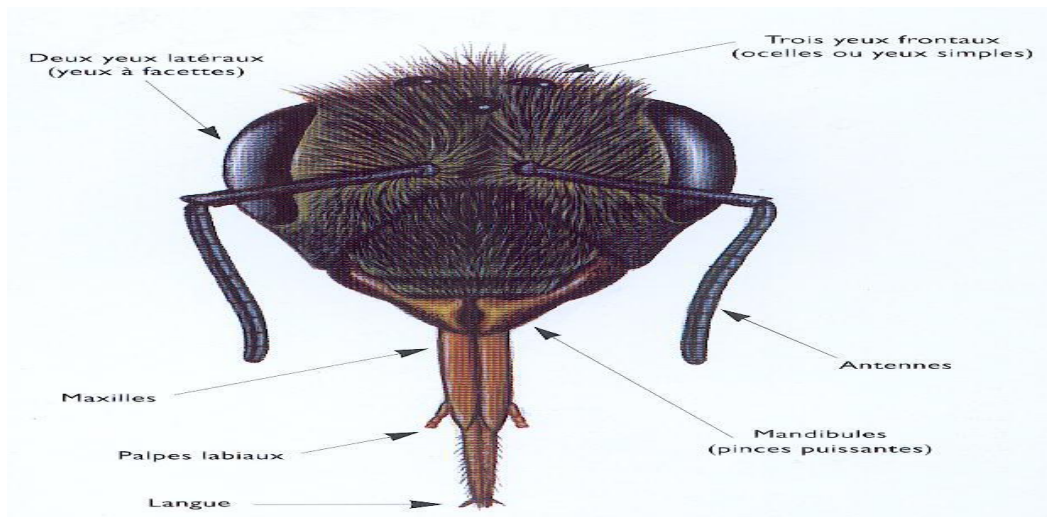






Figure 10: Tête de l'abeille (Pharm. Délègue M., 1999).

4. Les produits de la ruche

Tableau 2. Les produits de la ruche

Produits	Composition	
Gelée royale	<ul style="list-style-type: none"> -Eau 66% -Lipides 4,5% -Divers 2% -sels minéraux -vitamines -Glucides 14,5% -Protides 13% 	
Pollen	<p>La composition de pollen varie fortement en fonction de l'origine florale :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Glucides 27% -Protéines 23,7% -Eau 18,5% -Substances cellulosiques 18% -Minéraux 5% -Lipides 4,8% -enzymes -Divers 3% 	
Propolis	<ul style="list-style-type: none"> -Résines et baumes 55% -Huiles essentielles 7% -Cire 30% -Pollen 3% -Divers 5% -Acides aminés -vitamines 	
Cire	<ul style="list-style-type: none"> -Glucides 14% -Diesters 14% -Esters acides 2% -Acides libres 12% -Non identifiés 6% -Monoesters 35% -Triesters 3% -Polyesters acides 2% -Alcools libres 1% 	
Venin	<ul style="list-style-type: none"> -Eau 85% -Protéines et peptides 7% -Composants volatils 3% -Composés non aminés 3% 	

4.1 La gelée royale « le lait maternel des abeilles »

La gelée royale est le produit de sécrétion des glandes hypo pharyngiennes qui se trouvent dans la tête des abeilles ouvrières. La gelée royale est produite de 2^{ème} au 15^{ème} jour de la vie de l'abeille, lorsqu'elle est nourrice.

La gelée royale est un concentré naturel d'acides aminés essentiels, un cocktail de vitamines (A, B, C, D, E), de sels minéraux, et d'oligo-éléments (calcium, fer, cuivre, phosphore, potassium...) C'est une substance blanchâtre à consistance gélatineuse, acide et légèrement sucrée, produite par les abeilles nourrices. Elle constitue la nourriture exclusive de toutes les larves de 0 à 3 jours et de la reine pendant toute sa vie. Elle est le lait maternel des abeilles.

Traditionnellement, la gelée royale est utilisée préventivement pour son action rééquilibrante, revitalisante et tonifiante. Elle peut augmenter la résistance à la fatigue physique et intellectuelle.

4.2 Le pollen

Le pollen constitue l'élément fécondant mâle de la fleur : ce sont de minuscules graines contenues dans les anthères à l'extrémité des étamines. La couleur et la composition du pollen varient fortement en fonction de l'origine florale. Parmi les microéléments (3%) on trouve de nombreuses vitamines : A ; B₁, B₂, B₃, B₅, B₈, B₉, B₁₂, C, D, E de l'acide folique, de la rutine, ainsi que des enzymes, des flavonoïdes, des substances bactériostatiques et de croissance, des pigments et des arômes.

4.3 La propolis

La propolis est une substance résineuse recueillie par les abeilles (ouvrières) sur les bourgeons de certains arbres.

La propolis possède environ 150 constituants parmi lesquels les vitamines A et B, des acides aminés et toute une palette d'oligoéléments.

La butineuse récolte la propolis sur les bourgeons des peupliers, des frênes, des marronniers, etc. Elle la transporte sur ses pattes arrière comme elle le fait pour le pollen. Les boules sont petites et ont une couleur allant du jaune clair au vert brun. La propolis est essentielle à la vie de la ruche car elle possède des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiseptiques, ce qui en fait une véritable barrière de protection naturelle. Elle est déposée en fine couche à l'intérieur des cellules avant la ponte de la reine.

4.4 La cire

La cire d'abeille est une substance molle, jaunâtre et fusible produite par les glandes cirières des ouvrières (**figure 9**). Les glandes cirières, situées sur la face ventrale de l'abdomen de l'abeille excrètent des lamelles ou « écailles » de cire transparente (**figure 9**). L'abeille les recueille une à une avec ses pattes, les porte à la bouche, en forme de boulettes, les passe à d'autres ouvrières qui, à l'aide de leurs mandibules, les malaxent et y incorporent un solvant d'origine salivaire pour rendre le mélange plus aisé. Ainsi triturée, cette cire est confiée aux bâtisseuses.

Durant sa courte vie, l'abeille accomplit différentes tâches en fonction de son âge. Du 10^{ème} au 20^{ème} jour de son existence (**figure 7**), elle est cirière. Il n'y a qu'un groupe restreint d'abeilles au sein de la ruche qui produisent de la cire. La reine et les faux bourdons n'en produisent pas.

L'abeille utilise la cire pour construire des cellules hexagonales qui contiennent selon les besoins de la ruche, le couvain, le miel ou le pollen ; Elle l'utilise également en fine couche pour operculer les alvéoles contenant le couvain et le miel.

La cire est un corps chimiquement très stable et ses propriétés ne varient pas dans le temps. Elle résiste parfaitement à l'hydrolyse et à l'oxydation naturelle et est totalement insoluble dans l'eau. Les acides et les sucs digestifs des animaux ne peuvent la détruire, à l'exception de ceux des larves de fausse-teigne (papillon).

4.5 Le venin

Le venin d'abeilles est une sécrétion produite par les glandes à venin (**figure 9**), stockée dans une poche spécifique et injectée au travers du dard lors de la piqûre. Seuls les individus femelles de la ruche en produisent.

Toutes les abeilles femelles produisent du venin ; Mais c'est lorsqu'elles sont gardiennes qu'elles l'utilisent pour défendre la ruche contre les envahisseurs, et les prédateurs. La reine, l'injecte pour se débarrasser des rivales.

Le dard de l'abeille ouvrière, cranté tel un harpon, reste dans la peau de l'individu piqué, entraînant la mort de l'abeille. Celui de la reine, lisse, ne s'accroche pas.

5. Définition du miel

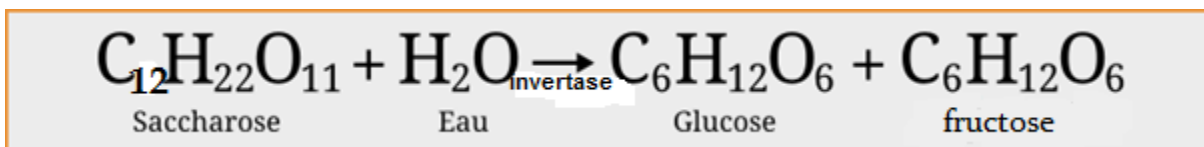
Le miel est la substance naturelle sucrée produite par l'abeille *Apis mellifera*, à partir du nectar de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**Codex., 2001**). Le miel est défini comme étant la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. En effet, elles butinent, transforment, combinent avec des matières propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut-être fluide, épaisse ou cristallisée » (**Blanc., 2010**).

6. Pour aboutir au miel : de multiples transformations

• Dans le tube digestif des abeilles

Le changement de la solution sucrée en miel commence déjà dans le jabot de la butineuse où diverses enzymes entrent en action. A la ruche, le nectar récolté et "prédigéré" par la butineuse est pris en charge par de plus jeunes abeilles, qui se l'échangent plusieurs fois (trophallaxie) et l'enrichissent en matières spécifiques et notamment en enzymes. Les principales enzymes sont:

- La diastase qui permet de modifier l'amidon.
- L'invertase qui hydrolyse le saccharose en glucose et en fructose.



- Le glucose oxydase qui, à partir du glucose, produit de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

Au fil des échanges entre les abeilles, la composition de la miellée évolue: des sucres se scindent, d'autres s'assemblent afin de former de nouveaux sucres plus complexes. Les ouvrières complètent ainsi la transformation commencée dans le jabot de la butineuse.

• La déshydratation du miel

Quand la butineuse arrive à la ruche, la teneur en eau du nectar est supérieure à 50%. Le miel va être déshydraté par les ouvrières. Pour cela, elles régurgitent à plusieurs reprises une goutte de leur jabot et l'étalent dans l'atmosphère sèche de la ruche. Quand la concentration en eau atteint 40 à 50%, elles entreposent le miel dans les cellules. Les abeilles ventilent également la ruche: elles font rentrer de l'air extérieur que la colonie va chauffer à plus de 30°C et de ce

fait, le miel va s'assécher. L'air chaud et chargé de l'humidité excessive du miel est rejeté vers le milieu extérieur. La teneur en eau du miel doit ainsi être abaissée jusqu'à atteindre environ 18%. La cellule est alors fermée avec un opercule de cire qui permet une bonne conservation. La colonie dispose en réserve d'un aliment hautement énergétique, stable, de longue conservation et peu sensible aux fermentations.

7. Composition moyenne de miel

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

- ✓ les glucides (sous formes de sucres divers) : 79,5%
- ✓ Eau : 17%
- ✓ Divers : 3,5%

Il est évident qu'en réalité, cette composition est beaucoup plus complexe et aujourd'hui, tous les constituants sont loin d'être connus.

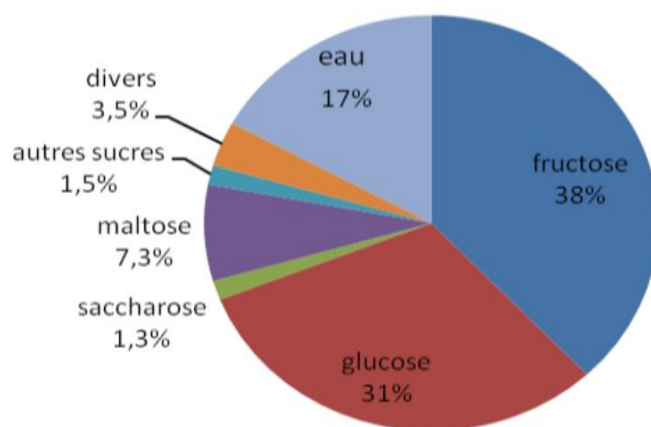
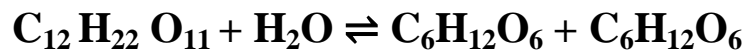


Figure 11: Composition moyenne de miel (Bruneau., 2002).

On peut toutefois établir la liste des principaux éléments constitutifs de la façon suivante (Gonnet M. et Vache G., 1987 ; Pham-Délègue M., 1999), (www.01santé.com ; www.Beekeeping.com)

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

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



- ❖ Des disaccharides comme le maltose (7,3%), et le saccharose (1,3%).
- ❖ Des tri et polysaccharides qui représentent 1,5 à 8%. parmi eux : l'erlose, le raffinose, le mélézitoze, le kojibiose, le dextrantriose, le mélibiose, etc...

Le fructose est donc le sucre le mieux représenté, suivi de près par le glucose. Le saccharose est généralement très peu présent, comme les miels de lavande ou de pissenlit.

- **L'eau**

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

- **Les acides organiques**

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille. C'est l'acide gluconique dérivé du glucose qui prédomine. On y trouve également 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. Des traces d'acide formique (un des constituants du venin), d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique sont aussi présentes. D'autres composés, les lactones, dont la présence est constante, ont également une fonction acide. Le pH peut varier de 3,2 à 4,5 mais il est en moyenne de 3,9 (Pham- Délègue M., 1999).

- **Les acides aminés et protéines**

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%). (Meda A. *et al.*, 2005).

- **Les lipides**

La proportion de lipides est infime sous forme de glycérides et d'acides gras (acide palmitique, oléique et linoléique) ; ils proviendraient vraisemblablement de la cire.

- **Sels minéraux et oligo-éléments**

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

Les enzymes

Elles proviennent soit des nectars, soit des sécrétions salivaires de l'abeille. Les plus connues sont la gluco-invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides,. On retrouve également dans le miel, une catalase, une phosphatase, des enzymes acidifiantes et une gluco-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique.

- **Les vitamines**

Le miel ne contient que très peu de vitamines. Les vitamines liposolubles (vitamines A et D) en sont absentes. Mais on trouve des vitamines du groupe B provenant des grains de pollen en suspension dans le miel. Il s'agit de la thiamine B₁, de la riboflavine B₂, de la pyridoxine, de l'acide pantothénique, de l'acide nicotinique B₃, de la biotine et de l'acide folique B₉. On trouve également de la vitamine C, provenant le plus souvent du nectar des menthes. Les vitamines du miel sont d'autant mieux conservées que le pH est faible.

- **Les pigments**

On peut citer principalement les caroténoïdes et les flavonoïdes. Ils sont responsables de la coloration du miel. La quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale. En règle générale, plus les miels sont foncés (comme ceux issus du tournesol), plus ils sont riches en flavonoïdes (www.passeportsanté.net). Parmi les flavonoïdes retrouvés dans le miel, on peut citer: la pinocembrine, la pinobanskine, la chrysin, la galangine, la quercetine, la lutéoline et la kaempférol (www.biologiq.nl).

- **Des arômes**

Ce sont des mélanges de plusieurs dizaines de composés, alcools, cétones, acides, aldéhydes. Le miel contiendrait également un principe cholinergique en quantité extrêmement faible, mais cependant suffisante pour représenter un facteur déterminant dans les propriétés pharmacologiques du miel. Ce facteur serait simplement de l'acétylcholine présente avec de la choline, ce qui expliquerait sa stabilité. Des facteurs doués d'activités hormonales, favorisant par exemple l'enracinement des végétaux, ou provoquant des réactions semblables à celles des œstrogènes ou des androgènes, seraient également présents dans le miel (**Docteur Sablé., 1997**).

Cette liste n'est pas exhaustive puisque le miel regroupe près de 200 substances différentes; il s'agit donc d'un produit biologique très complexe, d'une diversité extrême, lui conférant de très nombreuses propriétés diététiques, pharmacologiques et thérapeutiques que nous étudierons par la suite. Cette liste ci-dessus ne se réfère qu'à des valeurs moyennes ; il est

clair que les différents miels présentent des particularités et n'ont pas des compositions strictement identiques.

➤ **Caractères physico-chimiques du miel**

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

- **La densité**

La densité, c'est-à-dire le rapport de la masse d'un miel avec le même volume d'eau, se détermine au pèse sirop ou au densimètre. La valeur moyenne de la densité du miel est de 1,42 à 20°C.

- **La viscosité**

La viscosité se définit comme la résistance à l'écoulement d'une substance. Dans le cas du miel, elle dépend de sa teneur en eau, de sa composition chimique et de sa température. La plupart des miels se comportent comme des liquides newtoniens (il n'y a pas de résistance à l'écoulement) ; toutefois, il existe des exceptions notamment pour certains miels qui ont une composition particulière.

- **La coloration:**

La couleur du miel va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé en passant par toutes les gammes de jaunes, d'oranges, de marrons et même parfois de verts. Si le nectar ou le miellat n'ont pas de pigments, les miels liquides seront incolores et les miels cristallisés seront blancs (exemple du miel de colza). Dans le cas contraire, la palette de couleur est très large. Les miels de lavande, de rhododendron, 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. Comme mentionné ci-dessus, on peut même retrouver des pigments verts dans certains miels de saule ou de sapin (**Bruneau E., 2002**).

- **Le pH:**

Le pH ou potentiel d'hydrogéné ou indice de Sorensen est défini comme le cologarithme de concentration en ions H dans une solution. Pour le miel, est un indice de la « réactivité acide » du produit (**Vanhanen et al., 2011 Louveaux., 1985**). Le pH des miels de nectar ont un faible (de 3.3 à 4.5) tandis que les miels de miellats ont un pH peu plus élevé (**Pesenti et al., 2008**).

- **La conductibilité électrique:**

Elle est intéressante, car elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds. Mais il existe des variations importantes suivant la teneur en eau et en éléments minéraux (www.Beekeeping.com).

- **L'indice de réfraction:**

Il oscille entre 1,47 et 1,50 suivant sa teneur en eau à la température de 20°C. Il est souvent utilisé pour déterminer la teneur en eau (www.01santé.com).

- **Vieillessement du miel:**

Le miel est un produit périssable qui subit au cours du temps un grand nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. La rapidité de la dégradation dépend de la composition du produit ainsi que des conditions de sa conservation.

- **La cristallisation:**

La cristallisation du miel est un processus naturel, sa vitesse dépend surtout de la teneur en glucose du miel. Les miels dont la teneur en glucose est < 28 g/100 g ou dont le rapport glucose/eau est $< 1,7$ restent plus longtemps liquides. Les miels à cristallisation rapide se cristallisent le plus souvent très finement, alors que les miels à cristallisation lente ont tendance à avoir une cristallisation grossière (**Bogdanov et al., 2003**). La cristallisation se fait à partir de cristaux primaires de glucose qui sont présents dès la récolte et faciles à mettre en évidence en lumière polarisée sous le microscope. La croissance de ces cristaux aboutit à la formation de 2 phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau.

La cristallisation est la plus rapide à la température de 14°C. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78°C (**Emmanuelle et al., 1996**).

- **Conservation du miel:**

En règle générale, la conservation du miel se fera à température constante, dans un récipient étanche, placé dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. Grâce à sa haute teneur en sucre, il se conserve très longtemps. Il se consomme idéalement, dans les deux ans. Un miel cristallisé supporte mal les excès de température (plus de 25°C), qui risquent de provoquer l'effondrement de sa structure cristalline (déphasage). Il faudra donc le conserver dans un

endroit où la température ne dépasse pas 20°C (deux ans au maximum). S'il est liquide, une température d'environ 25°C est souhaitable. Il faudra cependant le consommer rapidement, idéalement dans les 6 mois. Un miel trop humide sera conservé à 11°C, pour éviter qu'il ne fermente. Comme les miels absorbent l'eau, les pots seront fermés avec un couvercle hermétique et l'on évitera de les stocker dans un endroit trop humide. En hiver, des marbrures blanchâtres peuvent apparaître sur les parois du pot. Il s'agit la plupart du temps, de microscopiques bulles d'air qui demeurent prisonnières entre la paroi du pot et la masse de miel, et qui se rétractent en cristallisant.

- **Connaître la stabilité du miel:**

Des analyses physico-chimiques sont réalisées pour déterminer la teneur en eau, la dégradation de ses enzymes, l'acidité (qui accélère son évolution), et la quantité d'HMF. L'interprétation de ces analyses permet de déduire non seulement l'état de fraîcheur du miel, mais également ses conditions optimales de conservation. L'apiculteur doit inscrire sur tout pot vendu, une date limite d'utilisation, garantissant le maintien des qualités du miel. Enfin, lorsqu'on ne connaît pas le passé d'un miel, ces analyses permettent de retrouver le type de dégradations éventuellement subies dues, par exemple, à une date de fabrication trop ancienne, à un chauffage excessif ou à un stockage réalisé dans de mauvaises conditions (Bruneau E., 2002).

(1) L'acidité libre désigne les acides non liés à d'autres molécules et qui peuvent intervenir directement dans les réactions ; (2) L'indice diastasique est représentatif de l'activité enzymatique de l'amylase ; (3) L'indice de saccharase est représentatif de l'activité enzymatique de l'invertase et de la glucosidase.

8. Les propriétés du miel:

8.1 Antimicrobiennes:

Il s'est révélé que des substances volatiles et aromatiques du miel possédaient également une propriété antibactérienne (les publications de Molan, 1992 et 1997) offrent un aperçu complet des substances antibactériennes et des effets du miel.

Des recherches ont décelé différents inhibiteurs dites peroxydes tel que lysozymes, flavonoïdes, les acides aromatiques et d'autres composants indéterminés du miel. Certaines substances ont une origine végétale et d'autres sont ajoutées par abeilles lors de l'élaboration du miel (Bogdanov et Blumer., 2001). Prenons le cas des flavonoïdes; des recherches sur le miel ont permis de mettre en évidence des substances qui sont d'origine botanique et qui

contribuent à défense de l'organisme en renforçant les systèmes immunitaire (**Laffont., 2000**) (tableau 3).

Tableau 3. Activités biologiques des composés polyphénoliques (Frankel et al., 1995).

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens Antifongiques Antioxydants	[Didry et al., 1982] [Ravn et al., 1984] [Hayase et Kato., 1984]
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses	[Mabry et Ulubelen., 1980]
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants	[Stavric et Matula, 1992] [Das et al., 1994] [Bidet et al., 1987] [Bruneton., 1993] [Aruoma et al., 1995]
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	[Bruneton., 1993]
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	[Masquelier et al., 1979] [Bahorun et al., 1996] [DE Oliveira et al., 1972] [Brownlee et al., 1992] [Kreofsky et al., 1992]

- **L'osmolarité:**

L'effet osmotique est la conséquence de la forte teneur en sucre (84% fructose et glucose).

Ce dernier agit comme une solution hypertonique et l'eau contenue représente habituellement 15 à 21% du poids.

La forte interaction de ces molécules de sucres avec les molécules d'eau laisse très peu de molécules d'eau disponible pour les micro-organismes et conduit à une déshydratation qui absorbe l'eau vitale de ces derniers.

- **L'effet du pH:**

Le pH du miel est relativement acide, il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone.

D'autres études retrouvent la persistance d'une activité antibactérienne marquée lorsque le miel a été neutralisé. Malgré ces observations cela ne signifie pas que l'acidité ne contribue pas à l'activité antibactérienne du miel.

Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces pathogènes.

8.2 Anti-radicalaire

Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres, générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement (stress biotique et abiotique) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires.

8.3 Le miel se révèle être aussi un super antifongique

Les propriétés antibactériennes du miel sont connues depuis des millénaires, mais une étude de l'Université de Manchester lui accorde un nouveau bénéfice, une capacité à détruire un champignon redoutable qui peut infecter les plaies, mené à la cécité, voire au décès. Ici, sa capacité à détruire le champignon *Fusarium* dépasse celle de certains antifongiques.

Face à l'émergence des résistances bactériennes, les propriétés antibactériennes du miel ont souvent été évoquées, certains voyant dans les substances naturelles, encore un gisement de nouveaux antimicrobiens. Il est vrai que le miel est utilisé depuis des siècles en médecine populaire pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures et les plaies, sans qu'on connaisse précisément son processus d'action sous-jacent. Une étude suédoise, publiée dans l'International Wound Journal a néanmoins récemment identifié de nouveaux composés antibactériens dans l'estomac des abeilles, 13 bactéries lactiques (LAB) capables de lutter contre des bactéries redoutables, comme SARM.

L'équipe de Manchester (**The University of Manchester., 2016**) a travaillé ici à partir d'un miel biologique (Surgihoney), qui produit des molécules réactives chimiquement, contenant de l'oxygène et a testé son efficacité à détruire le champignon *Fusarium*, responsable d'infections sévères chez les personnes vulnérables. Ces champignons sont souvent retrouvés en cas d'infections chroniques comme celles qui se développent dans les plaies et leur

présence est fréquemment associée à l'utilisation d'antibiotiques à large spectre. Ils peuvent également « participer » aux biofilms qui contribuent au retard de cicatrisation et aux complications des plaies chroniques.

Il dégrade la paroi cellulaire du champignon : Dans cette étude, même à faible concentration, le « miel » entraîne un effet significatif dans la dégradation de la paroi cellulaire du champignon, ce qui suggère son potentiel pour un futur traitement pour les patients. En particulier, le miel s'avère capable de « percer » le biofilm et ce faisant, d'accélérer le processus de cicatrisation. « Ce qui est étonnant », conclut l'auteur, « c'est que le miel fonctionne même mieux que certains antifongiques ».

2.4 Miel et diabète

- **Composition et indice glycémique (IG)**

Le miel est avant tout composé de sucres: glucose et fructose. En fonction des miels, c'est soit le fructose soit le glucose qui prédomine.

La concentration de fructose dans un aliment influence l'indice glycémique de la personne qui le consomme, c'est-à-dire son taux de glycémie. Plus la concentration de fructose est importante et moins l'indice glycémique (IG) est élevé (**Diabetes Care, 2005 – J Clin Nutr. 2010**). Ainsi, l'évolution de la réponse à l'insuline montre une diminution de la quantité d'insuline sécrétée lors d'une augmentation de la teneur en fructose du miel.

Plusieurs sortes de miel ont été notées :

Tableau 4. Quelques types de miel (Oudjet. k., 2012)

Type de miel	Couleur Consistance	Composition	Goût /arôme	Cristallisation	Effets thérapeutiques
Romarin Issu du nectar	Très clair Se durcit avec le temps	/	Très aromatique. son goût subtil est plus intense et persiste.	Rapide, à grain fin.	Troubles hépatiques et digestifs.

Lavande Issu du nectar	Ambré Liquide a crémeux	Fructose 41,91% Glucose 38,72% Saccharose 7,22% L'eau > 17,5% pH 3,63	Dégageant des effluves puissants, peu acide, ce miel sécrète un bouquet de saveurs fruitées et colorées.	Effectue en quelque mois.	Antiseptique respiratoire, calmant nerveux, rhumatisme.
Fleur d'Oranger Issu du nectar	Clair à brun clair Crémeux	Les sucres 80,2% saccharose 2,80% Eau 14,6% pH 4,23	Fruité		Calmant nerveux, favorise le sommeil, contre les troubles digestifs. Source de Vitamines C.
Eucalyptus Issu du nectar	Ambré Tendance à se cristalliser	Fructose 33,93% Glucose 26,68% Saccharose 6,5% L'eau 18,99% pH 4,58	Arôme puissant à l'accent de menthe, son goût si caractéristique, vert, aux saveurs de bois relativement prononcées, ne plaît qu'aux seuls amateurs	Le miel reste liquide durant plusieurs mois. Ensuite, la cristallisation peut devenir assez grossière.	Ce miel est recommandé en cas de rhumes (anti virales).
Toutes fleurs Issu du nectar	Brun clair Crémeuse	Fructose 38,19% Glucose 31,28% saccharose 1,3% L'eau 17,2% pH 3,9	Agréable en bouche	Effectue en quelque jour.	Troubles nerveux, respiratoires et affections cutanées.
Jujubier Issu du nectar	Foncé (caramel) Epais	Sucres totaux 79,21% L'eau 13% pH 4,70	Caractéristique	Très lente	Troubles hépatiques, respiratoires énergiques, stimule l'immunité.
Sapin Issu du miellat	Très foncé avec des variantes selon les régions. Liquide a crémeux	fructose 38 %, glucose 27,3 % saccharose, 9 % eau 16%	Arôme prononcé, son goût révèle malté balsamique mais conserve néanmoins sa douceur caractéristique	Très lente. Le miel de sapin garde longtemps sa texture sirupeuse	Antianémique, antiseptique et diurétique .ce miel est riche en oligoéléments (phosphore, potassium, zinc...)

Chapitre 2: Métabolites secondaires

1. Les composés phénoliques

1.1 Les polyphénols

Sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham., 2005**). Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (**Lugasi et al., 2003**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton., 1993**).

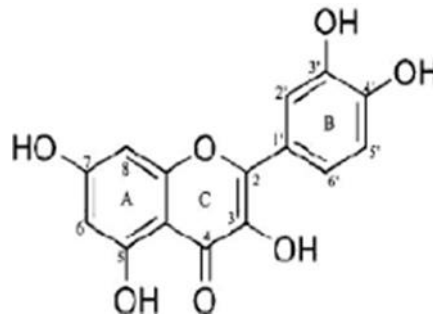


Figure. 12: Structure de base des polyphénols

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham., 2005**).

1.2 Classification des polyphénols

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

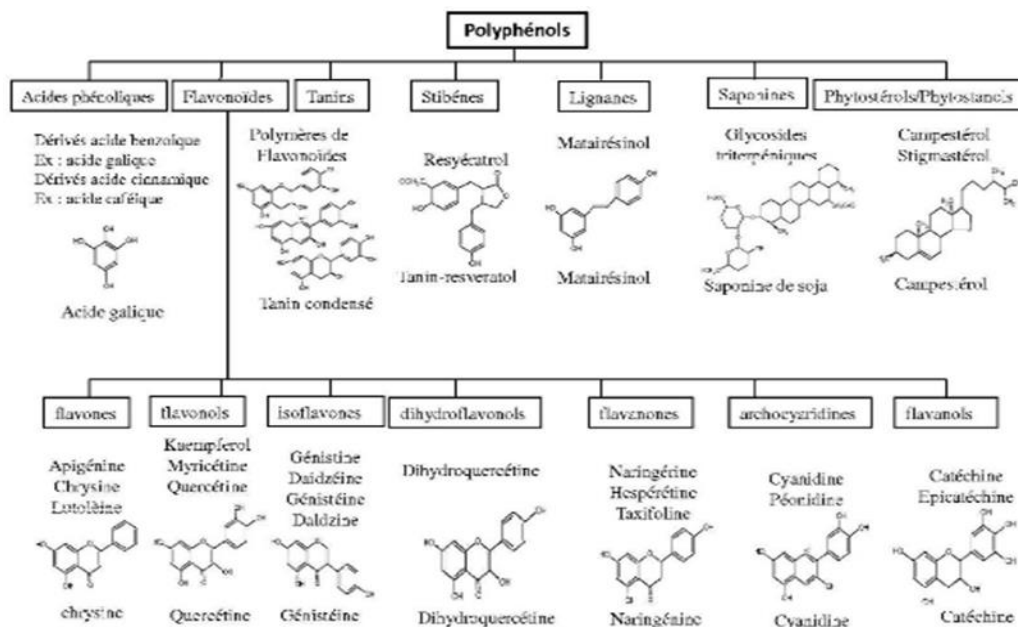


Figure 13: Les différentes classes des composés phénoliques

1.2.1 Les acides phénols

Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone. Ils sont représentés dans certains nombre de plantes alimentaire et médicinales (Psotová *et al.*, 2003) (comme le palmier dattier: datte Deglet Nour).

1.2.2 Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, cyringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques.

1.2.3 Les acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide sinapique (Ribereau, 1968. Goetz *et al.*, 1999).

1.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux, on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guigniard, 1996).

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Gabor *et al.*, 1988).

1.3.1 Structure

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Figure 14) (Bruneton, 1999).

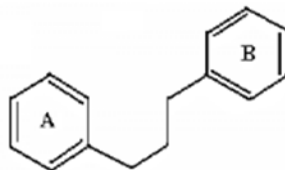


Figure. 14: Squelette de base des flavonoïdes (Dean., 1963).

1.3.2 Propriétés des flavonoïdes

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses (Middleton et Kardasnam, 1993). La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Medic *et al.*, 2004). Parmi les nombreux pigments dérivants de cette structure, il convient de citer notamment:

a. Les flavonols

Les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont largement répandus et incolores, ils sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs au jaune primevère (Guignard, 1996 ; Alais et Linden, 1997). Parmi les flavonols les plus répandus, on trouve le kaempférol (OH en 4', 5, 7), le quercétol (OH en 3', 4', 5, 7) ces deux flavonols sont incolores; le myricétol est l'isorhamétol (Figure 15).

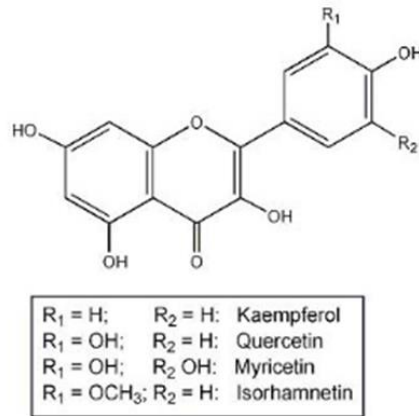


Figure. 15: Structures chimiques de quelques flavonols (Gnu., 2007).

b. Les flavanones

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoides responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringine (naringénol lié à du glucose et du rhamnose), l'hespéridine (Alais et Linden, 1997)

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1 Le miel :

Nous avons travaillé sur trois (03) types de miel dont les principaux constituants sont présentés dans le **Tableau 5**:

Tableau 5. Les principaux constituants des miels choisis

Type de miel	Origine	Nature	Couleur	Odeur	Goût	Aspect	Prix/kg	Achat
1	Espagne	Toutes fleurs	Marron foncé	Très forte	Agréable	Cristallisé	400000	Rue Kamel beloucif
2	Algérie	Eucalyptus	Marron clair	Très forte	Goût de miel	Cristallisé	400000	Apiculteur (Ain Smara, Constantine)
3	Espagne	Jujubier	Jaune brun (caramel)	Très forte	un peu acide	Liquide	400000	Rue Kamel beloucif

Dans notre travail nous avons appliqué les tests chimiques sur deux (02) types de miel(1,2) par contre l'activité biologiques (antibactérienne +antifongique) a été réalisé sur le miel type 2 et type 3, en raison de la non disponibilité de miel 1et par conséquent nous avons remplacé le miel type 1 par le miel type 3.

2. Tests chimiques préliminaires :

2.1 Détection des polyphénols

A-Criblage des flavonoïdes :

Dans un tube à essai on met 0,2g de miel avec 1,8ml d'eau. L'ensemble est agité pendant quelque minutes.

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5ml d'alcool chlorhydrique (1ml et 0,2g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose au rouge se développe après 3 minutes (**Debrayb et al., 1971 ; Paris et al., 1969**).

B – Criblage des tanins

La réaction effectuée est l'action de chlorure ferrique (FeCl_3) 5% sur l'extrait aqueux à 10%, l'apparition d'une coloration bleu noire ou verte dénotant la présence de tanins. (**Harborne., 1968 ; Ribereau- Gayon., 1968**).

C-Criblage des alcaloïdes

2 ml d'une solution d'extrait à 10% dans l'eau additionnée d'une goutte de HCl concentré et 3 gouttes de réactif de Mayer. Pas de formation d'une précipitation jaune blanche signifie l'absence d'alcaloïdes.

D- Criblage des stéroïdes

5 g de miel étudié sont extraits avec 70% d'éthanol, l'extrait de l'alcool s'est évaporé et est dissous dans CHCl_3 . Le filtrat est divisé en deux tubes :

- dans la première, 1 ml de solution acétique est ajouté suivi par 1 ml de H_2SO_4 concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte ceci prouve la présence de stéroïdes, non saturés.
- dans le deuxième tube, le même volume de H_2SO_4 est ajouté. La couleur jaune n'est pas transformée à la couleur rouge, ceci indique l'absence de dérivés des stéroïdes.

3. Chromatographie sur couche mince

Pour réaliser ce type d'analyse, il nous faut :

- ❖ **une cuve chromatographique:** Un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- ❖ **la phase stationnaire:** Une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant, fixée sur une plaque de verre, de plastique ou d'aluminium, à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris), l'amidon ou un polymère organique.
- ❖ **Certaines plaques** sont traitées par une substance fluorescente qui permet la révélation aux UV.
- ❖ **l'échantillon:** Environ un microlitre de solution diluée (de 2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- ❖ **l'éluant (phase mobile):** Un solvant pur ou un mélange.

A. Préparation de la phase stationnaire

- B. La phase stationnaire, est une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice, fixée sur une plaque d'aluminium.

B. Préparation de la phase mobile

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques.

Tableau 6: Choix de la phase mobile

Essai	Phase stationnaire	Phase mobile (solvants testés)
E1	Eau distillé	Cyclohexane/acétone 90 :10
E2	Eau distillé	Butanol/acide acétique/H ₂ O 40 :10 :50
E3	Eau distillé	Chloroforme/méthanol 50 :50
E4	Eau distillé	Ether de pétrole/méthanol/eau 10 :1 :0.5
E5	Eau distillé	Acétate d'éthyle /eau/méthanol 10 :0,5 :1

C. Le Dépôt :

Dans un premier temps, nous avons tracé un trait horizontal (la ligne de base) à environ 2 cm du bas de la plaque de CCM. La solution à analyser est alors déposée en un point de cette ligne.

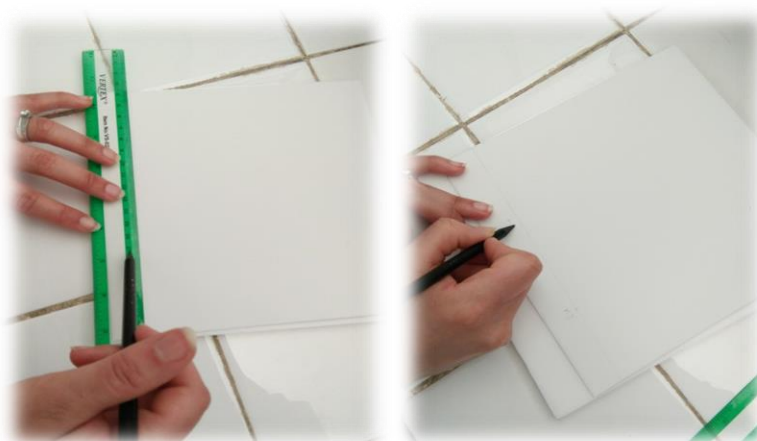


Figure 16: Préparation de la plaque CCM (phase stationnaire)
(laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

Pour déposer les solutions nous avons utilisé des pipettes Pasteur en verre à usage unique d'une façon perpendiculaire qui va nous permettre de déposer juste une petite quantité de chacune des solutions dans le puits correspondant. Nous avons effectué plusieurs dépôts successifs du même échantillon en même endroit, cette pratique permet de concentrer la tâche déposée.



Figure 17: Dépôt de l'échantillon

(Laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale. Faculté SNV, Université des frères Mantouri Constantine1).

D. Migration

Il s'agit en fait de faire migrer les composés déposés. Pour cela, on place dans la cuve un peu de solvant (sur une hauteur d'environ 0,5cm) puis on introduit verticalement la plaque. L'éluant ne doit pas être en contact avec la tache de produit.

Pendant toute la durée de l'élution, la cuve restera fermée et ne devra pas être déplacée.



Figure 18: Emplacement de la plaque CCM dans la cuve

(laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

Une fois le solvant à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque, on la sort et on marque le front du solvant au crayon. Puis on laisse sécher la plaque.

E. Révélation

Si les constituants sont colorés, ils seront directement visibles sur la plaque, sinon la révélation peut se faire soit aux UV ou bien par des méthodes chimiques

Révélation aux UV: elle permet de mettre en évidence sous forme des tâches des substances qui absorbent les UV 254nm.

4. Mesure de la Conductivité électrique et pH:

4.1 La conductivité électrique:

La conductivité électrique est déterminée par une conductimètre à 20°C d'une solution de miel à 20% (1V/5V). Elle mesure la capacité de miel à transmettre un flux électrique ou conductance. Une cellule de conductance reliée à un potentiomètre analyse la vitesse de passage du flux électrique entre deux électrodes. Le résultat s'affiche en siemens (S). Le siemens étant l'unité de mesure de la vitesse de conductance. Conventionnellement, la conductibilité est donnée en 10^{-4} S/cm (Benaziza et Schweitzer, 2010).

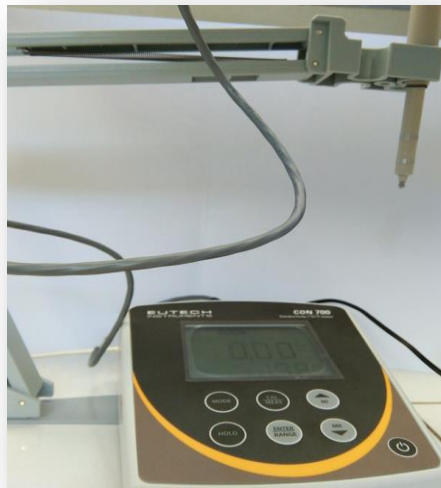


Figure 19: l'appareil de conductimètre

(Laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

4.2 Le pH :

Le miel est de nature acide, et son pH oscille en moyenne, entre 3,5 et 6 (www.01santé.com). Certains miels sont plus fragiles que d'autres en fonction de leur acidité naturelle ; en effet, tous les miels dont le pH est inférieur à 4 se dégradent plus vite que les autres.



Figure 20: l'appareil de pH mètre

(Laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

4.3 Mode opératoire

A-Mesure du la conductivité électrique:

- 4g de miel sont placés dans 75ml d'eau distillée
- Mélanger bien jusqu'à homogénéisation du mélange.
- Passer le mélange dans un agitateur lié à une électrode, qui correspond au conductimètre.
- laisser agiter pendant 2min.
- Faire la lecture après stabilisation de l'appareil.

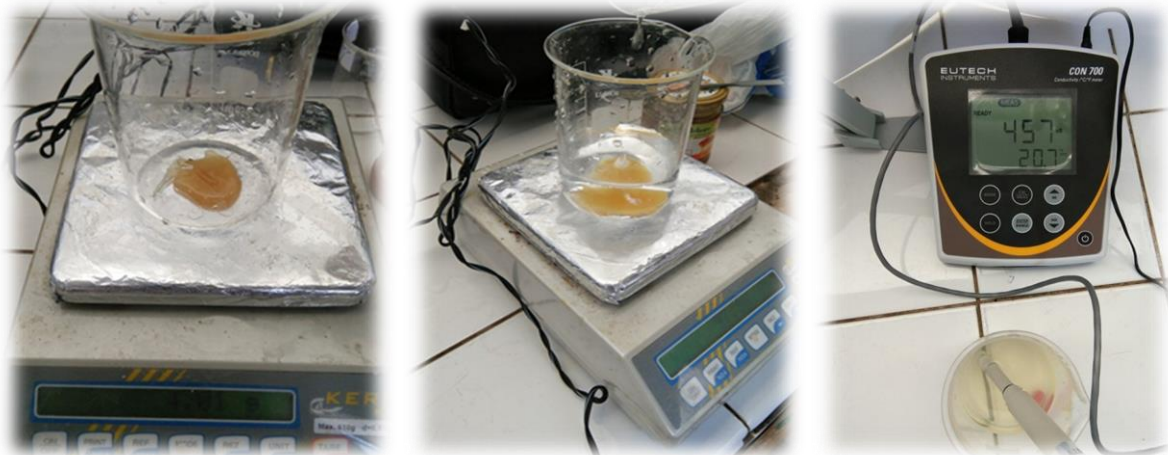


Figure 21: Mesure de la conductivité électrique du miel

(laboratoire 2, département de biologie et écologie végétale Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

B-Mesure du pH:

- Peser dans un petit bécher 10g du miel le dissoudre dans 75ml d'eau distillé.
- Rincer l'électrode à l'eau distillée puis le sécher.
- Placer la solution de miel a analysé sous agitation magnétique.
- Plonger l'électrode propre et sèche dans la solution à analyser.
- Attendre la stabilisation de la valeur du pH.

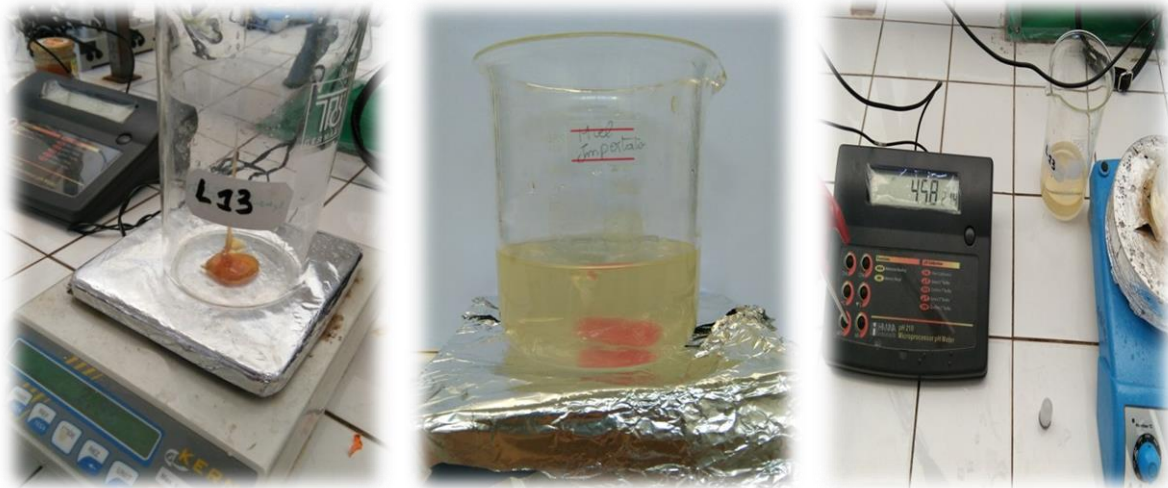


Figure 22: Mesure de pH du miel

(Laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).

5. Etude du pouvoir antibactérien et antifongique du miel

5.1 Activité antibactérienne :

5.1.1 Matériel

Nous avons choisi de travailler sur quatre souches bactériennes pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne : *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

5.1.2 Principales caractéristiques des souches testées

- *Bacillus subtilis* :

C'est un bacille à Gram positif de la famille des Bacillaceae, mobile, aérobie strict. Il vit sur divers substrats organiques (les poussières, le sol, le lait, l'eau, et les plantes sèches). Il appartient au genre *Bacillus*. Il n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais il peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer des intoxications alimentaires. (Michiko, M ; Peter, Z, 1998).



Figure 23: Aspect microscopique *Bacillus subtilis* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

- *Escherichia coli*

C'est un bacille mobile à gram négatif qui appartient à la famille des Enterobactériacées, c'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'homme. C'est un germe le plus fréquemment responsable d'infections urinaires. Cette bactérie est aussi l'origine de septicémies, méningites chez le nourrisson ainsi que de manifestations intestinales telles que les diarrhées (Evans, J ; Doyle, J ; Dolores ; Evans, G, 2007)

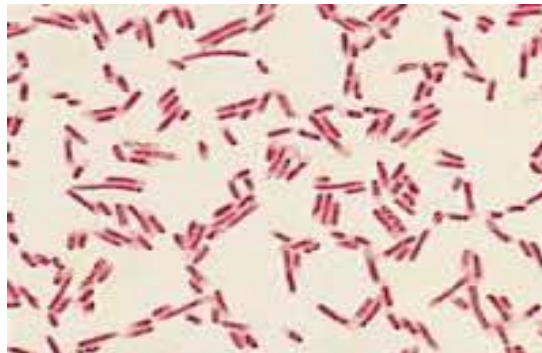


Figure 24: Aspect microscopique *Escherichia coli*(<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

- *Staphylococcus aureus*

Le genre *Staphylococcus* est une coque à gram positif appartenant à la famille des Staphylococcaceae, caractérisés par leurs groupements rappelant celui des grains d'une grappe de raisins. C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air et l'eau. Il est aussi un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Il est trouvé chez 15 à 30 % des individus sains au niveau de leurs fosses nasales. *Staphylococcus aureus* possède un pouvoir. Il est susceptible de sécréter différents toxines et des enzymes qui entraînent des liaisons suppuratives et nécrotiques (Singh, V et al., 2007).



Figure 25: Aspect de *Staphylococcus aureus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Le *Pseudomonas aeruginosa*, également connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie que l'on trouve partout dans la nature, et en particulier dans les milieux humides et chauds. Habituellement, cette bactérie est peu agressive envers l'homme, mais elle peut devenir pathogène (responsable d'une maladie) dans certaines circonstances. Très résistante face aux traitements antibiotiques, elle est notamment en cause dans une part croissante des maladies nosocomiales, les maladies contractées lors d'un séjour dans une structure de soins. (**Sante médecine. Comment ça marche.net**)



Figure 26: Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

Les caractères morphologiques et le type respiratoire de ces souches sont mentionnés dans le tableau.

Tableau 7. Caractéristiques des souches bactériennes choisies

Souches	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Forme	Bacilles	Cocci	Bacilles	Bacilles
Mobilité	Mobile	Immobile	Mobile	Mobile
Gram	Gram négative	Gram positive	Gram positive	Gram négative
Type respiratoire	Aéro-anaérobie	Aéro-anaérobie	Aérobie	Aérobie
Paroi	Simple	Double	Simple	Double

5.1.3 Choix du milieu de culture:

Le milieu de culture utilisé est la gélose de Muller Hinton parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

5.1.4 Préparation des précultures:

La sensibilité des bactéries vis-à-vis de miel peut être étudiée par la technique de culture en milieu liquide ou par la technique de diffusion en milieu solide. Pour notre part, nous avons utilisés la méthode de diffusion en milieu solide coulé en boîtes de Pétri.

5.1.5 Préparation des milieux de culture:

a. Milieu solide:

La gélose nutritive stérile Mueller- Hinton a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur du milieu doit être de 2 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné. Les boîtes dernières doivent être séchées 15mm à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi

b. Milieu liquide:

Les deux échantillons de miel ont été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur du milieu doit être de 2 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné.

5.1.6 Préparations des disques:

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman n°1, avec un diamètre de 4mm à l'aide d'un perforateur. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante dans un tube à essai hermétiquement fermé.

5.1.7 L'ensemencement:

Des boîtes de Pétrie stériles préalablement coulées, sontensemencées par les étapes suivantes :

- tremper une pipette Pasteur stérile dans la suspension bactérienne, et prendre une quantité.
- Mettre des gouttes sur la surface gélosée, séchée. Après, il faut former la pipette Pasteur à la forme de lettre 'L', pour faciliter d'étalée la souche bactérienne à totalité sur la surface gélosée, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.
- En tournant la boîte de Pétri sans oublier de faire pivoter la pipette sur elle-même. Finir l'ensemencement en passant la pipette pasteur sur la périphérie de la gélose.

Répéter l'opération avec toutes les souches utilisées.

5.1.8 Dépôt des disques:

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papiers Wattman n°1 sont disposées dans les boîtes de Pétri contenant la gélose MH (6 disque /boite) des deux échantillons, ces disques ont été imprégnés précédemment dans trois dilutions (miel/eau distillé) de concentrations différentes (A, B, C) de chaque échantillon.

Tableau 8: Des trois concentrations utilisées.

Concentration	Volume (Miel/eau)
A	0,5g /1ml
B	1g/1ml
C	1,5g/1ml

5.1.9 Incubation des boîtes:

Les boîtes sont ensuite incubées dans l'étuve à 30°C. Après 3 jours nous avons fait l'observation.

5.2 Activité antifongique:

Nous avons choisi de travailler sur 2 souches de champignons pour la mise en évidence de l'activité antifongique. Ces souches sont : *alternaria solani* et *Rhizopus stolonifer*.

5.2.1 Principales caractéristiques des souches testées

- *Alternaria solani*:

C'est un champignon phytopathogène de la famille des *Pleosporacées* présent dans les régions tempérées et tropicales de l'Ancien et du Nouveau monde, provoquant chez les plantes de la famille des *Solanacées*, notamment la tomate et la pomme de terre, mais aussi le piment et l'aubergine, une maladie appelée « alternariose » ou « brûlure alternarienne »



Figure 27: Aspect d'*Alternaria solani* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

- *Rhizopus stolonifer*:

Rhizopus stolonifer est un champignon très cosmopolite. Il provoque des pourritures molles et liquides sur différentes plantes et divers organes (majoritairement les fruits) surtout au moment de la récolte et en cours de conservation. Ces pourritures montrent quelques similarités avec celles occasionnées par des bactéries.

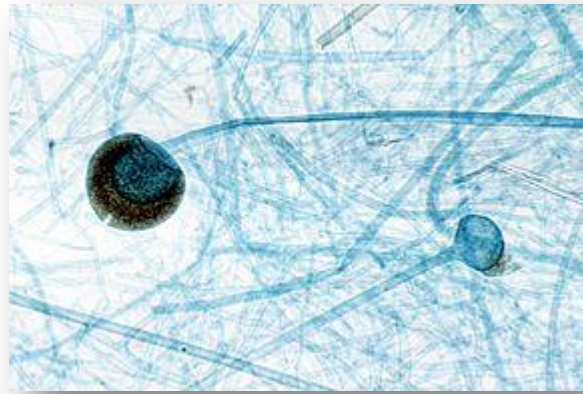


Figure 28: Aspect de *Rhizopus stolonifer* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/>)

5.2.2 Milieu de culture:

Le milieu de culture utilisé est la gélose PDA (Potato Dextrose Agar), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antifongiques.

5.2.3 Préparation des milieux de culture

a. milieu solide:

La gélose nutritive stérile PDA a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur du milieu doit être de 2 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné. Les boîtes doivent être séchées 15mm à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

b. milieu liquide:

Les deux échantillons de miel ont été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur du milieu doit être de 2 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné.

5.2.4 Isolement et repiquage des champignons :

Les deux souches des champignons utilisés dans ce travail ont été isolées, et placés dans boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) pour permettre le développement du champignon (**Papierok et Hajek, 1997**). Les boîtes ont été incubées à une température de 30° jusqu'à la multiplication importante du pathogène.

La purification des isolats développés a été effectuée par des repiquages successifs sur le milieu d'isolement jusqu'à l'obtention d'une culture pure. Le repiquage des champignons à identifier s'est effectué à la suite du prélèvement des explants fongiques en bordure des colonies développées sur les milieux d'isolement.

Chapitre 2: Résultats et discussion

1-Détection des polyphénols:

Tableau 9. Résultat des tests chimique de Miel d'Algérie




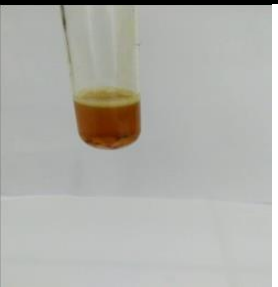
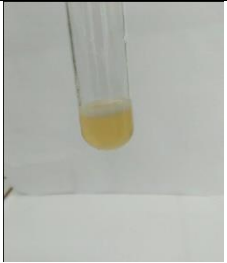


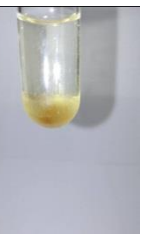






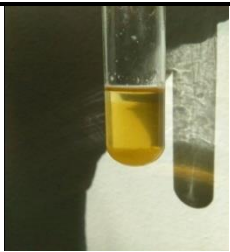



Les composés recherchés	Réactifs	Les critères d'identification	Témoin	Echantillon
Flavonoïdes	Copeaux de magnésium	Couleur rose orangé ++		
Tanins	Chlorure ferrique	Couleur verte +++		
Alcaloïdes	Réactif Mayer	Précipite jaune blanche +		
Stéroïdes	H ₂ SO ₄	/		<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>1^{er} tube</p>  <p>verte -</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>2^{ème} tube</p>  <p>rouge+++</p> </div> </div>

Tableau 10. Résultat des tests chimique de Miel d'importation

Les composés recherchés	Réactifs	Les critères d'identification	Témoin	Echantillon
Flavonoïdes	Copeaux de magnésium	Couleur rose orangé ++		
Tanins	Chlorure ferrique	Couleur Verte +++		
Alcaloïdes	Réactif Mayer	Précipites jaune blanche +++		
Stéroïdes	H ₂ SO ₄	/		<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  1^{er} tube Vert - </div> <div style="text-align: center;">  2^{ème} tube rouge+ </div> </div>

Réaction fortement positive : +++

Réaction positive : +

Réaction moyennement positive : ++

Réaction négative -

Les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes ont été caractérisés dans les extraits par des réactions colorées. Les réactifs de caractérisation classiques ont permis de mettre en évidence les groupes chimiques suivants: les flavonoïdes par les réactifs copeaux de magnésium (**Paris et al., 1969**), les tanins par l'ajout de trichlorure du fer (**Dohou et al., 2003**) les alcaloïdes par le réactif de Mayer (**Konkon et al., 2006**) et les saponines de type stéroïdique par l'acide sulfurique (**Marston et al., 2000; Muir et al., 2000; Schöpke., 2000**).

En comparant les résultats des tests chimiques effectués sur le miel d'Algérie, avec ceux obtenus sur le miel d'importation, on constate qu'il existe une différence basée sur la présence ou absence de la couleur identifiant le composé en question.

Pour le miel local, le test a révélé une réaction moyenne vis à vis des flavonoïdes; par contre pour le miel d'importation les flavonoïdes ont réagi moyennement avec le réactif (les copeaux de magnésium). En ce qui concerne les tanins, les réactions chimiques effectuées avec le chlorure ferrique, la coloration verte révèle une forte présence dans les deux échantillons, cependant.

Les alcaloïdes sont caractérisés par la présence des précipités de couleur jaune blanche, dans les deux échantillons (**Tableaux 9, 10**). Sa présence est trop accentuée pour le miel d'importation.

Concernant les stéroïdes, la réaction a été effectuée séparément dans deux tubes contenant l'acide sulfurique (H_2SO_4) pour les deux échantillons. Dans les deux premiers tubes des deux échantillons, l'absence de la couleur verte indique la présence des stéroïdes, la coloration rouge de deuxième tube du miel d'Algérie a affirmé une forte présence des dérivés de stéroïdes, pour le deuxième tube du miel d'importation, la couleur révèle une faible présence de ces derniers.

2-Chromatographie sur couche mince

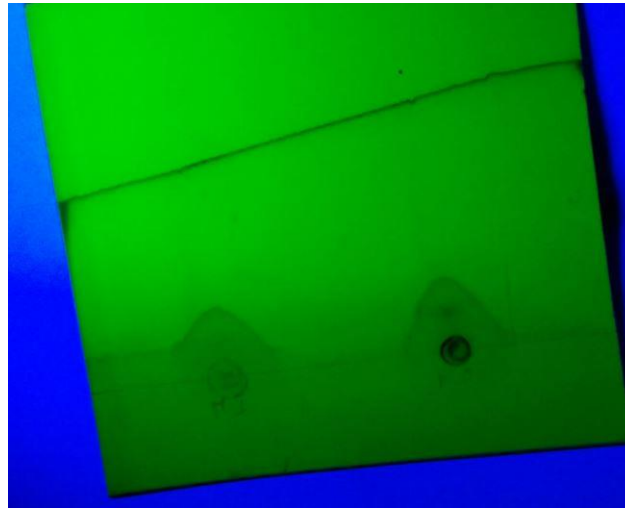


Figure 29: Résultat de la CCM sous rayons ultraviolets

(Laboratoire 2, Département Biologie et Ecologie Végétale Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1).



Pour la séparation des sucres du miel d'Algérie et celui d'importation, une chromatographie sur couche mince a été effectuée avec une plaque de gel de silice comme un support (20×20cm). Les systèmes de migration utilisés sont mentionnés dans le (Tableau 6). Les trois composés glucidiques sont utilisés comme standards; le glucose, le maltose et le fructose. La visualisation des taches a été faite sous UV à 254 nm.

La chromatographie pratiquée au laboratoire n'a pas fonctionné : nous n'avons pas obtenu des spots. La plaque CCM ne présente aucune tache indiquant la migration et par conséquent la présence des molécules recherchées, d'après la bibliographie le miel est très polaire la plaque CCM est de type polaire et pour retenir les molécules il faut avoir une plaque CCM différentes en fonction de la polarité vis-à-vis de l'échantillon.

3- Conductivité électrique et PH:

3-1 La Conductivité électrique

Tableau 11. Mesure de la conductivité électrique

Echantillons	Valeurs	Photos
E1 (miel d'Algérie)	245 μ S	
E2 (miel d'importation)	457 μ S	

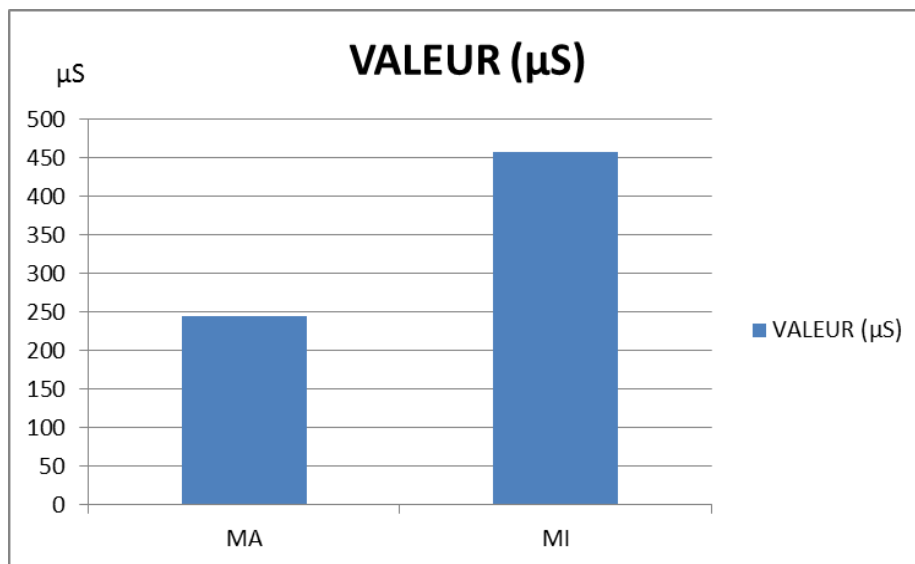


Figure 30: Mesure de la conductivité électrique des deux échantillons du miel.
(MA :miel d'Algérie, MI :miel d'Importation)

Résultats et discussions

Notre travail donne une conductivité électrique comprise entre 245 et 457 μ S/cm.

Les deux échantillons mesurés ont une conductivité au-dessous de la limite préconisée selon l'organisation mondiale FAO (800 μ S/cm) (**Codex Alimentarius, 2001**).



Les valeurs de la conductivité électrique sont inférieures à 800 μ S/cm, cela veut dire que ce sont des miels à nectars. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 11**.

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles. La teneur de ces derniers dans les solutions diluées est proportionnelle à la conductivité (**Gonnet, 1986**).

D'autre part la conductibilité électrique d'un miel est en rapport avec sa couleur, selon **Gonnet., (1984), Kaskoniené et al., (2010), Louveaux, (1980)**, les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs. Ils sont les plus riches en matières minérales ionisables, donc sont des bons conducteurs de courant (**Gonnet, 1982**). Les sels sont apportés par le pollen, par le nectar des fleurs ou par les miellats (**Louveaux., 1976**).

3-2 Le pH

Tableau 12. Mesures du pH

Echantillons	Valeurs	Photos
E1 (miel d'Algérie)	4.58	
E2 (miel d'importation)	4.70	

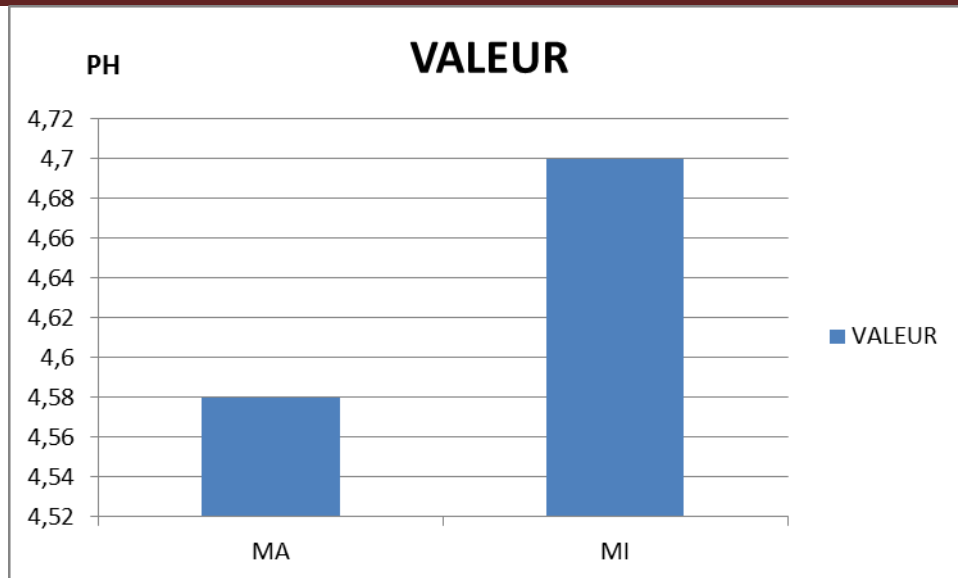


Figure 31: Mesures du pH des deux échantillons
(MA :miel d'Algérie, MI :miel d'Importation)

Le pH des deux échantillons testés donne des valeurs de 4,58 - 4,7 respectivement pour les miels d'Algérie et d'Importation. Ces valeurs sont conformes avec les normes internationales. Le pH représente la concentration en protons H^+ d'une solution (**Fallico et al 2004**).



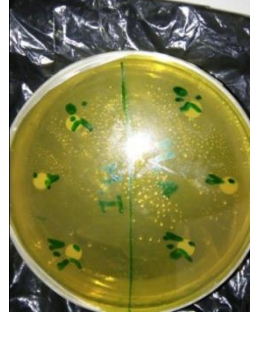
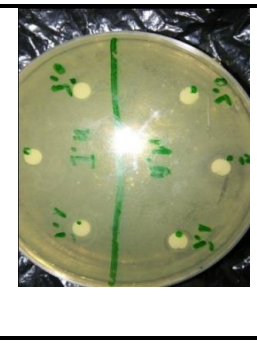
Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (**Zappala et al ., 2005**).

Les acides phénoliques sont présentes en grande quantité dans les miels sombres ce qui contribue à leur acidité. D'après les données bibliographiques, le pH du miel varie entre 3,3 - 4,5. Le miel à pH plus acide se dégrade plus facilement, donc il faudra prendre un soin particulier à leur conservation. Plus le pH est bas plus le miel est mauvais pour sa conservation.

4. L'Activité antibactérienne

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des deux échantillons du miel vis-à-vis de quatre bactéries. Les zones d'inhibition sont indiquées dans le **Tableau 13**.

Tableau 13. Diamètre de la zone inhibitrice des quatre souches bactériennes étudiées (mm)

Bactéries	Concentration						Figures
	Miel Algérie			Miel Importation			
	0,5g	1g	1,5g	0,5g	1g	1,5g	
<i>Bacillus subtilis</i>	2mm	0mm	3mm	0mm	0mm	3mm	
<i>Escherichia coli</i>	6mm	0mm	6mm	7mm	0mm	<u>11mm</u>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0mm	0mm	<u>9mm</u>	0mm	0mm	0mm	

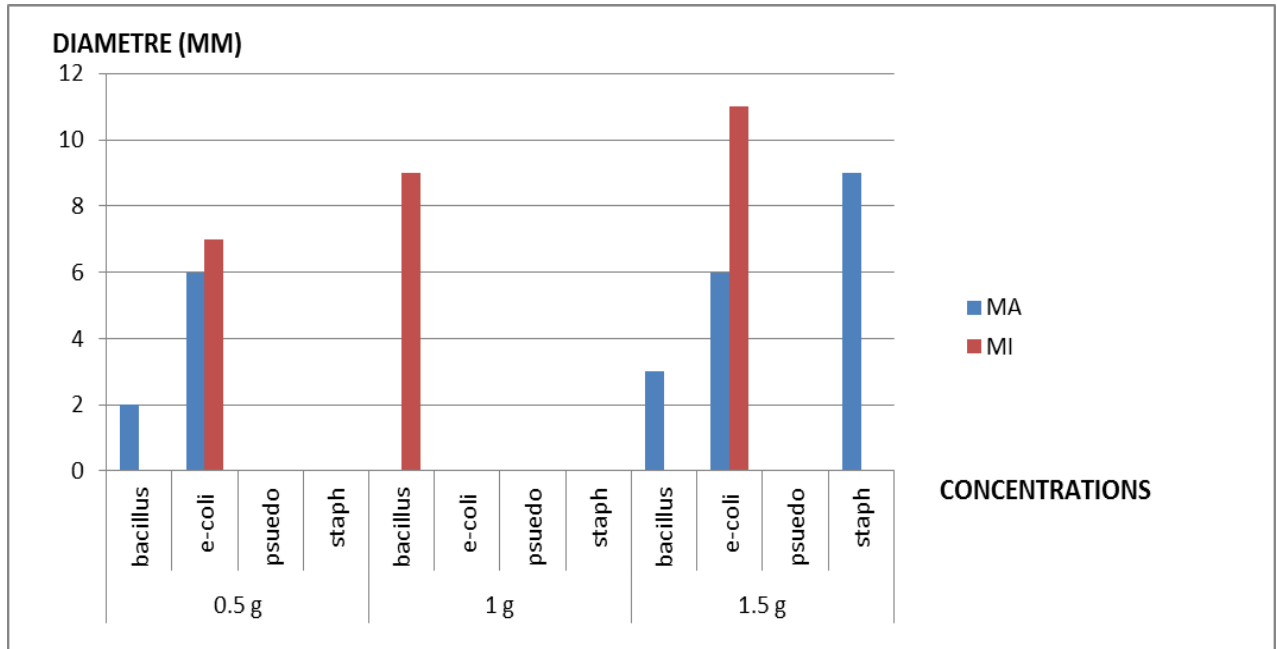


Figure 32: Diamètre de la zone inhibitrice des quatre souches bactériennes en (mm) pour les deux types de miel

Nous avons déterminé l'effet antimicrobien des deux échantillons de miel sur les quatre souches bactériennes. Pour cela la sensibilité de ces dernières est estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition dans les deux sens perpendiculaires autour des disques.

Le test effectué sur les quatre espèces bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* est confirmé par l'apparition des zones d'inhibitions autour des disques imprégnés dans les solutions à trois concentrations du miel. Le diamètre de la zone d'inhibition varie d'une espèce à une autre. La meilleure activité antibactérienne a été observée chez l'espèce *Escherichia coli* pour la concentration de 1,5g avec un diamètre d'inhibition de 6 mm et 11mm respectivement pour les miels d'Algérie et d'importation.

Ce résultat nous conduit à dire que l'espèce *Escherichia coli* a une sensibilité au miel plus élevée que les autres espèces. Par contre, le test de l'activité antimicrobienne effectuée sur l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est avéré négatif. De ce fait elle est affirmée résistante au miel.

Ces résultats montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram⁺ et à Gram⁻.

On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet

inhibiteur sur les bactéries à Gram⁻ et non sur les bactéries à Gram⁺, et d'autre part de la composition du miel lui-même (Marah et al., 2010) dont le pourcentage d'eau (humidité) ne dépasse pas 20%, c'est un produit très déshydraté et d'après le verset coranique « 30 » de sourate الأنبياء (les prophètes) (وجعلنا من الماء كل شيء حياء) donc il y'a pas de prolifération d'aucune espèces bactérienne sur un milieu déshydraté pour expliquer ceci nous lançons une hypothèse que il n'y a pas de vie sans eau car la vie repose sur ce quand l'appel un métabolisme. Un métabolisme s'est un ensemble des réactions chimiques et les reactions chimiques sont sous contrôle de H₂O.

Cet effet inhibiteur a été confirmé en faisant le repiquage des deux souches bactériennes (*staphylococcus aureus*, et *Bacillus subtilis*) directement sur un milieu liquide (miel), ou y'avait aucune croissance des deux espèces citées avant.

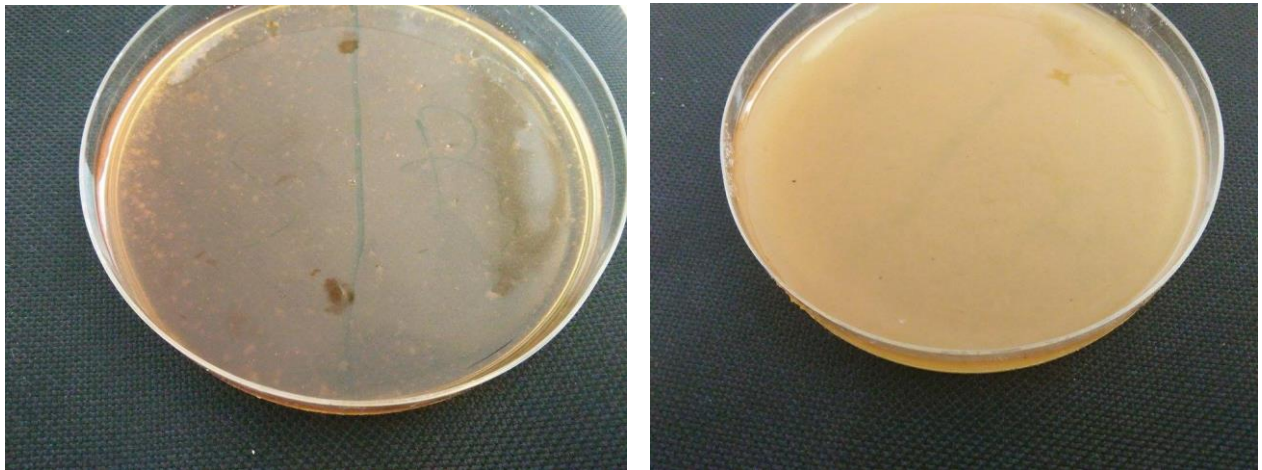

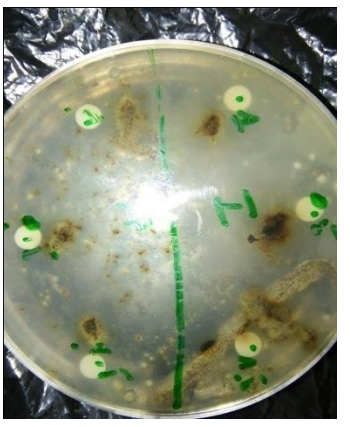


Figure 33: Résultat d'un repiquage des deux souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) sur un milieu liquide : Miel (MI,MA)

(Laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine1)

B-Activité antifongique :

Tableau 14. Diamètre de la zone inhibitrice des deux souches fongiques (mm)

Champignons	Concentration						Figures
	Miel Algérie			Miel Importation			
	0,5g	1g	1,5g	0,5g	1g	1,5g	
<i>Alternaria solani</i>	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	7mm	<u>11mm</u>	<u>11mm</u>	6mm	7mm	8mm	

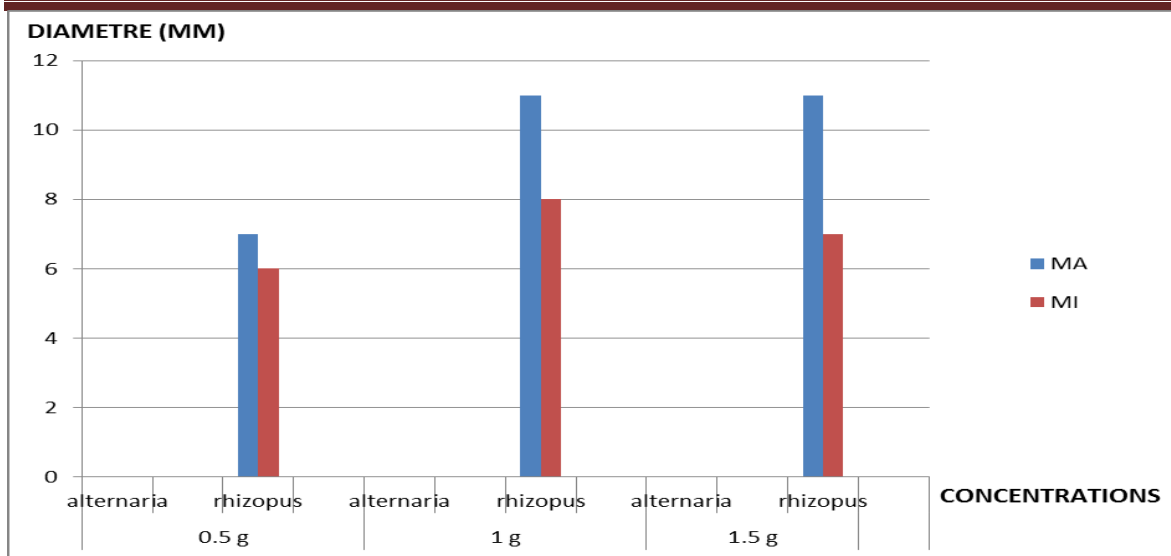


Figure 34. Diamètre de la zone inhibition des deux souches fongiques en (mm)
(MA :miel d'Algérie, MI :miel d'Importation)

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique (**tableau 14**), on peut constater ce qui suit :

La souche fongique *Alternaria solani* testée est résistante c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'inhibition sur les deux types de miel testé d'eucalyptus et de jujubier (**tableau 14**); par contre la souche fongique *Rhizopus stolonifer* est sensible à l'action inhibitrice des deux échantillons de miel avec des différences de diamètres d'un type à un autre, ce qui indique son large spectre d'action antifongique (**figure 34**). Il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique. Une solution de miel peut inhiber complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus.sp*, *Candida albicans*, *Penicillium sp*, *Penicillium chrysogenum* (**Rossant, 2011**).

L'effet antifongique du miel est plus important avec les échantillons non dilués. La croissance fongique est inhibée complètement (**figure 35**)



Figure 35: Résultat de repiquage des deux souches fongique sur un milieu liquide
(laboratoire 2, Département de Biologie et Ecologie végétale)

Conclusion générale

Conclusion

Le miel est donc un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel. On peut cependant déjà citer: le pH acide (constituant un milieu défavorable à la prolifération bactérienne), le peroxyde d'hydrogène (libéré de façon lente et prolongée au sein du miel), les facteurs phytochimiques (les polyphénols), comme défensive (petit peptide possédant un large spectre antimicrobien) et aussi c'est un produit très déshydraté empêchant ainsi toute prolifération microbienne.

Notre travail montre une richesse en composés secondaires respectivement en tanins, en flavonoïdes, et alcaloïdes avec une supériorité observés au niveau du miel d'importation. Cependant l'étude biologique montre une sensibilité plus marquée chez l'espèce *Escherichia. Coli* avec une zone d'inhibition de 11mm et une sensibilité pour *Rhizopus stolonifer* avec la même zone d'inhibition.

Références Bibliographiques

- Alais C, Linden G., 1997.** Biochimie alimentaire. Masson, Paris, 120-125 p.
- Alam et al., 2014.** A honey: a potential therapeutic agent for managing diabetic wounds. Evid Based Complement Alternat Med. Vol 2014, 16 p.
- Alvarez L. M., 2010.** Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted Annexes microphotographiques aux méthodes officielles d'analyse. Service de la répression des fraudes et du contrôle de la qualité, 24 p.
- Beta T, Nam S, Dexter, J, E, et Sapirstein H D., 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions, Cereal chem, 390-393 p. Biology, Volume 380, Issue 1, 158-169 p.
- Blanc M., 2010.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges.
- Bogdanov. S, Lullmann. 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. 12p.
- Bogdanov et al., 2005.** Miels monofloraux suisses, Centre de recherches apicoles, Station de recherches en production animale et laitière. 55 p.
- Brouillard R., 1982.** Anthocyanins as food colors. Marcaris P. Academic press. New York. 1-40p.
- Bruneau E., 2011.** Chapitre IX: Les produits de la ruche in Clément H. et al. Le Traité Rustica de l'apiculture Editions Rustica, Paris, 354-387 p.
- Bruneau E., 2002.** Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, rustica. 354-384 p.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales, Paris, France: Lavoisier. 278-279 p.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} éd. Lavoisier, Paris. 11-20 p.
- Claude, Tegoni M, Cambillau C., 2008.** Structural Basis of the Honey Bee.
- Clément H., 2006.** *Le Traité rustica de l'Apiculture*. Editions rustica/FLER, Paris, 528 p.

- Clément H., 2009.** *L'abeille sentinelle de l'environnement*. Paris, Alternatives. 144 p.
- Clément H, Fabienne. Ch. Savouré Ch. Vaesken. B., 2011.** *Le traité rustica de L'Apiculture*. Editions rustica paris.144-500p.
- Codex., 2001.** Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Commission du Codex Alimentarius. Alinorm 01/25, 1-31 *de l'abeille*, Tome 3. Édition Masson de Cie, Paris. 324 - 361 p.
- Dean F M., 1963.** *Naturall occuring Oxygen Ring Compounds*, Butterworth. Londres.
- Dr Sable., 1997.** Propriétés, valeur nutritionnelle et diététique du miel, cas du miel de tournesol. Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être, issue 57950, 25-32 p.
- Emmanuelle., 1996:** Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. Apiservices, Galerie Virtuelle apicole.
- Fallico B., Zappalà M ., Arena E ., Verzera A. 2004 .** Effects of conditionng on HMF content in unifloral honeys .Food Chemistry, Vol 85, Issue 2, 305-313p.
- Frankel E N. Water house A L, Teissedre P L., 1995.** Agric. Food. Chem. 43, 221- 235 p.
- Gàbor M, Cody V, Middleton E J, Harborne J B, Beretz A, Liss A R., 1988.** Plants Flavonoids in biology and Medicine II; Biochemical, Cellular and Medicinal properties. New York, 1-15 p.
- Garcia S, Barraco M, Adria M. A, et al., 1986.** Interpretation of rheogrammic functions in holm oak honey. S.T.P. PHARMA, vol. 2, issue 15. 307-312 p.
- Gonnet M., 1982.** Le miel: composition, propriétés et conservation 2ème édition OPIDA. 31 p.
- Gonnet M., 1982.** Le miel: composition, propriétés, conservation. Ed. Echauffour. Argentan. Ornes. 9-12 p.
- Gonnet M., Vache G. 1987**Le miel. *Aujourd'hui l'apithérapie*, supplément. Issue 465. 20-21 p.
- Guingard J., 1996.** Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, 175-192 p.

Harbone J B., 1967. Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, 1-130 p.

Kašonienė V, Venskutonis P. R, Čeksterytė V., June 2010. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania **LWT Food Science and Technology**, vol 43, issue 5, 801-807p.

Kerkvliet JD., 1996. Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. *J. Apicultures*, 35, 110-117 p.

Lacube. J., 2013 L'ABC de l'apiculture éditions rustica, paris .13-50p.

Lebham., 2005. Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)-Université de Bretagne Occidentale (UBO).

Le Conte. Y., 2002. Mieux connaître l'abeille. *In Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica,.

Louveaux. J., 1968. *Composition, propriétés et technologie du miel*. In : CHAUVIN R. Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 277-324 p.

Louveaux. J., 1968. *Composition propriété et technologie du miel*. Les produits de la ruche, in Traité de biologie de l'abeille. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.

Louveaux. J., 1968. *L'analyse pollinique des miels*, in *Traité biologique de l'abeille*, Tome 3. Édition Masson de Cie, Paris. 324-361 p.

Louveaux. J., 1970. Atlas photographique d'analyse pollinique des miels. Tome III. Des annexes microphotographiques aux méthodes officielles d'analyse. Service de la répression des fraudes et du contrôle de la qualité, 24 p.

Lobreau-Callen. D et Marie-Claude. C., 2001. Les miels, Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire, 20 p.

Lquet. L., 2010. Du nectar a un miel de qualite: Contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, thèse docteur vétérinaire, l'université Claude Bernard- lyoni, 194 p.

Marchenay. P, et Berard. L., 2007. *L'homme, l'abeille et le miel*. Paris, De Borée, 223 p.

Mclure. J W., 1979. Biochemistry of plant phenolics. Swain T, Harbone J B. Van Sumere C F, plenum press, New York, 525 p.

Meda A., Lamien C. E., Marco R. et al., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91, Issue 3. 571-577 p.

Meddleton. E, Kardasnam J C., 1993. The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London, 617-652 p.

Medic Sanic. M, jasprica. I, SmolcicBubalo A et Mornar A., 2004. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croaticachemicaacta*. 361-366 p.

Merah. M, Bensaci. M, Bachagha et Boudershem. A., 2010. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltes du territoire algérien. *Annales des sciences et technologie* vol. 2. Issue 2.

Millet. J., 2006. Matières premières produites par l'abeille. In *Actifs et additifs en cosmétologie*, Paris, Lavoisier. 335-363 p.

Oudjet. k., 2012. Le miel: Une Denrée à Promouvoir. *Etudes et Enquêtes*. Cacce.

Pesenti Marion E, Spinelli S, Bezirard V, Briand Lïc , Pernollet J, Tegoni M, Cambillau C., 2008. Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change .*Journal of Molecular Biology*, Vol 380, Issue 1, 158-169 p.

Pham-Delegue M.-H., 1999. *Les abeilles*. Genève, Minerva, 206 p.

Psotova J, Lasovsky J et Vicar J., 2003. Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed. Papers* 174-153 p.

Ribereau G P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

Rossant A., 2011. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes ruche, in *Traité de biologie de l'abeille*. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.

Rossant., 2011. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 132 p.

Sanz et al., 2005. In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides, *J Agric Food Chem*.

Zappala M., Fallico B., Arena E. and Verzera A(2005). Methods for the determination of HMF in honey : a comparison . *Food Control*, 16: 273-277.

Références électroniques

Alain Guilleux. <http://alain.guilleux.free.fr/>. (Consulté le 16. 04. 2017).

Dodin A., Blanchet C., 2009. L'apithérapie (en ligne). Disponible sur: www.passeportsante.net/fr/Therapies/Guide/Fiche.aspx?doc=apitherapie_th
(Consulté le 28.03.2017).

Donadieu Y., 2001-2008. *Miel* ([en ligne]). Disponible sur: www.01sante.com (consulté le 28.03.2017).

<http://fr.wikipedia.org/wiki> (consulté le 16 .05. 2017).

Huchet E., Coustel J., Guinot L., 1996. *Les constituants du miel* [en ligne]. Disponible sur : www.beekeeping.com/articles/fr/chimie_miel.htm (consulté le 28.01.2017)

Miraglio A. M., 2003. *Honey-Health and therapeutic qualities* (en ligne).

Disponible sur: <http://www.biologiq.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf>
(consulté le 28.03.2017).

The University of Manchester., 6 Feb, 2016. Honey's potential to save lives by destroying harmful fungus. Disponible sur: <https://blog.santelog.com/2016/02/10/plaies-chroniques-le-miel-se-revele-aussi-un-super-antifongique-manchester-university-news/in> in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93(consulté le: 19. 05. 2017).

Annexes

1. Préparation de réactif de Mayer

Le réactif de Mayer est préparé comme suit

Chlorure mercurique	1,35 g ;
Iodure de potassium.....	5 g ;
Eau distillée	30 ml

2. Préparation de bouillon des bactéries (pour 1 litre)

Compositions

Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1L
pH	7,4 à 25°C

après addition de chaque composés il faut compléter à 1 litres

-Détection des flavonoïdes et polyphénols :

Matériels et réactifs :

- Miel d'Algérie
- Eau distillé
- Béchers
- Tubes à essai
- éprouvette graduée
- Hcl concentré
- FeCl₃
- Ethanol
- Méthanol
- Acide acétique
- Chloroforme (CHCl₃)
- Acide sulfurique (H₂SO₄)
- Copeaux de magnésium

Protocole :

1. Criblage des flavonoïdes :

- mettre 2 ml d'extrait aqueuse à 10 % dans un tube à essai
- ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (4ml etOH + 1ml Hcl concentré)
- ajouter 2-3 copeaux de magnésium

2. Criblage des tanins :

- mettre l'extrait aqueux à 10 % dans un tube à essai (miel+ eau distillé)
- ajouter le chlorure ferrique (FeCl_3) à 5%

3. Criblage des alcaloïdes :

- mettre 2ml d'une solution d'extrait à 10% dans l'eau distillé
- ajouter une goutte de Hcl concentré

4. Criblage des stéroïdes :

- 5ml de miel extrait avec 70% d'éthanol (l'éthanol s'évapore)
- ajouté 1ml de CHCl_3

*Le filtrat est divisé en deux tubes à essai et ajouter :

-Dans le premier tube : 1ml de solution acétique

- 1ml de H_2SO_4

-Dans le deuxième tube : 1ml de H_2SO_4

Etude phytochimiques comparative entre le miel introduit et le miel d'origine Algérienne. Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique du miel.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Résumé :

Le miel est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel. On peut cependant déjà citer: le pH acide (constituant un milieu défavorable à la prolifération bactérienne), le peroxyde d'hydrogène (libéré de façon lente et prolongée au sein du miel), les facteurs phytochimiques (les polyphénols), comme défensive (petit peptide possédant un large spectre antimicrobien) et aussi c'est un produit très déshydraté empêchant ainsi toute prolifération microbienne.

Notre travail montre une richesse en composés secondaires respectivement en tanins, en flavonoïdes, et alcaloïdes avec une supériorité observés au niveau du miel d'importation. Cependant l'étude biologique montre une sensibilité plus marquée chez l'espèce *Escherichia. Coli* avec une zone d'inhibition de 11mm et une sensibilité pour *Rhizopus stolonifer* avec la même zone d'inhibition.

Mots clés : Miel, antibactérien, antifongique, CCM, pH, conductivité électrique

Jury d'évaluation :

Président du jury:	CHIBANI Salih	M.C.A- Constantine1
Examineur:	Mme. Labbani Zelikha	Pr – UFM Constantine 1
Examineur:	Kbaili Zoubeir	M.A.A- Constantine1

Date de soutenance : 18/06/2017

