

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES



Faculté de Technologie

Thèse de Doctorat

Présentée par :

HADERBACHE Latifa

En vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT en Sciences en :**

Filière : Génie des procédés

Option : Technologie alimentaire

TITRE

**CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS ET
RECHERCHE DES POLLUANTS**

Devant le jury composé de :

Mr. NOURI L'hadi	Professeur	UMBB	Président
Mr. BOUCHEFFA Youcef	Professeur	USTHB	Examineur
Mme TAZKA Hamida	Maître de recherche	INRAA	Examineur
Mr. MOHAMMEDI Arezki	Professeur	UMBB	Directeur de thèse

Année Universitaire 2020/2021

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur MOHAMMEDI Arezki, Professeur à l'Université M'hamed Bougara, qui m'a encadré tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions. Je tiens aussi à saluer toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse de doctorat. J'espère trouver les mots nécessaires qui vont traduire toute ma gratitude.

Je remercie pour leur précieuse aide, Mme BOUCHEFFA Asma (anciennement Ingénieur Responsable du laboratoire analyse des miels à l'ITELV) et le directeur de la coopérative apicole des Isser Mr DJEMAATEN Ali pour sa précieuse collaboration.

Mr NOUANI, Mr NOURI, Mme YELLES et Mme OUSLIMANI enseignants au département Génie des procédés pour leur soutien incondicional, ainsi que pour leur présence et leurs encouragements.

Sans oublier l'apport de, Mme IZEBOUDJEN karima et BENDAR Saida de la section production animale et le bureau de contrôle aux frontières du ministère de l'agriculture pour les données sur la production nationale et l'importation du miel, ainsi que le personnel de l'ONS pour les données sur la démographie ainsi que Mme BOUKAZOUHA Assia de la Direction de la normalisation de l'IANOR.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide des apiculteurs algériens qui nous ont fournis les miels, nous remercions aussi les laboratoires du département de technologie alimentaire (ex FSI, UMBB) ainsi que le personnel du laboratoire de recherche LRTA chapoté par Pr. LOUHAB krim.

Mr MANSOURI Abdelhak professeur associé à l'Institute of Food, Nutrition and Health de l'ETH Zürich pour ses précieux conseils et pour le EndNote.

L'équipe toute entière du laboratoire des produits naturels de l'Institut Agronomique de Chania (île de Crète, Grèce), spécialement LOUPASSAKI Sofia et GOTSIOU panagiota, avec une pensée de paix pour Mr KEFALAS Panagiotis ainsi que pour son ami PETRAKIS Christos.

Je remercie Mme ANNOU Saada (microbiologiste, DTA, FSI, UMBB) pour sa collaboration, mes collègues enseignants ainsi que le personnel du Centre de recherche et de développement (SAIDAL), et du laboratoire de la répression des fraudes El Harrach.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Pr. BOUCHEFFA Youcef d'avoir accepté de faire la première lecture de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma famille. Pour commencer, je remercie mon père qui m'a donné le goût de la lecture et de la réflexion. Je remercie ma mère pour m'avoir transmis sa ténacité et sa persévérance, deux caractéristiques qui m'ont beaucoup aidé dans la vie. Je n'oublie pas mes sœurs salima, mounira, safâ, sawsen, hadjer, sara, bouchra, badra, kenza, karima, fahima, sabrina, nadia et hafidha mes neveux et nièces, mes beaux-frères, mes oncles et tantes qui m'ont toujours soutenu et qui m'ont encouragé durant ces longues années d'études.

Pour finir, mes remerciements les plus sincères s'adressent aux membres du jury qui ont bien voulu partager ici le fruit de mes efforts.

DEDICACES

Je dédie ce travail à ma grand-mère qui a fait de moi ce que je suis.

A tous mes amis (es) qui ont renforcé ma confiance pendant ce long voyage.

A la mémoire de Mohamed Sadek Houhou et Abdelouahab Nouani.

Aux apiculteurs algériens pour leur signifier mon engagement sincère

A mes parents

A une génération

A un futur meilleur.

LISTE DES ABREVIATIONS

AAM : Activité antimicrobienne

AAR : Activité anti-radicalaire

AFSSA : Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments

AL : Acidité Libre

ANN : Artificial Neural Network

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

BNEDER : Bureau National d'Etudes pour le Développement Rural

CARI : Centre Apicole de Recherche et d'Information (association belge)

CE : Conductivité électrique

CEI : Convention Internationale de l'Eclairage.

CEI $L^*C_{ab}^*h_{ab}^{\circ}$: L'espace des couleurs $L^*c^*h^*$ de la Commission International de l'Eclairage

CG : Charge glycémique

CPG : Chromatographie en Phase Gaz

DA : Dinar algérien.

DH : Dirham marocain

DLUO : Date limite d'utilisation optimale

DN : Diastase number

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl

DSCSHA : Sous-direction du Contrôle Sanitaire et de l'Hygiène Alimentaire

DSV : Direction des Services Vétérinaires

FAO : Food and Agriculture Organisation (United Nations).

FID : Flamme ionisation detection

FNDIA : Fond National de Développement de l'Investissement Agricole

GP : Grains de pollen énumérés

HMF : Hydroxyméthylfurfural

HPAEC-PAD: High Performance Anion Exchange chromatography-Pulsed Amperometric Detection.

HPLC: High performance liquid chromatography

ICBB : International commission for bee botany

IG : Indice glycémique

IHC : International Honey Commission
IM : Indicateurs de mielat
INCA : Enquête individuelle et nationale de consommation des aliments
INS : Institut National des Statistiques (Tunisie)
IR : Indice de réfraction
JORA : Journal officiel de la république algérienne
kg/an/hab : Kilogramme par an et par habitant
KMO : Kaiser-Meyer-Olkin (Test d'adéquation statistique)
LDA : Linear discriminant analysis
M\$: Million de dollar
MADR : Ministère de l'agriculture et du développement rural
MF : Multifloral
MFCJ : Multifloral contenant du jujubier
MS : Matière sèche
Mt : Million de tonne
ONS : Office National des Statistiques.
PC : Principal component
ACP : Principal component analysis (analyse en composante principale- ACP)
PLS : Partial least squares
PNDA : Plan National de Développement Agricole
PNDRA : Plan National de Développement Rural et Agricole
Raman-TF : Raman à transformée de Fourier.
RFIG : Crédit fédératif octroyé par la BADR
RMN : Résonance magnétique nucléaire
SD : Standard deviation (Ecart type)
SIMCA : Soft independent modeling of class analogy
SPSS : Statistical package for social science
SVM : Support vector machines
TACO : Table of Food Composition
TF : Toutes fleurs
UFC : Unité formant colonie
USDA : United States Department of Agriculture

SUPPORT ELECTRONIQUE UTILISE POUR L'ANALYSE DES DONNEES

EndNote. 5 (Gestionnaire des références bibliographiques)

Microsoft Access 2007/2010

Microsoft Excel 2007/2010

SPSS.17 (Analyse statistique)

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : MONTANTS DE SOUTIEN DU FNDIA POUR LES APICULTEURS ALGERIENS	11
TABLEAU 2 : COMPOSITION EN VITAMINES ET EN MINERAUX DANS LES MIELS ET BESOINS JOURNALIERS DE L'HOMME SELON LA TRANCHE D'AGE.....	17
TABLEAU 3 : COMPOSITION EN NUTRIMENTS ET VALEUR ENERGETIQUE DU MIEL SELON LES TABLES DE COMPOSITION DES ALIMENTS DE L'USDA ET LE TACO	22
TABLEAU 4 : CRITERES DE QUALITE DES MIELS.	23
TABLEAU 5 : COMPOSITION COMPAREE EN SUCRES DU NECTAR ET DU MIEL.....	27
TABLEAU 6 : NIVEAUX RELATIFS D'ABONDANCE ET FREQUENCES RELATIVES DES POLLENS DE DIFFERENTS MIELS D'ORIGINES FLORALES DIFFERENTES.....	31
TABLEAU 7 : L'ACTION DE LA TEMPERATURE SUR LES ENZYMES	40
TABLEAU 8 : TEMPS MIS PAR DES MIELS POUR ATTEINDRE 40 MG/KG	41
TABLEAU 9 : VALEURS DES INDICES DE KAISER-MEYER-OLKIN (KMO) POUR L'APPLICABILITE DE L'ACP.	68
TABLEAU 10 : DONNEES SUR LA PRODUCTION ET LA CONSOMMATION DE MIEL DANS L'UNION EUROPEENNE (MOYENNE 2000/2005)	77
TABLEAU 11 : DESCRIPTION GENERALE DES ECHANTILLONS DE MIELS IMPORTES ETUDIES.	83
TABLEAU 12 : DESCRIPTION SENSORIELLE ET EXEMPLES DE DEFAUTS D'APPARENCE DE QUELQUES MIELS IMPORTES.....	85
TABLEAU 13 : RESULTATS DES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET POLLINIQUE DES MIELS D'IMPORTATION ETUDIES.....	88
TABLEAU 14 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES MIELS SELON L'ORIGINE FLORALE (FACTEUR PRINCIPAL).	93
TABLEAU 15 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES MIELS SELON LE FACTEUR REGION (FACTEUR SECONDAIRE).	97
TABLEAU 16 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES MIELS SELON LE FACTEUR SAISON (FACTEUR TERTIAIRE).....	97
TABLEAU 17 : CORRELATIONS BINAIRES ENTRE LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DES ECHANTILLONS DE MIEL.....	102
TABLEAU 18 : IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS DE MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE ET RESULTATS DE L'ANALYSE POLLINIQUE.	110
TABLEAU 19 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CRITERES DE QUALITE DES MIELS, CLASSES PAR ORIGINE BOTANIQUE	116
TABLEAU 20 : PROFIL EN SUCRE DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE	116
TABLEAU 21 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CRITERES DE CARACTERISATION DES MIELS, CLASSES PAR LEUR ORIGINE BOTANIQUE	118
TABLEAU 22 : COMPOSITION EN MINERAUX DES MIELS DE JUJUBIER OU CONTENANT DU JUJUBIER EN PPM.	124
TABLEAU 23 : MATRICE DE CORRELATION ENTRE LES DIFFERENTS PARAMETRES DE CARACTERISATION.	126
TABLEAU 24 : IDENTIFICATION, CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES ET COMPOSITION PHENOLIQUE DES ECHANTILLONS ETUDIES POUR L'ACTIVITE ANTI-MICROBIENNE.....	132
TABLEAU 25 : DONNEES BRUTES ET GROUPEES DES DIAMETRES D'INHIBITION EN MM DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE.	135
TABLEAU 26 : POURCENTAGE D'INHIBITION RELATIF DES FRACTIONS DES ECHANTILLONS DE MIEL ETUDIES.....	137
TABLEAU 27 : CORRELATIONS ENTRE L'AAM CONTRE <i>E. COLI</i> ET LES PARAMETRES DE COMPOSITION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE.	138
TABLEAU 28 : CONTRIBUTION DES DIFFERENTS PARAMETRES DANS L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES MIELS ETUDIES.	140

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : EVOLUTION DE LA PRODUCTION MONDIALE DE MIEL.....	6
FIGURE 2 : MARCHE MONDIAL DU MIEL	7
FIGURE 3 : EVOLUTION DE LA PRODUCTION DE MIEL EN ALGERIE DE 1990 A 2019	10
FIGURE 4 : IMPORTATION DES MIELS EN ALGERIE ENTRE 2006 ET 2010.....	10
FIGURE 5 : EVOLUTION RELATIVE DES PRIX DES MIELS EN ALGERIE ENTRE 1996 ET 2019 COMPAREE A L'EVOLUTION DE LA PRODUCTION	11
FIGURE 6 : CHIFFRES SUR LA QUANTITE DE MIEL EN CIRCULATION, L'IMPORTATION (EN KG) ET LE NOMBRE DE RUCHES DES PAYS DU MAGHREB (2010).	12
FIGURE 7 : EVOLUTION DE LA COMPOSITION DU NECTAR EN MIEL.....	15
FIGURE 8 : IMAGES DE LEVURES (HAUT) ET D'INDICATEURS DE MIELLATS SOUS MICROSCOPE (BAS).....	19
FIGURE 9 : ROUE DES ODEURS ET DES AROMES DES MIELS	34
FIGURE 10 : REPRESENTATION GRAPHIQUE D'UNE ANALYSE SENSORIELLE QUANTITATIVE D'UN MIEL.....	35
FIGURE 11 : PRINCIPAUX FURANES ET FURFURALS PRODUITS PAR LA REACTION DE MAILLARD.....	42
FIGURE 12 : SCHEMA DE PREPARATION DU POLLEN DU MIEL POUR L'ANALYSE MELISSOPALYNOLOGIQUE (MONTAGE ENTRE LAME ET LAMELLE)	56

FIGURE 13 : SCHEMA DU FRACTIONNEMENT DU MIEL POUR LE TEST DE L'AAM DES FRACTIONS.	66
FIGURE 14: REPARTITION DE LA POPULATION SONDEE PAR TRANCHE D'AGE (A) ET LE GENRE (B)	72
FIGURE 15 : REPARTITION DE LA POPULATION SONDEE PAR CATEGORIE DE CONSOMMATION (A) ET PAR MOTIFS DE CONSOMMATION (B).	73
FIGURE 16 : ANALYSE DES DONNEES DE L'ENQUETE SUR LA CONSOMMATION DE MIEL EN ALGERIE.	75
FIGURE 17 : PRESENTATION DES ECHANTILLONS DE MIEL IMPORTES.....	81
FIGURE 18 : ECHANTILLON (GAUCHE) EMBALLE DANS UN POT EN PLASTIQUE ET UN AUTRE (DROITE) DANS UN FUT METALLIQUE. 81	
FIGURE 19 : DEFAUTS APPARENTS DE CRISTALLISATION, A GAUCHE : SEPARATION DES PHASES, A DROITE : MARBRURES ET CRISTALLISATION HETEROGENE).	84
FIGURE 20 : AIRE GEOGRAPHIQUE DE L'ECHANTILLONNAGE DES MIELS SUJETS DE L'ETUDE	91
FIGURE 21 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES (H, PH, AL, CE, COULEUR, AGE) DES ECHANTILLONS DE MIELS ETUDIES (HISTOGRAMMES DES FREQUENCES PAR CLASSE).	94
FIGURE 22 : STATISTIQUES DESCRIPTIVES (PROLINE, HMF, ROTATION SPECIFIQUE) DES ECHANTILLONS DE MIELS ETUDIES (HISTOGRAMMES DES FREQUENCES PAR CLASSE).	95
FIGURE 23 : LES TROIS COMPOSANTES PRINCIPALES DE L'ANALYSE DE LA VARIANCE DES ECHANTILLONS DE MIEL ETUDIES.	105
FIGURE 24 : PHOTOS DE LA PLANTE DE ZIZIPHUS LOTUS.	109
FIGURE 25 : PHOTOS DU POLLEN DU JUJUBIER ($\times 10^4$).	109
FIGURE 26 : PHOTOS DE LA PLANTE D'EUPHORBIA BUPLEUROÏDES.	109
FIGURE 27 : PHOTOS DU POLLEN D'EUPHORBE ($\times 10^4$).....	109
FIGURE 28 : CLASSIFICATION DES MIELS ETUDIES PAR LA METHODE DES DENDROGRAMMES (TOUS LES ECHANTILLONS/GAUCHE, LES MIELS SUPPOSES D'EUPHORBIA SPP. /DROITE).....	111
FIGURE 29 : SPECTRE POLLINIQUE GLOBAL DES MIELS DE JUJUBIER ETUDIES (DIFFERENTES REGIONS)	112
FIGURE 30 : SPECTRE POLLINIQUE GLOBAL DES MIELS D'EUPHORBE ETUDIES (REGION D'EL BAYADH)	113
FIGURE 31 : REPRESENTATION EN BOX PLOTS.....	119
FIGURE 32 : PROFIL EN SUCRES DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE.	121
FIGURE 33 : POURCENTAGES D'INHIBITION DES MIELS ENTIERS.	136

SOMMAIRE

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE	1
--	----------

Partie Bibliographique

Chapitre I: Généralités

I.1 SITUATION DE LA FILIERE APICOLE DANS LE MONDE	6
--	----------

I.2 SITUATION DE LA FILIERE APICOLE EN ALGERIE.....	8
--	----------

I.3 SITUATION DE LA FILIERE APICOLE DANS LES PAYS DU MAGHREB	12
---	-----------

Chapitre II: Le miel

II.1. DEFINITION ET COMPOSITION DU MIEL	13
--	-----------

II.1.1 HYDRATES DE CARBONES (SUCRES)	13
--	----

II.1.2 PROTEINES, ACIDES AMINES ET ENZYMES	15
--	----

II.1.3 VITAMINES ET MINERAUX	16
------------------------------------	----

II.1.4 MOLECULES SENSORIELLEMENT ET BIOLOGIQUEMENT ACTIVES.....	17
---	----

II.1.5 ELEMENT FIGURES, BACTERIES ET LEVURES	19
--	----

II.1.6 VALEUR ALIMENTAIRE, NUTRITIONNELLE ET APPORT ENERGETIQUE	20
---	----

II.2. VARIABILITE DE LA COMPOSITION DES MIELS	22
--	-----------

II.2.1. ORIGINE DU MIEL : SEVE, NECTAR ET MIELLATS.....	23
---	----

II.2.1.1 La sève.....	24
-----------------------	----

II.2.1.2 Le nectar.....	24
-------------------------	----

II.2.1.3 Les miellats.....	28
----------------------------	----

II.2.2 TRAVAIL DU MIEL PAR LES ABEILLES : TRANSFORMATION ET ENRICHISSEMENT	28
--	----

II.3. AUTHENTIFICATION DES MIELS	29
---	-----------

II.3.1 ANALYSE POLLINIQUE.....	30
--------------------------------	----

II.3.2 ANALYSE SENSORIELLE	32
----------------------------------	----

II.3.3. PROFIL PHYSICO-CHIMIQUE	35
---------------------------------------	----

II.3.3.1 Couleur.....	35
-----------------------	----

II.3.3.2 Pouvoir rotatoire spécifique	36
---	----

II.3.3.3 Conductivité électrique.....	37
---------------------------------------	----

II.3.3.4 Analyse des carbohydrates.....	37
---	----

II.3.3.5 pH et l'acidité	39
--------------------------------	----

II.3.3.6 Proline	39
------------------------	----

II.3.3.7 Diastase et invertase	39
--------------------------------------	----

II.3.3.8 Humidité.....	40
------------------------	----

II.3.3.9 HMF (5-HydroxyMéthyleFurfural).....	41
--	----

II.3.4 CHIMIOMETRIE	43
---------------------------	----

II.4. PROPRIETES THERAPEUTIQUES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DU MIEL	44
---	-----------

II.4.1 MIEL ET DIABETE	44
------------------------------	----

II.4.2 MIEL, OBESITE ET ALIMENTATION INFANTILE.....	45
---	----

II.4.3 ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET SANTE HUMAINE	45
--	----

II.4.4 MIEL ET ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE	46
--	----

II.4.5 MIEL, ACTIVITE ANTIMUTAGENE ET ANTI-TUMORALE	47
---	----

II.4.6 MIEL, EFFET IMMUNO-ACTIVATEUR ET IMMUNO-SUPRESSEUR	47
---	----

II.4.7 MIEL, EFFET PREBIOTIQUE ET PROBIOTIQUE.....	47
--	----

II.5. RECHERCHE DES POLLUANTS DANS LE MIEL	48
---	-----------

II.5.1 LE MIEL ET LA CONTAMINATION RADIOACTIVE	48
--	----

II.5.2 LE MIEL ET LA CONTAMINATION AUX METAUX LOURDS	49
--	----

II.5.3 LE MIEL ET LA CONTAMINATION PAR LES PESTICIDES	50
---	----

II.5.4 LE MIEL ET LES AUTRES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX.....	51
--	----

II.5.5 LE MIEL ET LES MAUVAISES PRATIQUES APICOLES	51
--	----

II.6 REVUE DES TRAVAUX NATIONAUX SUR LA QUALITE DES MIELS	52
--	-----------

Partie expérimentale
Chapitre III: Matériels et Méthodes

III.1 COLLECTE ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS DE MIELS	55
III.2. ANALYSE MELISSOPALYNOLOGIQUE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE.....	55
III.2.1 PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON	55
III.2.2 ANALYSE MELISSOPALYNOLOGIQUE (MONTAGE WOODHOUSE).....	56
III.3. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUE	57
III.3.1 TENEUR EN EAU	58
III.3.2 PH ET ACIDITE LIBRE (AL)	58
III.3.3 CONDUCTIVITE ELECTRIQUE (CE).....	59
III.3.4 POUVOIR ROTATOIRE SPECIFIQUE $[A]_D^{20}$	59
III.3.5 HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF)	60
III.3.6 TAUX DE PROLINE	60
III.3.7 L'ACTIVITE DE LA DIASTASE (DN)	61
III.3.8 MESURE DE L'INDICE DE COULEUR DES MIELS.....	62
III.4 QUANTIFICATION DES POLYPHENOLS TOTAUX ET DES FLAVONOÏDES.....	63
III.5 MESURE DE L'ACTIVITE ANTI-RADICALAIRE	63
III.6 PROFIL EN SUCRES PAR HPLC.....	64
III.7 EVALUATION GLOBALE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE (AAM).....	64
III.7.1 METHODE DES PUIITS	64
III.7.2 FRACTIONNEMENT ET ESTIMATION DE L'AAM PAR LE TEST DE TURBIDITE	65
III.7.3 ÉVALUATION DE L'EFFET DE L'OSMOLARITE, DU PH ET DE LA CONTRIBUTION DE H ₂ O ₂ DANS L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE.	66
III.7.4 EFFET BACTERICIDE ET BACTERIOSTATIQUE	67
III.8 ANALYSE DU PROFIL EN MINERAUX PAR SAA.....	67
III.9 ANALYSES STATISTIQUES.....	67

Résultats et discussions

Chapitre IV: Comportement de Consommation et qualité des miels d'importation

IV.1. COMPORTEMENT DE CONSOMMATION DU MIEL EN ALGERIE.....	70
IV.1.1 LES FAITS SAILLANTS DE L'ENQUETE	73
IV.1.2 ESTIMATION DE LA CONSOMMATION ET ETUDE DE COMPARAISON	76
IV.1.3 CONCLUSION.....	78
IV.2. QUALITE DES MIELS D'IMPORTATION MIS SUR LES ETALAGES EN ALGERIE.....	79
IV.2.1. RESULTATS ET DISCUSSIONS	80
IV.2.1.1 Conformité commerciale et légale	81
IV.2.1.2 Conformité organoleptique	84
IV.2.1.3 Conformité de l'origine florale	86
IV.2.1.4 Conformité de la qualité physico-chimique	86
IV.2.2 CONCLUSION.....	89

Chapitre V: Caractérisation des miels algériens

V.1 CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES MIELS ALGERIENS : EVALUATION DE LA QUALITE GLOBALE.....	90
V.1.1 ECHANTILLONNAGE ET ECHANTILLONS	91
V.1.2 DESCRIPTION GLOBALE DE L'ÉCHANTILLON ET EVALUATION DE LA QUALITE	92
V.1.3 FACTEUR ORIGINE FLORALE	98
V.1.4 FACTEURS REGION ET SAISON.....	100
V.2 CHOIX DES FACTEURS DE DISCRIMINATION.....	101

V.3 CONTRIBUTION DES DIFFERENTS CRITERES DANS LA DISCRIMINATION ENTRE LES ECHANTILLONS.....	102
V.4 CONCLUSION	104

Chapitre VI: Caractérisation des miels de jujubier et d'euphorbe

VI. CARACTERISATION DES MIELS DES REGIONS SEMI-ARIDES D'ALGERIE, CAS DE ZIZIPHUS LOTUS L. ET D'EUPHORBIA BUPLEUROÏDES L.	106
---	-----

VI.1. SPECTRE POLLINIQUE, PHYSICOCHIMIE, COMPOSITION PHENOLIQUES ET POUVOIR ANTIOXYDANT	106
---	-----

VI.1.1 IDENTIFICATION DE L'ORIGINE FLORALE ET DU PROFIL POLLINIQUE DES MIELS.....	108
VI.1.2 RESULTATS DE L'ÉVALUATION DE LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE.....	114
VI.1.3 ÉVALUATION DES PARAMETRES DE COMPOSITION	117
VI.1.4 COMPOSITION PHENOLIQUE GLOBALE.....	121
VI.1.5 COMPOSITION DE LA FRACTION MINERALE DES MIELS DE JUJUBIER	122
VI.1.5 ÉTUDE DES CORRELATIONS	125
VI.1.6 CONCLUSION.....	127

VI.2. ÉVALUATION IN VITRO DU POUVOIR ANTIMICROBIEN.....	129
---	-----

VI.2.1. DESCRIPTION DES ECHANTILLONS ET DU MATERIEL BIOLOGIQUE	130
VI.2.2 CONFIRMATION DE L'ORIGINE FLORALE ET ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	131
VI.2.3 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE GLOBALE	133
VI.2.4 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES DIFFERENTES FRACTIONS DU MIEL	134
VI.2.5 CORRELATION ENTRE AAM ET TAUX DE POLYPHENOLS, DE FLAVONOÏDES, AL ET DN.....	137
VI.2.6 CONTRIBUTION DE L'OSMOLARITE, DU PH, DU H ₂ O ₂ DANS L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	138
VI.2.7 CONCLUSION	141

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	142
---	-----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
-----------------------------------	--

Annexes

ANNEXE I : QUESTIONNAIRE SUR LA CONSOMMATION DU MIEL EN ALGERIE	I
ANNEXE II : PONDERATION DE LA POPULATION DES WILAYAT (DONNEES 1998, ONS) ...	III
ANNEXE III : TABLE DE CHATAWAY / TABLE DE CORRESPONDANCE IR – TENEUR EN EAU.	IV
ANNEXE IV : TABLEAU DE CORRESPONDANCE DE LA COULEUR LOVIBAND/ PFUND.....	V
ANNEXE V : COURBES D'ÉTALONNAGE ACIDE GALLIQUE ET QUERCITINE	VI
ANNEXE VI : TABLES DE L'ANALYSE ONE WAY ANOVA DES FACTEURS ORIGINE, REGION ET SAISON.....	VII
ANNEXE VII : TESTS DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES MIELS	IX
ANNEXE VIII : CHROMATOGRAMME DES SUCRES STANDARDS	XIII

VALORISATION DE LA THESE
ARTICLE
RESUMES EN TROIS LANGUES

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE

Le miel est un aliment naturel, il est de qualité par essence, la communauté scientifique a réussi, depuis les années 70, à lui donner une définition officielle et complète qui permet de le différencier des autres produits trouvés dans la nature. Cependant devant la complexité de sa composition, la qualité des miels consommés à travers le monde dépend de nombreux facteurs biologiques, climatiques et écologiques. Même si on sait aujourd'hui que l'origine florale donne le plus gros des caractéristiques d'un miel, les conditions de son élaboration restent toujours uniques et de ce fait, c'est à chaque miellée un produit nouveau.

Il est produit par l'abeille à partir des ressources végétales à disposition. En effet, l'abeille mellifère évolue dans pratiquement tous les biotopes, qu'ils soient fermés (forêts, oasis) ou ouverts (plaines, savanes) et sous tous les climats, à l'exception des régions polaires. Elle utilise un nombre important de ressources florales et explore intensivement son environnement. Ce sont ces « miels » tels qu'ils ont été élaborés et travaillés par l'abeille qui sont sensés arriver au consommateur final. Ainsi, toutes les pratiques qui y sont liées ne doivent pas modifier sa composition originelle, ou tout au moins, doivent s'efforcer de préserver le plus possible son intégrité.

Ceci impose la connaissance, le contrôle et la maîtrise d'un certain nombre de facteurs en amont et en aval de la récolte, comme la qualité sanitaire du cheptel, le choix de l'emplacement des ruchers, l'absence de contaminations de toutes sortes, la qualité hygiénique des locaux d'extraction et de conditionnement, les opérations technologiques (filtration, défigeage, refonte, cristallisation dirigée, homogénéisation, etc.) et enfin les conditions de stockage et de conservation. Un miel correctement traité et bien conservé, reste un produit de bonne fraîcheur qui aura gardé l'essentiel de ses qualités organoleptiques et biologiques d'origine, jusqu'en fin de vie.

Même si du point de vue alimentaire, le miel n'est pas considéré comme produit périssable, il reste sujet au vieillissement naturel ou forcé qui se traduit par l'évolution de ses paramètres physico-chimiques, parfois par une fermentation (miels trop humides, trop contaminés, peu propres, mal conditionné, etc.) ou par des changements inappropriés (réactions de brunissement non enzymatiques, caramélisation).

La recherche scientifique a clarifié beaucoup de points sur la composition du miel et tente de répondre, le plus justement possible, aux questions qui tournent autour de sa qualité et de sa composition, mais il est sûr qu'il reste un patrimoine naturel à préserver. Alors que le processus de son élaboration est resté le même depuis la nuit des temps, son environnement a complètement changé, entraînant de nouvelles problématiques. En effet, l'intervention de l'homme pour améliorer, accélérer ou protéger les cultures et les élevages, l'industrialisation et l'urbanisation ont eu et continuent à avoir des impacts sur la nature et par conséquent sur le produit lui-même.

Pour donner au miel sa vraie place, il est important de rappeler son positionnement dans la toile économique globale. En effet, ce produit d'origine animale est le fruit d'une profession « l'apiculture » et qui est une branche indispensable de l'agriculture. Par leur action pollinisatrice, les abeilles fertilisent les plantes à fleurs et améliorent, en quantité et en qualité, leur productivité. Il est admis que l'abeille seule assure plus de 35 % de la sécurité alimentaire mondiale (fruits, légumes, baies, graines, etc)(Vaissière, 2002). Cette action est conjuguée avec la préservation de la biodiversité des plantes spontanées et des équilibres des biotopes. Les insectes pollinisateurs, en général, l'abeille en particulier, jouent le rôle de gardiens des systèmes fragiles ; ils assurent un habitat de qualité à d'autres espèces qui à leur tour améliorent les conditions de vie et de survie(Vaissière, 2002).

L'intérêt économique de ce métier ne réside pas seulement dans le fait qu'il soit créateur d'emplois (éleveurs, artisans menuisiers, fabricant de petit outillage apicole, couturier de tenues apicoles, etc.), mais également générateur de produits nobles, dont le miel, prisés pour leurs bénéfices sur la santé et la forme.

Comme dans tous les pays de la méditerranée, l'élevage des abeilles est propice en Algérie car le climat est particulièrement clément et la végétation variée. L'apiculture y est pratiquée depuis des générations, on peut la qualifier, aujourd'hui, de moderne par rapport au type de ruches utilisées (Langstroth ou Dadant)(Yo et al., 2017) et par rapport à leur nombre. Cependant au regard des techniques modernes mal utilisées et du faible respect des règles de bonne pratiques apicoles, le rendement en miel reste trop faible (estimé entre 8 et 10 kg/ruche) (Behidj et al., 2019).

Pendant des décennies, le secteur apicole est resté à l'état végétatif où la profession se transmettait presque par lègue. La prise en charge de la profession par l'Etat (installation

des coopératives, formations, fédération des producteurs, etc.) parallèlement à l'émergence d'un mouvement de professionnels engagés, d'un niveau de technicité élevé, a fait passer la production de miel à un autre niveau, atteignant près de 7 400 t/an en 2019 (MADR, 2019). Cependant, ceci reste très faible vis-à-vis des quantités produites à l'échelle internationale et par rapport aux potentialités réelles des vastes territoires de notre pays.

Malgré toutes les aides de l'Etat et les efforts fournis pour la relance du secteur apicole, la profession rencontre un certain nombre de problèmes, à l'échelle locale et à l'échelle mondiale, ce qui freine cet élan. En effet, l'absence d'organisation de la filière a engendré un marché informel du miel qui n'est régi par aucune logique commerciale, rendant ce produit trop cher pour les bourses des algériens d'une part, et indisponible d'autre part. Le manque d'études et de réglementation concernant la qualité des miels autorise la circulation de produits médiocres et parfois même insalubres et rend la production nationale invisible à l'échelle locale et mondiale. Pire encore, ceci ouvre la porte aux produits d'importation qui affaiblissent directement le secteur en créant une concurrence directe, surtout que ces miels sont plus visibles, bien présentés, étiquetés et bien moins chers.

L'instabilité de la production a participé, entre autre, à l'apparition de phénomènes réactionnels chez les apiculteurs. Ils ont alors orienté leur activité vers la production d'essaims, ce qui met en danger le cheptel apicole si la qualité des essaims produits n'est pas bonne. Une des conséquences serait la perturbation de la production de miel.

De l'autre côté, se basant souvent sur des préjugés ou des idées reçues, les consommateurs participent à leur insu à encourager les pratiques frauduleuses et non équitables. Ces pratiques consistent en l'apparition de revendeurs de deuxième et de troisième main qui placent les prix du miel à des niveaux dissuasifs et poussent ainsi les apiculteurs à craindre de ne pas écouler leur production s'ils décident de vendre moins cher. Pourtant le marché du miel est loin de l'autosuffisance.

Avec toutes les insuffisances que vit la filière apicole en Algérie, dans un contexte plus global où beaucoup d'informations circulent sur la crise apicole mondiale (apparition de nouvelles pathologies, mortalité croissante des colonies d'abeille, contaminations aux pesticides) et avec l'intensification des échanges commerciaux et la férocité des pratiques pour la conquête des marchés, beaucoup de producteurs algériens sont découragés.

Dans ce contexte, les apiculteurs algériens auront des difficultés, non seulement à conserver les marchés de miel actuels mais aussi à les développer, sauf s'ils adoptent une stratégie bien réfléchie à l'échelle locale (Afrique du Nord, méditerranée). Celle-ci ne pourra être réaliste et bénéfique que si elle se base sur un grand nombre de données réelles et fiables s'étalant dans le temps.

C'est dans cette optique que ce travail s'inscrit; Il vise par ses deux parties (préalables à l'étude et caractérisation) à répondre aux questions suivantes :

- Quelle est la qualité des miels d'importation en circulation en Algérie,
- Quel est le profil du consommateur local,
- Quels miels produit l'Algérie, quelles sont leurs caractéristiques et respectent-ils les normes de qualité du *Codex Alimentarius*,
- Avons-nous des miels qui pourraient être labellisés et sur quels atouts allons-nous se baser pour leur trouver un marché à l'avenir.

Les outils analytiques adoptés étant de plusieurs types :

- L'enquête comme mode de collecte des données.
- L'outil analytique indispensable dans l'identification de l'origine florale, la caractérisation physico-chimique, par le moyen des paramètres les plus parlants du point de vue qualité et l'identification d'indicateurs spécifiques (activité antimicrobienne et anti-oxydante, particularités de composition).
- La chimiométrie pour la classification et l'identification des paramètres analytiques susceptibles d'être utilisés dans la discrimination des types de miels de manière significative.

En seconde intention, nous nous sommes intéressés à deux types de miels des régions semi-arides, à savoir les miels de *Ziziphus lotus L.* et d'*Euphorbia bupleuroides L.*, que nous avons caractérisés d'une manière détaillée et pour lesquels nous avons relevé des particularités par rapport à d'autres miels de même origine florale provenant d'autres pays. À notre connaissance, il n'existe à ce jour aucun travail scientifique conséquent qui porte sur ces deux types de miel, faisant de ce travail une étude originale et une manière de participer à la promotion du produit national.

Cette thèse est présentée sous forme de chapitres. Elle est composée d'une introduction générale, d'une revue de littérature abordant un volet économique situant l'apiculture algérienne dans la région Maghreb et dans le monde (Chapitre I) ainsi qu'un volet sur la chimie du miel et ses propriétés (Chapitre II) ;

La partie expérimentale est composée des chapitres suivants :

Le Chapitre III dédié au matériel et méthodes permettant de répertorier les différentes techniques touchant à l'analyse des miels, le Chapitre IV présentant les préalables de cette thèse consacrés à une enquête de consommation (étude 1) et à la qualité des miels importés (étude 2), dans le Chapitre V la caractérisation des miels algériens est abordée.

Enfin, le Chapitre VI a trait à la Caractérisation des miels de jujubier et d'euphorbe.

Une conclusion générales synthétisera l'ensemble des résultats et présentera quelques recommandations jugées importantes.

La partie recherche des polluants dans le miel, prévue dans le plan de travail (2005), n'a pu être réalisée pour plusieurs raisons dont le manque de moyen pour la réalisation des essais. Une partie bibliographique est néanmoins consacrée à la recherche des polluants.

Partie bibliographique

Ce chapitre aborde l'apiculture algérienne dans son contexte régional et mondial ainsi que les nombreux problèmes qu'elle rencontre et les défis qu'elle doit relever dans le futur.

I.1 Situation de la filière apicole dans le monde

La production mondiale de miel a été estimée à 1,2 Mt (Million de tonne) en 1999 et s'élève à plus de 1,8 Mt en 2019 tel que présenté en figure 1. La Chine passe pour le premier producteur mondial avec 400 000 t/an Phipps (2015); (Sahli, 2014). Cependant, la profession rencontre, ces dernières années, une crise sans précédent due à la disparition des abeilles (pollution, maladies, pesticides agricoles, raréfaction des plantes mellifères, etc.), au climat inhabituel, au découragement des apiculteurs, mais aussi à la pression de la grande distribution, les prix des marchés mondiaux de l'importation et les prix de vente en gros. Cette crise est mondiale et certains pays commencent à en subir les conséquences. C'est le cas de la France, qui est passée de 33 000 t en 1990 à 13 000 t en 2014 (Sahli, 2014).

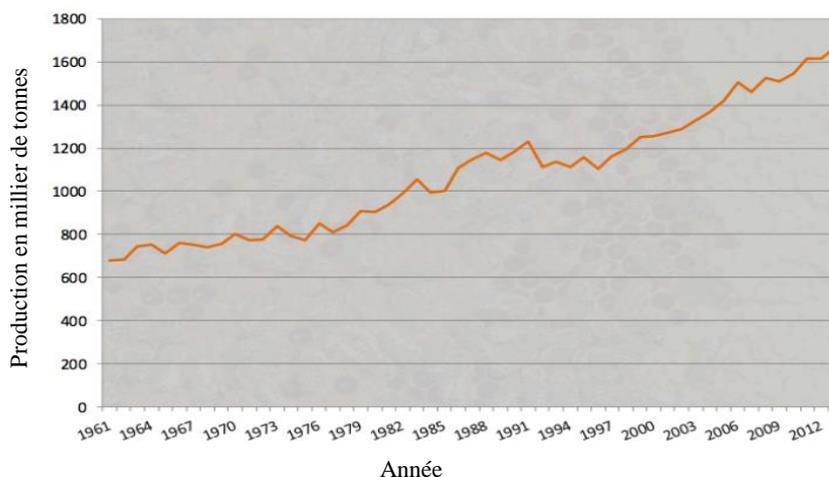


Figure 1 : Evolution de la production mondiale de miel (Bruneau, 2018).

Les plus grands producteurs de miels sur le marché international sont la Chine avec plus de la moitié de la production mondiale en 2015, suivi de la Turquie et de l'Argentine en deuxième et troisième position, puis vient l'Iran, la Russie et l'Ukraine. Mais la consommation de miel croît en Europe occidentale et aux Etats-Unis (figure 2).

En 2004 l'Argentine a exporté 64 000 t de miel vers 34 différents marchés pour un total de 123 M\$. Ses principaux importateurs sont l'Union Européenne, les USA et le

Japon. Malgré une production interne conséquente, la consommation les oblige à ramener des miels de l'étranger (Anonyme 1, 2005).

Mis à part les grands mouvements de miel, il existe beaucoup d'échanges intercommunautaires dont le mouvement des miels allemands, italiens, espagnols et turcs dans l'Union Européenne, le passage du miel du Mexique aux USA et de la Chine au Japon.

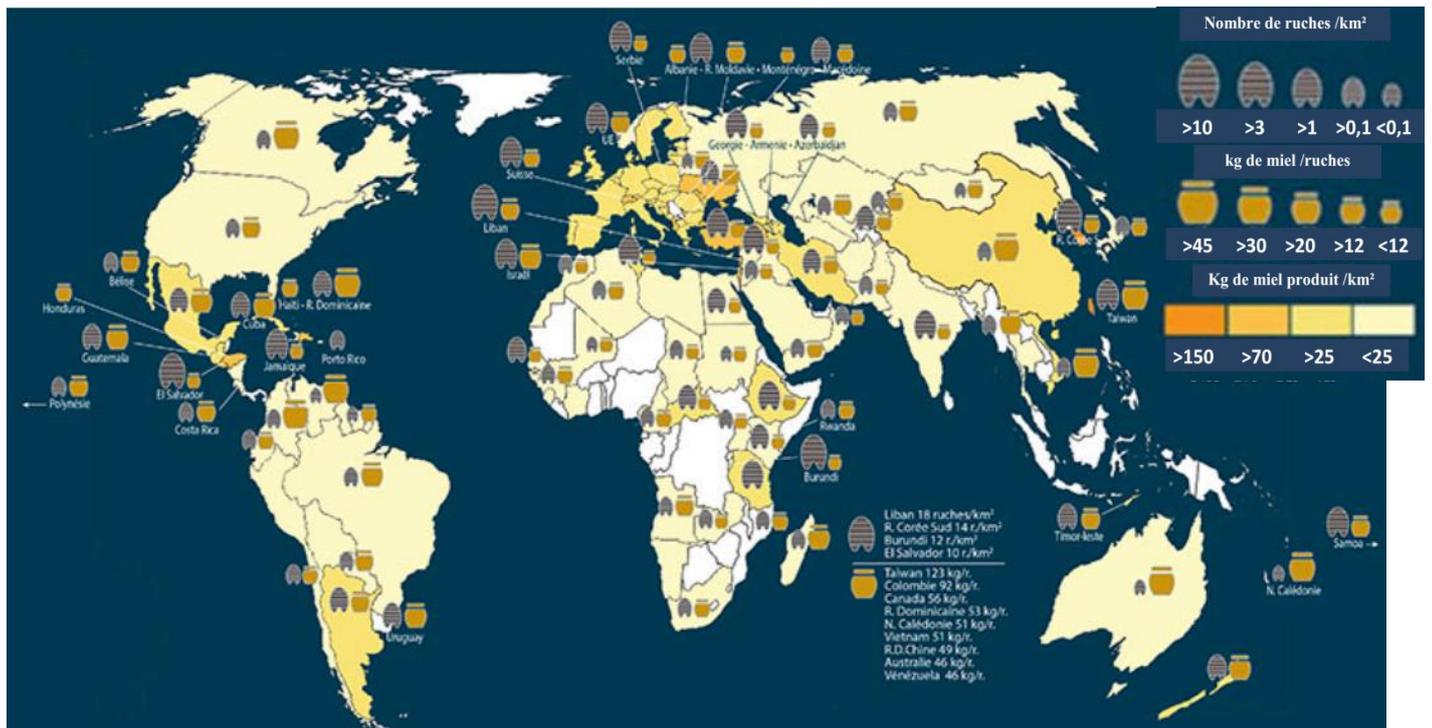


Figure 2 : Marché mondial du miel (Bruneau, 2018).

Les prix des miels se différencient d'une façon importante d'un pays à l'autre. Pour donner une idée, nous prenons le cas du marché américain durant le mois de janvier 2005 pour des volumes de production supérieurs à 5 t, les prix des miels clairs variaient entre 0,8 à 1,5 \$/kg, alors que les miels foncés se vendaient entre 0,50-1,25 \$/kg (Parker, 2005). En mars 2015, les prix ont évolué respectivement vers 2-3 \$/kg pour les premiers et 1,6-2,5 \$/kg pour les seconds (Anonyme 2, 2015; Bruneau, 2018). Cette production étant inférieure à la demande interne, les USA ont importé en 2004, 26 916 t de miel de la Chine qui propose ses miels à moins d'un dollar le kilogramme (Parker, 2005).

Dans les pays industrialisés, la grande distribution exerce des pressions extrêmes sur les prix à l'achat et utilise une logique de quantité qui pousse aux pratiques frauduleuses, et alors que la négociation conduit à la baisse des prix d'achats, les prix de vente restent toujours au même seuil pour le consommateur (Bruneau, 2018).

I.2 Situation de la filière apicole en Algérie

La profession d'apiculteur est pratiquée dans de nombreuses régions de notre pays où la flore mellifère est abondante et variée (la Kabylie, les Aurès, la Mitidja, Mascara, plaine de la Soummam, El Taref) (Venis, 2005). A l'échelle nationale et selon une étude du BNEDER de 2005, la superficie mellifère est évaluée à 471 184 ha avec une prédominance des forêts et des maquis. Les meilleurs rendements en miel ont été enregistrés sur les agrumes et les prairies naturelles, mais depuis, cette superficie a grandement changé à cause de multiples raisons. On peut qualifier la profession de travail de subsistance, exception faite pour les quelques professionnels qui pratiquent la transhumance et qui atteignent des niveaux de production significatifs. En 2000 une ruche produisait 6 à 8 kg de miel. Cette production est estimée aujourd'hui entre 8 et 10 kg (Behidj et al., 2019) ; alors qu'elle devrait donner de 10 à 15 kg si le rucher était bien conduit, bien positionné et qu'il n'y ait pas de phénomène de compétition dans l'aire géographique en question.

Economiquement, il est plus avantageux de produire le miel localement que de l'importer. La rentabilité privée de l'apiculteur est importante dans notre pays, en tenant compte des dépenses nominales et des traitements obligatoires. Son bénéfice brut est estimé à 1 387 900 DA/t alors que les coûts de production s'élèvent à environ 232 000 DA/t (Behidj et al., 2019).

La situation globale de l'organisation du secteur est critique car des 27 coopératives apicoles initialement mises en fonctionnement dans les années 70, il n'en reste que 9 en activité actuellement. La plupart des coopératives étaient en cessation d'activité pour diverses raisons, entre autres aux problèmes financiers, à la perte du cheptel et la diminution dramatique de la flore mellifère. De nombreux directeurs de coopératives signalent la désertion des apiculteurs à la production de miel au profit de la production d'essaims, pas toujours de bonne qualité, ce qui affecte réellement la profession. En outre, l'absence de suivi de l'évolution des essaims octroyés, donne une fausse signification aux statistiques données (Chenane, 2000).

Du point de vue production, l'Algérie n'est pas considérée comme un grand pays producteur de miel. La figure 3 montre l'évolution de cette production pendant les 30 dernières années (MADR, 2019). Cette évolution marque deux phases distinctes :

Chapitre I. GÉNÉRALITÉS

- De 1990 à 2000, la production évoluait en dent de scie autour d'une moyenne de 1 700 t/an avec un minima en 1990 (1 000 t) et un maxima en 1994 (2 800 t).

- De 2001 à 2019, la production est en hausse constante à raison de 277 t/an ($R^2 = 0,910$) pour atteindre le seuil de 6 400 t en 2015 et 7 400 t en 2019 (MADR, 2019). Cette tendance s'explique par les dispositions importantes prises par l'Etat algérien pour promouvoir et développer le secteur apicole, à savoir :

- Le programme FNDIA/PNDRA/PNDA (2000/2001) qui visait la mise en place de soutien matériel pour les citoyens qui veulent entrer dans le secteur (matériel, ruches pleines, création de pépinières, menuiseries, formations, etc.). Dans ce cadre, 250 pépinières apicoles ont été mises en place pour la production d'essaims et de reines et une aide financière de 5 000 DA/ruche a été octroyée aux apiculteurs.

- En 2010/2011 un crédit fédératif (coopératives apicoles/RFIG) et des dons de 10 ruches dans les zones rurales ont été mis en place pour relancer les coopératives et le développement de la profession dans le milieu rural. L'Algérie est passée de 300 000 à 1 200 000 ruches et 18 696 apiculteurs en 2015 (Behidj et al., 2019), ce qui a donné un nouveau souffle au secteur qui possède une grande marge d'évolution vu les potentialités apicoles des territoires et la demande croissante du consommateur algérien qui ne trouve pas les quantités qui lui sont nécessaires dans le marché local.

La Figure 4 montre l'évolution de l'importation des miels et donne un aperçu sur le besoin croissant du consommateur algérien entre 2006 et 2019, compensé par l'importation qui représente une part de 10 à 21 % de la production locale, avec une moyenne de 17 ± 4 %, (pour les années en question). Cependant, on observe que l'importation est en évolution continue, estimée à 106 t par an, ce qui représente un manque à gagner pour les producteurs locaux. L'étude de Behidj et al. (2019) montre que la filière apicole est parmi les filières algériennes les plus menacées par l'ouverture éventuelle au marché européen, du fait que les prix ne soient pas compétitifs.

Mais le marché du miel algérien est loin d'être un marché organisé et l'activité apicole s'y trouve au stade de pratique de subsistance. Ceci se traduit par la faible production par rapport aux moyens à disposition et à l'état des connaissances actuelles. Quant aux prix de vente dans les circuits internes, il n'obéit à aucune règle et n'encourage pas l'achat. Pour donner une idée plus claire, nous prenons l'exemple montré sur la figure 5 représentant

l'évolution relative des prix des miels en Algérie entre 1996 et 2019 (l'année 2001 est prise comme référence).

Les prix de vente ont été relevés au niveau de la coopérative apicole des Isser (wilaya de Boumerdes) (Djemaaten, 2008). L'auteur note que pendant que la production fluctue d'une façon importante (grande instabilité), les prix, quant à eux, restent en continuelle hausse, atteignant aujourd'hui les 3 000 à 4 000 DA/kg en moyenne (sans prise en considération la dévaluation de la monnaie nationale).

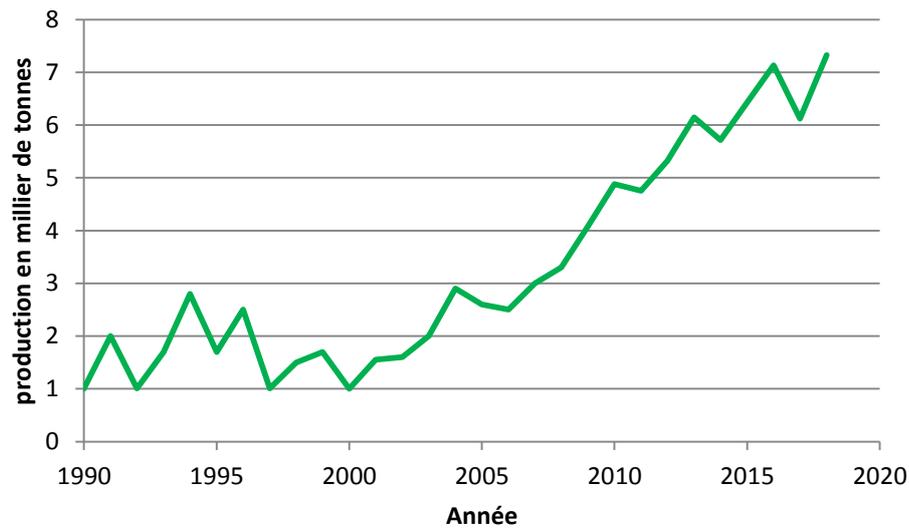


Figure 3 : Evolution de la production de miel en Algérie de 1990 à 2019 (MADR, 2019).

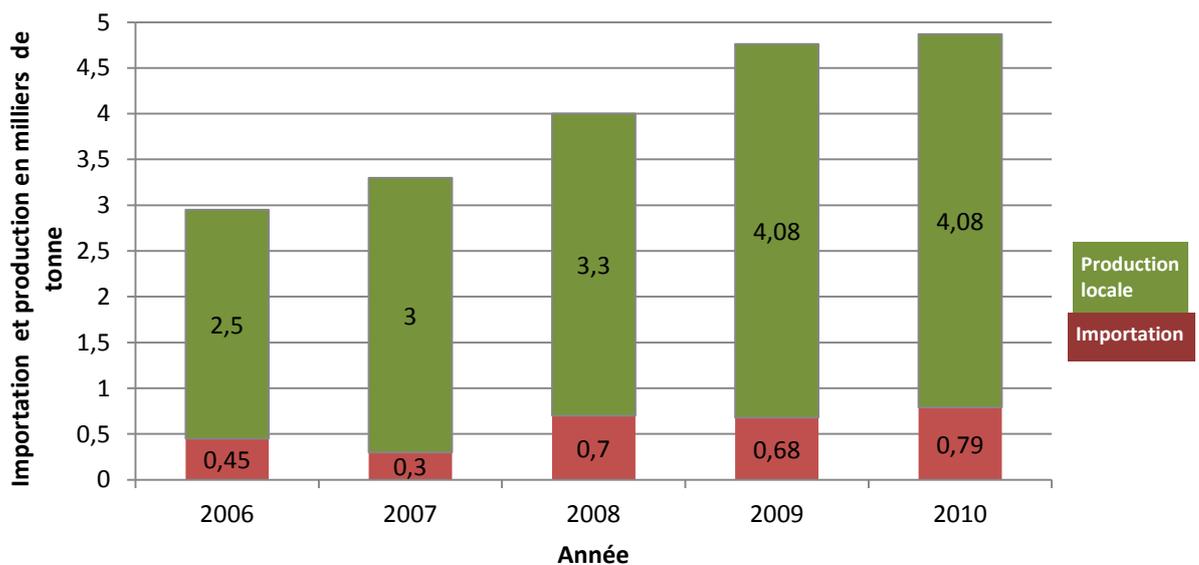


Figure 4 : Importation des miels en Algérie entre 2006 et 2010 (MADR, 2019).

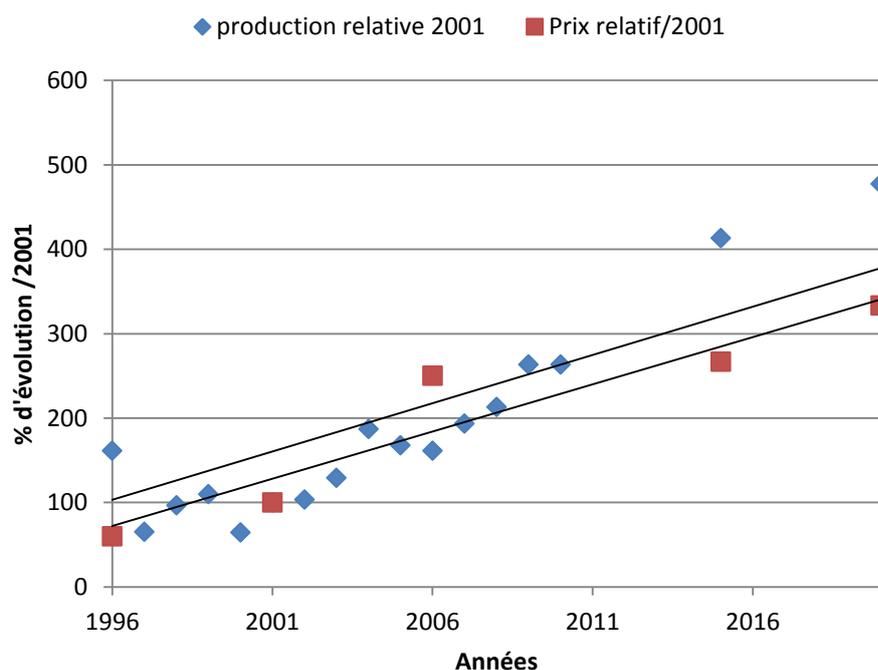


Figure 5 : Evolution relative des prix des miels en Algérie entre 1996 et 2019 comparée à l'évolution de la production (Djemaaten, 2008; MADR, 2019).

L'Etat continue à encourager le secteur par le maintien des formules d'aide aux apiculteurs par leur orientation vers les techniques modernes d'extraction et d'exploitation des potentialités innombrables de la profession. Le tableau 1 donne une idée sur les montants mis à la disposition des apiculteurs par le FNDIA.

Tableau 1 : Montants de soutien du FNDIA pour les apiculteurs algériens (FNDIA, 2014).

Actions soutenues	montant plafonné en DA
Acquisition de 5 modules de 10 ruches pleines	250 000
Outillage pour un module	3 000
Extracteur	40 000
Maturateur	20 000
Désoperculateur	20 000
Chaudière à cire	20 000
Equipement de production des ruches et essaims	1 500 000
Pépinière de production d'essaims	1 000 000

En définitif, la situation de la filière apicole en Algérie est caractérisée par une opacité totale. L'absence de statistiques fiables due à la prédominance de circuits parallèles

ainsi qu'à la rétention voulue de l'information par les apiculteurs (pour des raisons économiques et même culturelles) nous empêche d'avoir une vue juste de la situation pour pouvoir établir une stratégie de développement de la filière.

I.3 Situation de la filière apicole dans les pays du Maghreb

La quantité moyenne de miel local en circulation au Maroc (circuit formel), durant une année normale, varie entre 3 500 et 4 000 t alors qu'elle est estimée à 1 750 t pour la Tunisie et 2800 t pour l'Algérie en 2010. La Figure 6 montre la proportionnalité de ces chiffres par rapport au nombre de ruches enregistrées. La production de miel par ruche est alors estimée comme suit : 10,7 kg/ruche en Tunisie, suivie par le Maroc avec 10,6 kg et vient l'Algérie en dernier avec 2,3 kg/ruche. En réalité, ces chiffres ne reflètent pas la réalité du secteur apicole dans nos pays sauf pour la Tunisie où 90 % de la production nationale de miel passe par le circuit formel et 90 % de leur apiculture est moderne. En effet, le Maroc souffre du passage de près de 50 % de sa production dans le circuit informel et d'une apiculture qui se base à 75 % sur l'élevage traditionnel (Ministère de l'agriculture du Maroc, 2012), ce qui est le cas de l'Algérie.

Au Maroc les prix d'achat des miels sont compris dans une fourchette de 70 DH à 350 DH (1 000 à 4 000 DA), les plus prisés sont ceux d'euphorbe (Zegoum) et d'eucalyptus (1 500 à 5 000 DA). Ces niveaux de prix sont comparables à ceux rencontrés chez nous. En revanche, en Tunisie les prix sont conditionnés par les types de miels, ils vont de 12 à 20 € (2 000 à 3 000DA) pour les miels de thym, et de 10 € (1 500 DA) pour les autres types (oranger, eucalyptus, de montagne, romarin) (Ministère de l'agriculture de Tunisie, 2010).

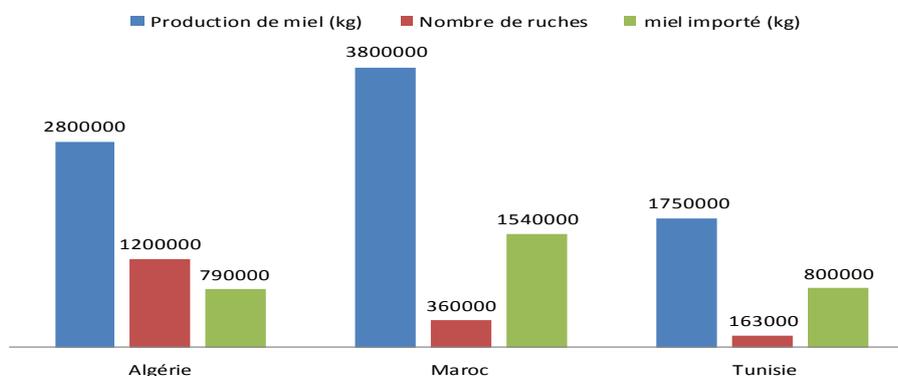


Figure 6 : Chiffres sur la quantité de miel en circulation, l'importation (en kg) et le nombre de ruches des pays du Maghreb (2010).

*Comme une abeille, sans nuire à la fleur,
à sa couleur ou à son parfum, s'envole emportant seulement le miel,
ainsi le sage doit-il parcourir le village.*
(Dhammapada, 49)

Depuis toujours le miel est un des aliments diététiques les plus connus et les plus appréciés par l'homme. Il ne subit habituellement aucun traitement mis à part l'extraction, ce qui en fait un supplément alimentaire intéressant (Bogdanov et al., 2008). Le miel est une substance sucrée produite par les abeilles et d'autres insectes sociaux, servant essentiellement de nourriture non périssable pour la survie des colonies en période de disette. Son goût particulier et ses caractéristiques de conservation ont fait que l'homme, depuis la préhistoire, a commencé à le recueillir et à le rechercher (Crane, 1999).

II.1. Définition et composition du miel

Le *Codex Alimentarius* (1993) définit le miel comme étant la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis Mellifera* à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes 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.

Sa composition est complexe, mais peut être décrite chimiquement comme étant un mélange de sucres divers, essentiellement du fructose et du glucose (70-80 %), d'eau (10-20 %) et environ de 2 % de composés mineurs dont les acides, les flavonoïdes, les minéraux, les acides aminés, les protéines, les pigments et les éléments figurés (grains de pollen, spores diverses, levures), la fraction volatile responsable de l'arôme, etc.

II.1.1 Hydrates de carbones (sucres)

Selon White (1992) les sucres représentent jusqu'à 79 % du poids humide et environ 98 % du poids sec du miel. Ses investigations sur plus de 490 échantillons de miels américains de différentes origines florales et géographiques ont permis de dégager les grands traits de la composition en sucres. Il donne les étendues suivantes pour le fructose (25-45 %), le glucose (25-37 %), le maltose (2-12 %), le saccharose (0,5-3 %) et les autres oligosaccharides (0,1-8 %). Par ailleurs, Sporns et al. (1992) faisant le même travail sur les

miels d'Alberta-Canada, rapportent des intervalles plus étroits pour le fructose et le glucose avec respectivement; 35,6-40,2 % et 32,5-37,3 % ; mais plus large pour le saccharose (0,0-6,5 %).

En outre, on a pu identifier parmi ces oligosaccharides entre 25 et 33 sucres différents (Doner, 1991), dont certains sont d'importance nutritionnelle tel que le panose, 1-kestose, 6-kestose et le palatinose. Les principaux oligosaccharides du miel de nectar, sont de la famille des disaccharides tels que le saccharose, le maltose, le trehalose et le turanose, alors que les miels de miellats sont plus complexes et contiennent de plus grandes quantités de disaccharides et même un taux significatif de trisaccharides tels que le mélézitose et le raffinose.

La dominance du fructose dans les miels peut être expliquée par plusieurs faits, d'abord par l'intervention de la gluco-invertase qui scinde le saccharose, contenu dans les nectars et les miellats, en ces deux constituants de base le glucose et le fructose mais dans des proportions rigoureusement égales. Ces monosaccharides vont s'ajouter aux sucres simples déjà présents dans le nectar et qui peuvent être déjà riches en fructose. En second lieu, pendant la maturation et quand le miel est encore trop humide, un processus interne de protection contre les fermentations se met en place avec l'intervention de la glucose-oxydase, comme le montre la figure 7. Cette enzyme participe à l'apparition du peroxyde d'hydrogène (un fort antimicrobien) et de l'acide gluconique à partir du glucose, ce qui diminue la présence de ce dernier par rapport au fructose.

Enfin, si on regarde le détail de la composition des sucres présents dans les miels (voir section II.2.1.2) nous pouvons estimer que la consommation de glucose pour la synthèse des oligosaccharides est 6 fois plus importante que celle du fructose et 12 fois plus importante que celle du galactose. Ces sucres complexes ne sont pas négligeables et peuvent représenter selon le Swiss food manual (1995) de 5 à 28 % des sucres totaux d'un miel et sont remarquablement représentés dans le cas des miels de miellats.

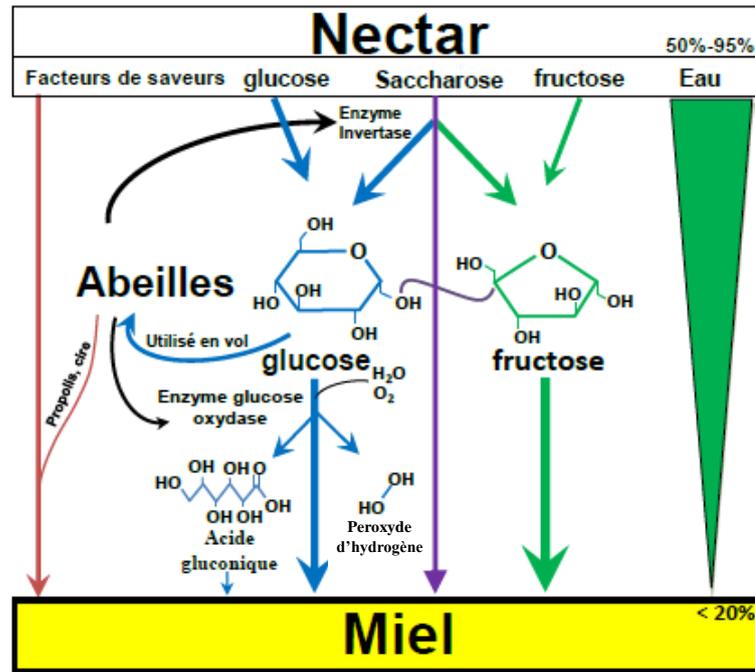


Figure 7 : Evolution de la composition du nectar en miel
(Riches, 2000).

Le reste de la matière sèche est répartie comme suit : acides totaux (0,57 %), minéraux (0,17 %), protéines (0,27 %), acides aminés (0,10 %) et d'autres composés mineurs (0,89 %), environ la moitié de l'azote est non protéique et il provient des acides aminés qui sont représentés par la proline à raison de 50 % (Cotte et al., 2004a).

II.1.2 Protéines, acides aminés et enzymes

Selon Marshall and Williams (1987), la fraction protéique est représentée par plus de 19 bandes protéiques, dont 4 à 7 possèdent une activité enzymatique correspondant à l' α -glucosidase (Invertase), l'amylase (Diastase) et la glucose-oxydase. Ces auteurs, sur la base d'expérimentations plus poussées, ont prouvé que ces enzymes proviennent de l'abeille qui les introduit pendant le travail de transformation du nectar en miel dans son jabot.

Une synthèse sur l'activité enzymatique du miel faite par Doner (Doner, 1991) confirme la présence de l' α - et β -amylase, de la catalase, de la glucose oxydase et de l' α - et β -glucosidase et relie ces deux dernières à la présence de liaisons de type O- α -glucosidique et O- β - glucosidique dans 33 oligosaccharides identifiés dans le miel. Ainsi,

la composition finale en sucres du miel est le résultat de l'action des enzymes de la salive de l'abeille sur le nectar et le miellat (Babacan and Rand, 2007; Hayashi et al., 2011).

Le miel contient 19 acides aminés libres, presque toujours les mêmes mais avec un profil quantitatif qui change d'un type de miel à un autre. On citera la présence obligatoire de la proline et la quasi-constance de la lysine, de l'acide glutamique et de l'alanine. Par contre, la cystine, la méthionine ou le tryptophane n'apparaissent que de manière occasionnelle. Les études menées sur l'utilisation éventuelle de ces molécules comme marqueurs n'a pas pu aboutir à des résultats concluants, surtout qu'ils proviennent en partie de l'abeille et du pollen (Cometto et al., 2006; Cotte et al., 2004b; Pereira et al., 2008; Spano et al., 2009).

II.1.3 Vitamines et minéraux

Le miel est pauvre en vitamines et en minéraux, comme le montre le tableau 2. Cependant, il faut signaler ici qu'il existe de très grandes variations entre les miels. Les vitamines les plus rencontrées sont celles du groupe B, spécifiquement la B₁, B₂ et B₉, sinon l'apport général est insignifiant au regard de la demande vitaminique journalière de l'homme dans ses différentes phases de croissance (Ciuli et al., 2011).

Selon Lachman et al. (2007) la fraction minérale est essentiellement composée par du potassium (K) suivi de Calcium (Ca), de Sodium (Na), de Magnésium (Mg) et de Phosphore (P). Les oligo-éléments sont représentés par le Fer, le Cuivre, le Zinc et le Manganèse. Dans une revue récapitulative sur la composition des miels faite par Bogdanov et al. (2008), on rapporte la présence de plus de 20 autres minéraux pouvant se trouver sous forme de traces tels que : l'Aluminium (Al), le plomb (Pb), l'Arsenic (As), le Lithium (Li), le Barium (Ba), le Molybden (Mo), le Bore (B), le Nickel (Ni), le Brome (Br), le Rubidium (Rb), le Cadmium (Cd), le Silicium (Si), le Chlore (Cl), le Strontium (Sr), le Cobalt (Co), le Soufre (S), le Fluore (F), le Vanadium (V), le Zirconium et l'Iode (I). Nombre de ses minéraux ont été classés comme indicateurs d'origine botanique ou géographique (Madejczyk and Baralkiewicz, 2008; Rodriguez Garcia et al., 2005; Terrab et al., 2003b; Zhou et al., 2013), alors que le Plomb et le Cadmium sont des indicateurs de pollution (Rodriguez Garcia et al., 2006).

Tableau 2 : Composition en vitamines et en minéraux dans les miels et besoins journaliers de l'Homme selon la tranche d'âge (Bogdanov et al., 2008; Ciuli et al., 2011).

Vitamines	Dans le miel en mg/100g	Besoin journalier selon les tranches d'âge ^a (mg/j)		
		1 à 4 ans	4 à 15 ans	15 ans et plus
Phylloquinone (K1)	Tr.-0,025	15	20-50	60-70
Thiamine (B 1)	0,02-0,9	0,6	0,8-1,4	1-1,3
Riboflavine (B 2)	0,01-0,9	0,7	0,9-1,6	1,2-1,5
Niacine ^b (B 3)	0,10-2,7	7	10-18	13-17
Acide Pantothénique (B 5)	0,02-1,9	4	4-6	6
Pyridoxine (B 6)	0,01-0,32	0,4	0,5-1,4	1,2-1,6
Acide Folique (B 9)	0,01-0,7	0,2	0,3	0,4
Acide Ascorbique (C)	0,1-2,5	60	70-100	100
Minéraux				
Sodium (Na)	1,6-17	300	410-550	550
Calcium (Ca)	3-31	600	700-1200	1000-1200
Potassium (K)	40-3500	1000	1400-1900	2000
Magnésium (Mg)	0,7-13	80	120-310	300-400
Phosphore (P)	2-15	500	600-1250	700-1250
Zinc (Zn)	0,05-2	3	5-9,5	7-10
Cuivre (Cu)	0,02-0,6	0,5-1	0,5-1	0,5-1
Fer (Fe)	0,03-4	8	8-15	10-15
Manganèse (Mn)	0,02-2	1-1,5	1,5-5	2-5
Chrome (Cr)	0,01-0,3	0,02-0,06	0,02-0,1	0,03-1,5
Sélénium (Se)	0,002-0,010	0,001-0,004	0,001-0,006	0,003-0,007

^a D'après la German Nutrition Society (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG, 2000)

^b l'équivalent de niacine : 1 mg nicotinamide = 1 mg niacine = 60 mg tryptophane qui est le précurseur de la niacine.

Tr : traces

En plus de ces composés, le miel contient de 0,3 à 25 mg/kg de choline et de 0,06 à 5 mg/kg d'acétylcholine. La choline étant essentielle pour les fonctions cardiaques et cérébrales, alors que l'acétylcholine joue le rôle de neurotransmetteur. Ces apports sont faibles pour l'homme, mais peuvent être bénéfiques (Heitkamp, 1984).

II.1.4 Molécules sensoriellement et biologiquement actives

Parmi les composés mineurs, on retrouve aussi ceux responsables des caractéristiques organoleptiques tels que la couleur, l'odeur. Le goût, étant d'abord tributaire du type de sucres prédominants puis de la composition en acides organiques et en acides aminés (Crane et al., 1984). Plus de 500 composés responsables de l'arôme des miels ont été identifiés (Bogdanov et al., 2004).

Les polyphénols, quant à eux, jouent un rôle dans l'apparence et dans l'utilisation fonctionnelle des miels. Ils s'y retrouvent à raison de 56 à 500 mg/kg (Al Mamary et al., 2002; Gheldof and Engeseth, 2002a). Selon l'origine florale du miel, cette fraction est souvent riche en flavonoïdes (quercitrine, lutéoléine, kœmpferia, apigénine, chrysin, galangine, etc.) et en acides phénoliques et leurs dérivés (Tomas-barberan et al., 2001). Le taux de flavonoïdes varie entre 2 et 46 mg/kg et est plus important dans les miels produits en saison chaude et sèche (Kenjeric et al., 2007). Cette famille de composés est responsable des propriétés anti-oxydantes des miels.

Les acides phénoliques ainsi que les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont utilisés dans la chimio-taxonomie comme marqueurs dans la classification systématique des plantes et ont été suggérés comme marqueurs pour l'authentification de l'origine florale des miels. En effet, des différences significatives ont été trouvées dans les différents groupes de miels. Par exemple, Amiot et al. (1989) ont trouvé que les miels foncés contenaient plus de dérivés d'acides phénoliques et moins de flavonoïdes que les miels clairs. D'autres études ont comparé les profils des flavonoïdes de monofloraux et ont pu sélectionner des marqueurs particuliers pour certains de ces miels, tels que l'hespéretin (5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavanone) qui n'existe que dans les miels de Citrus (Ferrerres et al., 1993; Tomas-barberan et al., 2001). Néanmoins, l'utilisation de ce type de marqueurs reste difficile à cause des dérivés phénoliques des propolis qui se retrouvent souvent dans les miels, ce qui n'a pas permis de trouver des marqueurs pour tous les monofloraux. Le deuxième inconvénient étant la complexité des étapes d'extraction et de purification et les temps importants que peuvent prendre ce type d'analyse, souvent réalisées par des techniques fines comme la chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Tomas-barberan et al., 2001).

La classe des composés volatils est aussi importante dans le sens où il a été recensé près de 600 composés responsables de l'odeur des miels monofloraux, provenant presque tous des nectars de fleurs, en plus de ceux ajoutés par l'abeille (Alissandrakis et al., 2003). Leur détermination est généralement faite par CG-MS après extraction de ces derniers (extraction par la méthode Likens-Nikerson, extraction dynamique en espace de tête, micro-extraction en phase solide, etc.).

II.1.5 Elément figurés, bactéries et levures

En dernier, mis à part les composants biochimiques, il existe dans les miels des éléments dits figurés (Bogdanov, 2009). Il s'agit généralement d'unicellulaires ou d'organismes formés par un petit nombre de cellules dont la présence est indicatrice des miellats. Ce sont des spores, des algues et des lichens. Les principaux lichens et algues rencontrés proviennent des écorces et des feuilles. Pour les algues, il s'agit surtout de groupes cellulaires de Pleurococcus, plus rarement de Chlorococcus ou d'une forme unicellulaire Cystococcus, ou appartenant aux familles des Chlorophycées, Cyanophycées, Desmidiacées et des Diatomées. Un exemple d'images microscopiques de levures et d'indicateurs de miellats est donné sur la figure 8.



Figure 8 : Images de levures (haut) et d'indicateurs de miellats sous microscope (bas)

(www.Pleurococcus.com/source/fungi imperfecti).

Le miel contient aussi des levures osmo-résistantes responsables des accidents de fermentation quand les taux d'humidité ne sont pas respectés. Ces derniers sont identifiables directement sous microscope (Timmroth et al., 2005).

A la différence des *fungi imperfecti* (Figure 8), l'identification des bactéries ne peut être réalisée directement sous microscope. Alors, il est nécessaire de procéder par culture sur des milieux gélosés spécifiques. Ces rares bactéries sont inhibées sous l'action des peroxydases acides et de la forte osmolarité du milieu ; elles sont souvent à l'état de spores. Ce sont, généralement, des *Bacillus* mésophiles introduites par les abeilles et sans danger pour le consommateur. Par ailleurs, la présence d'autres bactéries correspond à une

contamination lors de l'ouverture des ruches ou au moment du conditionnement (Streptocoques Gram + ; Coliformes dont *Escherichia coli* Gram - ; Salmonelles et bactéries anaérobies sulfite-réductrices). Ces organismes doivent être totalement absents des miels et sont le signe de mauvaises pratiques apicoles. Un produit commercialisé ne doit pas contenir plus de 100 germes mésophiles par gramme (Olaitan et al., 2007).

Certains auteurs (De Bodt and Vlayen, 1994; Snowdon and Cliver, 1996; Tanzi and Gabay, 2002) rapportent la présence de spores de *Clostridium botulinum* dans les miels, sans présence de toxines, ce qui a conduit par principe de précaution l'interdiction de donner du miel aux nourrissons de moins d'un an. Une expertise approfondie sur le sujet a été lancée par la « Commission Européenne de la Santé et du Consommateur ». Les conclusions éditées en 2002 dans un rapport intitulé « Le miel et les dangers microbiologiques » (EUROPEAN COMMISSION, 2002b) rapportent que le niveau et la fréquence de contamination des miels par les clostridies apparaissent généralement très faibles et que l'origine de la contamination n'a pas pu être identifiée. Ce germe peut se trouver sous forme sporulée mais ne peut en aucun cas se multiplier ou produire des toxines dans les miels. A l'heure actuelle, il n'existe aucun moyen de décontamination de ces spores, s'ils existent, sans que cela soit préjudiciable à la qualité des miels.

II.1.6 Valeur alimentaire, nutritionnelle et apport énergétique

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétique, il apporte environ 320 kcal par 100 g. Sa composition en hexoses lui donne la propriété d'être très facilement assimilable en ne laissant aucun ou très peu de déchets métaboliques. Le glucose est utilisé directement par le cerveau et les autres organes, alors que le fructose n'est utilisé qu'après une légère transformation. Il présente donc un pouvoir tampon qui prolonge l'action du glucose et possède aussi des propriétés légèrement laxatives. Selon Bogdanov (2011) une consommation de 20 g de miel couvre près de 3 % de l'énergie journalière nécessaire, mais s'il est pris comme seule sucrant la quantité ingérée peut être augmentée à 40-50 g/j.

Le miel a un pouvoir sucrant égal ou un peu plus élevé que le sucre blanc, à cause de sa composition. Le fructose étant d'environ deux fois (173) plus sucrant que le saccharose qui est pris comme référence (100) et le glucose moins sucrant (74), avec 15 à 20 % d'eau (Gonnet, 1982).

Le miel est par excellence l'aliment de l'effort physique, bref ou prolongé. L'ingestion de glucides avant et après l'effort influence significativement les performances des athlètes. Des études sur l'utilisation des glucides par le corps humain ont montré que la prise de glucose et de fructose séparément était loin d'être idéale. En effet, le fructose seul est faiblement absorbé et peut causer une détresse intestinale, il donne une faible réponse de l'insuline et épargne le glycogène musculaire. En revanche, le glucose est très bien absorbé, rapidement métabolisé pour donner de l'énergie mais provoque une forte réponse de l'insuline qui stimule le stockage du glycogène au lieu de sa mobilisation. Ainsi, un mélange des deux glucides est mieux toléré et donne de meilleurs résultats sur la prévention de la fatigue et l'amélioration des performances (The National Honey Board, 2004).

Si le miel est ingéré pour l'amélioration de la santé générale, Bogdanov (2011) suggère une quantité comprise entre 50 et 80 g/j (0,8-1,2 g/kg/j) en cure de quelques jours par mois, constituant sur l'année 1,5 à 2 mois. Il suggère aussi que les effets sur la santé sont remarquables au bout de 2 à 3 semaines de prises journalières.

Le tableau 3 donne la valeur nutritionnelle et l'apport énergétique moyen de 100 g de miel, selon la USDA (United States Department of Agriculture) et le TACO (Brazilian Table of Food Composition).

Le miel peut être introduit dans tous les régimes alimentaires. Il présente par rapport au sucre ordinaire l'avantage de contenir d'autres substances qui ont un effet sur l'état physiologique général, même si elles sont présentes en faibles quantités. Malgré qu'il ne soit pas un aliment complet, il a des répercussions bénéfiques sur la croissance chez l'enfant, l'assimilation et la fixation du calcium, l'élévation du taux d'hémoglobine dans le sang, la reprise de poids chez les convalescents et est considéré comme un bon régulateur intestinal (Gonnet, 1982).

Tableau 3 : Composition en nutriments et valeur énergétique du miel selon les tables de composition des aliments de l'USDA et le TACO (Bastos and Sampaio, 2013).

Nutriment (moyenne)	Unité/100g	USDA ^a	TACO ^b
Eau	g	17,1	15,8
Energie	kcal	304	309
Protéines	g	0,30	0,00
Gras	g	0,00	0,00
Cendres	g	0,20	0,10
Hydrates de carbone	g	82,40	84,00
Fibres	g	0,2	-

^aUSDA : United States Department of Agriculture; ^bTACO : Brazilian Table of Food Composition. Tr : traces

II.2. Variabilité de la composition des miels

Les variations dans la composition du miel dépendent de la flore visitées par l'abeille, des conditions climatiques et de la région. Cependant, les variations de sa qualité sont tributaire des modes d'extraction, des traitements post-extraction et des conditions de stockage et de commercialisation (Bogdanov et al., 2008). Ces critères de qualité (Tableau 4) ont été fixés par le *Codex Alimentarius* et servent de références normatives pour les échanges commerciaux à l'intérieur et à l'extérieur des pays de l'Union Européenne.

Tableau 4 : Critères de qualité des miels (*Codex Alimentarius*, 1993).

Critère	Norme Codex	Projet de UE
Teneur en eau (%)	< 21	< 21
Teneur en sucres réducteurs (%)	> 65	> 65
Teneur en saccharose apparent (%)	< 5	< 5
Teneur en matières insolubles dans l'eau (%)	< 0,1	< 0,1
Teneur en matières minérales (cendres) (%)	< 0,6	< 0,6
Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar, miel de châtaignier	< 1,2	< 1,2
Acidité libre (még/kg)	< 50	< 40
Activité diastasique, (indice diastasique en unités de Schade)	> 8	> 8
Miels avec une teneur enzymatique naturellement faible	> 3	> 3
Teneur en HMF Après traitement et mise en pot (Codex) (mg/kg)et Tous les miels du commerce (UE)	< 60	< 40

Dans ce qui suit, l'origine de cette variation sera abordée en suivant les étapes d'élaboration de cette denrée depuis son origine première.

II.2.1. Origine du miel : Sève, Nectar et Miellats

Pour mieux comprendre la composition du miel et la grande variabilité de ses caractéristiques, il convient de connaître sa source et le mode de son élaboration par l'abeille. Comme le décrit le Dr. Jonathan White dans le livre édité par Eva Crane dans les années 70 (Crane, 1975), le miel est un produit sucré « deux fois volé », la première fois par l'abeille à partir des plantes et la deuxième fois par l'homme et certains mammifères à partir des cadres où l'insecte l'emmagasine.

La plupart du temps, c'est à partir des fleurs que les abeilles collectent cette solution sucrée qui est le nectar. Elles la transforment, d'une denrée facilement périssable (fermentescible), fluide et légèrement sucrée en un aliment stable, à haute densité et très énergétique. En invertissant le saccharose initialement présent dans les nectars, l'abeille augmente la densité apparente du produit final, en même temps que sa résistance aux micro-organismes, par l'augmentation de la pression osmotique du produit stocké (Crane, 1975).

Du point de vue chimique, « la sève » est le matériau de base, c'est un liquide incolore qui peut être parfois fluorescent, sa composition conditionne significativement la composition du nectar produit par la plante.

II.2.1.1 La sève

Selon Anne Maurizio (Crane, 1990), la matière sèche de la sève varie entre 5 à 30 % et s'établit le plus souvent entre 15 à 25 %, dans laquelle les hydrates de carbone représentent 90 % et les minéraux de 1 à 3 %, avec un pH neutre à légèrement alcalin compris entre 7,3 et 8,6.

Les hydrates de carbones étant les composés les plus présents. Ils ont été largement étudiés et classés en trois groupes selon le type de sucres qu'on y trouve :

- Le premier groupe où les sucres sont essentiellement représentés par le saccharose, ce qui est le cas particulièrement des légumineuses et des conifères mais généralement de beaucoup d'autres familles de plantes.

- Le deuxième groupe, à côté du saccharose il existe un nombre important d'oligosaccharides de la série du raffinose. Ils sont caractérisés par la présence d'une ou de plusieurs molécules de galactose attachées au saccharose telles que le stachyose et le verbascose. Les familles des plantes concernées sont les Oléacées, Bignoniacées, Varbanacées, Combretacées, Myrtacées et les Onagracées.

- Le troisième groupe contient, en plus des sucres précités, des polyalcools dérivés d'oses tels que le mannitol et le sorbitol. Certaines oléacées (*Fraxinus*, *Syringa*) et rosacées (*Prunus serotina*, *Malus sylvestris*) appartiennent à ce groupe (Crane, 1990).

II.2.1.2 Le nectar

Le nectar, quant à lui, est la sécrétion sucrée des nectaires dont sont dotés certains végétaux. Elles se présentent sous forme de turgescences, situées soit sur les feuilles (nectaires extra floraux) soit sur les fleurs (sépalles, pétales, carpelles/nectaires floraux) (Donadieu, 1984). Ces organes doivent, en effet, être considérés comme des « pompes à sucre » puisqu'elles régulent la pression osmotique de la sève en contrôlant la concentration en sucre (Gonnet, 1982). Le nectar est la source la plus naturelle pour l'abeille puisque cette relation résulte de la coévolution des angiospermes avec les insectes butineurs (Biri, 1986).

Le nectar peut être considéré comme une solution aqueuse de sucres puisque tous les autres composants sont présents en faible quantité. Alors que les minéraux ne représentent que 0,023 à 0,45 %, le reste de la fraction mineure est constitué par des protéines, acides

organiques, vitamines, pigments, substances aromatiques, etc. Les sucres y représentent la fraction majeure.

Comme règle générale, le nectar, au contraire de la sève, montre un caractère acide à neutre avec des pH de 2,7 à 6,4. Cependant, dans de très rares cas le nectar peut être alcalin (jusqu'à pH 9,1).

Les vitamines suivantes ont été aussi identifiées à des taux très faibles dans les nectars : thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide nicotinique, méso-inositol et l'acide ascorbique.

La contribution des matières azotées est essentiellement due aux acides aminés et aux amides qui ont une relation avec le degré de différenciation des substances des nectaires ayant pour but d'empêcher la germination des pollens (Gonnet, 1982). Des lipides, des alcaloïdes et des composés phénoliques ont aussi été détectés incluant des triglycérides à chaînes saturées entre C16 et C20 et des diacylglycerols d'acide acétique et d'acide palmito-acétique, des acides phénoliques et des flavonoïdes (Baker and Baker, 1983).

Il faut aussi signaler la présence parfois de substances nocives pour l'abeille, pour l'homme ou pour les deux. C'est le cas de substances trouvées dans les nectars de certaines plantes, comme l'arbutine issue de *Arbutus unedo* (Tariba Lovakovic et al., 2018) et la miserotoxine issue de *Astragalus miser var. serotinus*.

Shuel (1992) estime que les hydrates de carbone varient de 5 à 60 % dans le nectar, alors que Gonnet et al. (1964) ainsi que Crane (1975) parlent d'intervalles plus larges allant respectivement de 10 à 70 % ou de 5 à 80 % (4 à 5 % chez *Fritillaria imperialis* et 76 % chez *Origanum vulgare*). Cependant, les auteurs se rejoignent tous à préciser que ceci dépend de l'espèce botanique et des conditions pédoclimatiques, sachant que les plantes à moins de 10 % de sucres ne sont pas visités par les abeilles et ne présentent aucun intérêt apicole.

Au vue de la composition de ces nectars en sucres, on remarque des différences notables dans le type de sucres et dans leurs proportions. Comme c'est le cas pour les sèves, on distingue ici trois groupes :

- Nectars à prédominance de saccharose.

- Nectars contenant des proportions égales de saccharose, de fructose et de glucose.
- Nectars exempts de saccharose, à dominance de fructose (le ratio fructose/glucose est de l'ordre de 28).

Les nectars à dominance de glucose sont très rares et le ratio fructose/glucose ne descend pas plus de 0,7 (Crane, 1975).

Baker and Baker (1983) donnent une autre classification basée sur le ratio saccharose/hexoses, précisant que les sucres dont on parle sont essentiellement le fructose, le glucose et le saccharose, ainsi quatre classes apparaissent :

- Nectars à dominance de saccharose (ratio > 0,999).
- Nectars riches en saccharose ($0,5 < \text{ratio} < 0,999$).
- Nectars riches en hexoses ($0,1 < \text{ratio} < 0,499$).
- Nectars à dominance d'hexoses (ratio < 0,1).

Pendant longtemps, il existait une grande controverse quant à la présence d'oligosaccharides autres que le saccharose dans le nectar. Cependant, ce fait a été confirmé par plusieurs auteurs (Butler et al. (1972); Low et al. (1988); Baker and Baker (1983); Von der Ohe (1994)) qui citent la présence d'erlose, de maltose, de cellobiose, de gentiobiose, de melibiose, de trehalose, de mannitriose et de stachyose. Ces sucres voient leur concentration changer (vers la hausse ou vers la baisse) après la transformation du nectar en miel, comme le montre le tableau 5 rapporté par Pontoh and Low (2002).

Tableau 5 : Composition comparée en sucres du nectar et du miel (Pontoh and Low, 2002)..

Nom commun du sucre	Structure	Taux du sucre en %	
		Nectar ¹	Miel ²
Glucose	Glu	12,5-66,7	39,3-56,3
Fructose	Fru	10,7-41,2	29,1-51,7
Galactose	Gal	++	-
Arabinose	Ara	++	-
Mannose	Man	+	-
Saccharose	α -D-Glu- β -D-Fru	Nd-71,7	Nd-7,6
Turanose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-3)-D-Fru	-	++
Maltulose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)-D-Fru	-	++
Palatinose	<i>O</i> - β -D-Glu- (1-4)-D-Fru	-	+
Neotrehalose	α -D-Glu- β -D-Glu	-	+
Kojibiose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-2)-D-Glu	-	0,45-0,61
Nigerose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-3)-D-Glu	-	0,29-0,37
Laminaribiose	<i>O</i> - β -D-Glu- (1-3)-D-Glu	-	+
Maltose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)-D-Glu	Nd-2,3	0,94-1,46
Isomaltose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-D-Glu	-	0,15-0,43
Gentiobiose	<i>O</i> - β -D-Glu- (1-6)-D-Glu	-	++
Cellobiose	<i>O</i> - β -D-Glu- (1-4)-D-Glu	+	-
Lactose	<i>O</i> - β -D-Gal- (1-4)-D-Glu	-	-
Melibiose	<i>O</i> - α -D-Gal- (1-6)-D-Glu	+	Nd
Trehalose	<i>O</i> - α -D-Glu- α -D-Glu	-	-
1-kestose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-2)- β -D-Fru- (1-2)- β -D-Fru	-	++
Melezitose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-3)- <i>O</i> - β -D-Fru- (2-1)- α -D-	Nd-5,3	0,047-
Erlose	Glu <i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- α -D-Glu- β -D-Fru	Nd-1,2	0,069 0,32-4,92
Theanderose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)- α -D-Glu- β -D-Fru	-	0,08-0,47
Centose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- α -D-Glu- (1-4)-D-Glu	-	++
Maltotriose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-D-Glu	-	0,03-0,12
Isopanose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-3)-D-Glu	-	+
3- α - isomaltosylglucose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-3)-D-Glu	-	++
Panose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)-D-Glu	-	+
Isomaltotriose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-D-Glu	-	+
Laminaritriose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-D-Glu	-	+
Raffinose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)- <i>O</i> - α -D-Glu- (1-2)-D-Glu	++	-
Stachyose	<i>O</i> - α -D-Gal- (1-6)- <i>O</i> - α -D-Gal- (1-6)- <i>O</i> - α -D-	-	++
Isomaltotetrose	Glu- (1-2) - β -D-Fru	-	++
Isomaltopentose	<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-[<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-] ₂ -D- Glu <i>O</i> - α -D-Glu- (1-4)-[<i>O</i> - α -D-Glu- (1-6)-] ₃ -D- Glu	+	-

Nd : non détecté ; (-) : absent ou non déterminé ; (+) : occasionnel ; (++) : fréquent ; ¹ : adapté à partir des travaux de Beker and Beker (1983) et Ohe (1994) ; ² : adapté des travaux de Swallow and Low (1990) et white (1992).

II.2.1.3 Les miellats

Selon Maurizio in (Crane, 1975) dans sa description « How bees make honey », les miellats sont considérés comme des produits spécifiques qui mettent à contribution des insectes suceurs, tous de la famille des Rhynchota (hemiptera). Ce groupe inclut un nombre important de Coccoïdea, tous les Aleyroïdea et Psylloïdea et la plupart des Aphidoïdea et Cicadoïdea. Tous ces insectes sont caractérisés par une structure particulière de leurs mandibules.

L'insecte sucur, hôte de plantes telles que les sapins, les épicéa, les chênes, les érables, les tilleuls, le maïs, certaines céréales, etc. (Jean Prost and Le Conte, 2005; Techniques de l'ingénieur, 2000), aspire la sève à la recherche de matières azotées, nécessaires à sa reproduction. En ingérant la matière première, il excrète les composés en excès sous forme de gouttelettes visqueuses sur les différentes parties de plantes. C'est pour cela que dans la composition du miellat on retrouve des enzymes des glandes salivaires et de l'intestin de l'hémiptère en question, tels que des invertases, des diastases, des peptidases et des protéinases.

La matière sèche du miellat contient de 0,2 à 1,8 % d'azote, issu à 70-90 % d'acides aminés et d'amides. Le miellat contient toujours des acides organiques, spécialement de l'acide citrique et plus rarement des acides malique, succinique et fumarique.

Comme pour le miel, les sucres représentent les constituants majeurs de la matière sèche avec des pourcentages de 90 à 95 %. Leur profil n'est pas identique à celui du matériau d'origine, mais on y retrouve de nouveaux sucres synthétisés durant le passage de la sève dans le tube digestif de l'insecte sucur.

II.2.2 Travail du miel par les abeilles : Transformation et Enrichissement

L'élaboration du miel commence dans le jabot des butineuses qui ne ramènent pas plus de 50 mg de nectar par individu et par vol (Dustmann, 1993). Sitôt prélevée sur la plante (nectar ou miellat), la matière brute est mélangée aux sécrétions des glandes salivaires de l'insecte mettant en contact tout son arsenal enzymatique salivaire, donc enclenche la modification de la matière collectée. Pendant cette étape, l'abeille rajoute environ 1 % d'eau. Le travail réel du miel commence dans la ruche entre 33 et 35°C par les ouvrières. L'abeille dégorge tout d'abord rapidement, par saccades, le contenu de son jabot et l'étale en une goutte à l'aide de sa trompe puis le réabsorbe. La goutte de miel sera alors mélangée

à de nouvelles sécrétions, provenant principalement des glandes du pharynx. Ce processus durera de 15 à 20 minutes et plusieurs abeilles y participent. Plus le nombre est important et plus il y'a enrichissement en sécrétions diverses (Jeanne, 1983). Sur la base de ces constatations, on admet que le processus d'élaboration du miel est meilleur en période d'intensité modérée de butinage.

Parallèlement, une partie de l'eau s'évapore augmentant la matière sèche. La matière brute initiale deviendra ainsi du miel demi-mûri contenant parfois jusqu'à 60 % de matière sèche et enrichie de composés apportés par les abeilles ; c'est pour cela qu'on appelle cette phase « active ». Vient ensuite la phase « passive » dans laquelle l'évaporation est parachevée par l'étalement du miel sous forme de couches minces dans les alvéoles pour que l'humidité résiduaire soit éliminée sous l'effet de la température, de la ventilation, de l'hygrométrie de l'air ambiant, du nombre de ventileuses et du temps. Cette phase dure selon les cas de 1 à 3 jours en moyenne.

Le miel se déshydrate et s'épaissit jusqu'à ce que sa teneur en eau descende sous le seuil de 20 à 23 %. Ainsi parvenu à maturité, les abeilles operculent les alvéoles avec de la cire fraîchement sécrétée. La maturité physique acquise par déshydratation, entraînant une concentration de toutes les familles de composés, est suivie alors par la phase de maturité chimique qui est beaucoup plus lente car elle s'opère avec le temps pour que les équilibres, spécialement des sucres, s'établissent (Bogdanov, 1995). On observe alors une augmentation des hexoses (fructose et glucose) suite à l'hydrolyse du saccharose et la formation de nouveaux types de sucre (oligosaccharides), à haut poids moléculaire.

II.3. Authentification des miels

Les techniques pour l'authentification des miels sont nombreuses, mais aucune ne peut donner à elle seule toutes les informations relatives à leurs origines botanique ou géographique. Pour cette raison, les analystes doivent combiner plusieurs méthodes souvent coûteuses, longues et nécessitant une haute qualification des analystes (Da Silva et al., 2016; Dinkov, 2014; Wang and Qing, 2011). Dans ce qui suit, nous passerons en revue les principales méthodes, leurs buts, leurs avantages et inconvénients.

II.3.1 Analyse pollinique

L'analyse pollinique, dite aussi melissopalynologie, est une investigation nécessaire pour l'analyse des miels. Elle donne surtout une image sur l'environnement botanique dans lequel les abeilles ont fabriqué leurs produits. Elle donne aussi des informations utiles concernant les conditions d'extraction, le type de filtration, l'hygiène générale de travail et certaines contaminations ou fraudes (terre, poussière, sable, amidon, charbon, grande quantité de levures) (Von der Ohe et al., 2004).

Depuis que cette technique a été mise au point et proposée par l'ICBB (International Commission for Bee Botany) sur la base des travaux de Zender pendant les années 1935 à 1951 et de Vorwohl en 1968 puis publiés par Louveaux et al. dans les années 70, beaucoup d'autres propositions ont été faites pour la remplacer mais aucune, à ce jour, n'a pu apporter la masse d'informations et la simplicité de la technique qu'elle présente. Elle reste donc une très bonne technique de routine pour vérifier l'origine botanique et géographique du miel. Les deux aspects qualitatif et quantitatif ont été définitivement harmonisés par un groupe de travail de l'IHC (International Honey Commission) en 1999, qui a apporté les modifications nécessaires et les orientations utiles pour éviter les biais introduits fortuitement par une mauvaise préparation ou une mauvaise interprétation, le groupe a pu aussi calculer la fiabilité, la répétabilité et la reproductibilité de la méthode (Von der Ohe et al., 2004).

L'origine des miels est jugée selon les pourcentages relatifs des pollens de plantes nectarifères, présents dans le culot de centrifugation, monté entre lame et lamelle. Cependant, elle comporte quelques insuffisances qu'il faudrait prendre en considération lors de l'interprétation des spectres polliniques pour la détermination de l'origine botanique des miels. Parmi ces dernières on cite :

- Le fait que les plantes butinées produisent souvent des quantités de pollens différentes et que cette quantité est aussi tributaire des changements bioclimatiques et des années de récolte.
- Les quantités de nectar sont également différentes dans les fleurs mâles et femelles d'une même espèce.
- L'abeille peut, par ailleurs, exercer une sélection par la filtration de certains pollens volumineux ou ramener du pollen de plantes qui ne produisent pas de nectar.

- Une contamination secondaire (dans la ruche), tertiaire (pendant l'extraction) ou quaternaire (pollens anémophiles : ramenés par le vent) peut, en outre, fausser l'interprétation.

- enfin l'origine des miellats est très difficilement identifiée par l'observation microscopique (Anklam, 1998; Von der Ohe et al., 2004).

En général, un miel est considéré provenant essentiellement d'une espèce si la fréquence relative de son pollen est présente à plus de 45 %. Par contre, un miellat sera jugé sur la base du ratio : Indicateurs de miellats (IM) sur nombre de Grains de Pollen (GP) qui doit être supérieur à 3 pour affirmer que le miellat est pur. Cependant, à cause de la grande variabilité des quantités de pollens produits par les plantes, ces facteurs varient dans de larges intervalles, le tableau 6 montre quelques exemples.

Une interprétation correcte ne peut donc se baser uniquement sur l'analyse pollinique qualitative et devra être combinée aux données quantitatives (nombre absolu de pollens par 10 g de miel) ainsi qu'aux résultats des analyses sensorielles et physico-chimiques.

Tableau 6 : Niveaux relatifs d'abondance et fréquences relatives des pollens de différents miels d'origines florales différentes (Von der Ohe et al., 2004).

Pollens sous représentés (%)	Pollens pouvant être sous représentés (%)	Pollen normalement représenté (%)	Pollens Sur-représentés (%)
Arbutus (8-20)	Calluna (10-77)	Erica (> 45)	Castanea (> 86)
Carduus (5-25)	Helianthus (12-92)	Eryobotria (> 45)	Eucalyptus (> 83)
Citrus (2-42)	Rhododendron (15-77)	Hedysarum (> 50)	Brassica napus (> 60)
Lavandula latifolia (15-42)	Robinia (7-60)		Phacelia (> 60)
Lavandula intermedia (1-20)	Rosmarinus (10-57)		
Medicago (1-10)	Thymus (13-68)		
Taraxacum (5-40)	Tilia (1-56)		

Pour la détermination de l'origine géographique, c'est le profil total des pollens (nectarifères et non nectarifères) qui est étudié. Il représente une image fidèle du milieu où a été produit le miel. L'analyste sera en mesure de différencier entre des miels d'une même origine florale mais produits dans deux régions différentes, bien évidemment quand les régions en question sont suffisamment différenciées (Anklam, 1998).

Les insuffisances de la méliissopalynologie peuvent être rattrapées par la compétence des analystes et leur érudition dans la connaissance des plantes, de leurs particularités et de la production de nectar et de miellat. Dans ce sens, des scientifiques tels que Demianowicz et Sawyer (1988) ont introduit des coefficients pour le calcul de la participation en nectar des différentes plantes, ce qui rend l'interprétation plus proche aux données botaniques. Cependant, tous s'accordent pour dire que le profil pollinique est tout à fait adéquat pour la détermination de l'origine géographique des miels à condition que les spécificités botaniques des aires en question soient disponibles et bien documentées. A cet effet, il existe des techniques assistées par ordinateurs pour la vérification des origines botaniques des miels (Battesti and Goeur, 1992). On peut citer l'analyse des résultats de la méliissopalynologie par le logiciel melisoft (pour les miels corses) développé sur la base d'outils statistiques d'apprentissage et de prédiction « Machine Learning Methods » (Aronne et al., 2012).

II.3.2 Analyse sensorielle

L'analyse organoleptique, dite aussi sensorielle, décrit les caractéristiques perceptibles par les sens. Les premiers travaux sur les miels ont été conduits par Gonnet et Vache en 1979 (Gonnet and Vache, 1985). Leur méthode a vite été adoptée en Italie, puis dans toute l'Europe. C'est ainsi que la méthodologie, le vocabulaire et les modes d'entraînement des panels ont été améliorés et des groupes de travail de l'IHC ont abouti en 2004 aux méthodes harmonisées basées sur les standards ISO (ISO 8586-1,1993 ; ISO 8586-2,1994 ; ISO 4121, 1987 et ISO 6658, 1985)* concernant les analyses sensorielles (Piana et al., 2004).

* ISO 8586-1 : Sensory analysis-General guidance for the selection, training and monitoring of assessors-part 1: Selected assessors (2012).

ISO 8586-2 : Sensory analysis-General guidance for the selection, training and monitoring of assessors-part 2 : Expert sensory assessors (2008).

ISO 4121 : Analyses sensorielles- Lignes directrices pour l'utilisation d'échelle de réponses quantitatives (2003).

ISO 6658 : Analyses sensorielles- Méthodologie- Lignes directrices générales (2005).

Le but principal de cette analyse est la distinction entre les origines botaniques des miels grâce aux molécules sensoriellement actives. En outre, elle permet de déceler certains défauts tels que la fermentation, les odeurs et les goûts exogènes, les impuretés et les contaminations. Ceci a permis la standardisation des appellations selon des critères très proches de ce que peut percevoir le consommateur (Piana et al., 2004; Techniques de l'ingénieur, 2000).

Il est essentiel de dire que cette analyse est indispensable pour la description des monofloraux et des miels à appellation contrôlée, car le goût devient un standard qui peut décrire avec précision des sensations olfacto-gustatives recherchées dans le produit. Il est à noter qu'il n'est pas rare que l'occurrence d'un nectar fortement aromatique, même en très petite quantité, peut altérer l'aspect sensorielle d'origine, alors que l'influence sera minime sur les autres paramètres de contrôle (profil pollinique ou caractéristiques physico-chimiques) (Piana et al., 2004).

Pour compléter et interpréter les résultats d'analyse, une terminologie harmonisée a été sélectionnée avec le concours du CARI (Centre Apicole de Recherche et d'Information, Belgique). Celle-ci est représentée, après test, sous forme d'une roue tournant autour de :

- 7 familles principales de perceptions sensorielles : boisé, chimique, frais, floral ou fruit frais, chauffé, fermenté, végétal)
- 19 subdivisions au total : végétal sec, résineux, épicé ; petrochimique, médicamenteux ; rafraichissant, zeste d'agrumes ; floral, fruité ; brûlé, de fruit cuit, caramélisé, doux ; piquant, animal, moisi, soufré ; plante verte, plante séchée.

Pour chacune des subdivisions, des exemples de goûts ou d'odeurs sont donnés (Figure 9). Les caractéristiques organoleptiques majeures décrivant un miel, étant sélectionnées, le panel devrait transposer les sensations perçues sur une échelle quantitative prédéterminée et en dernier le profil organoleptique sera schématisé.

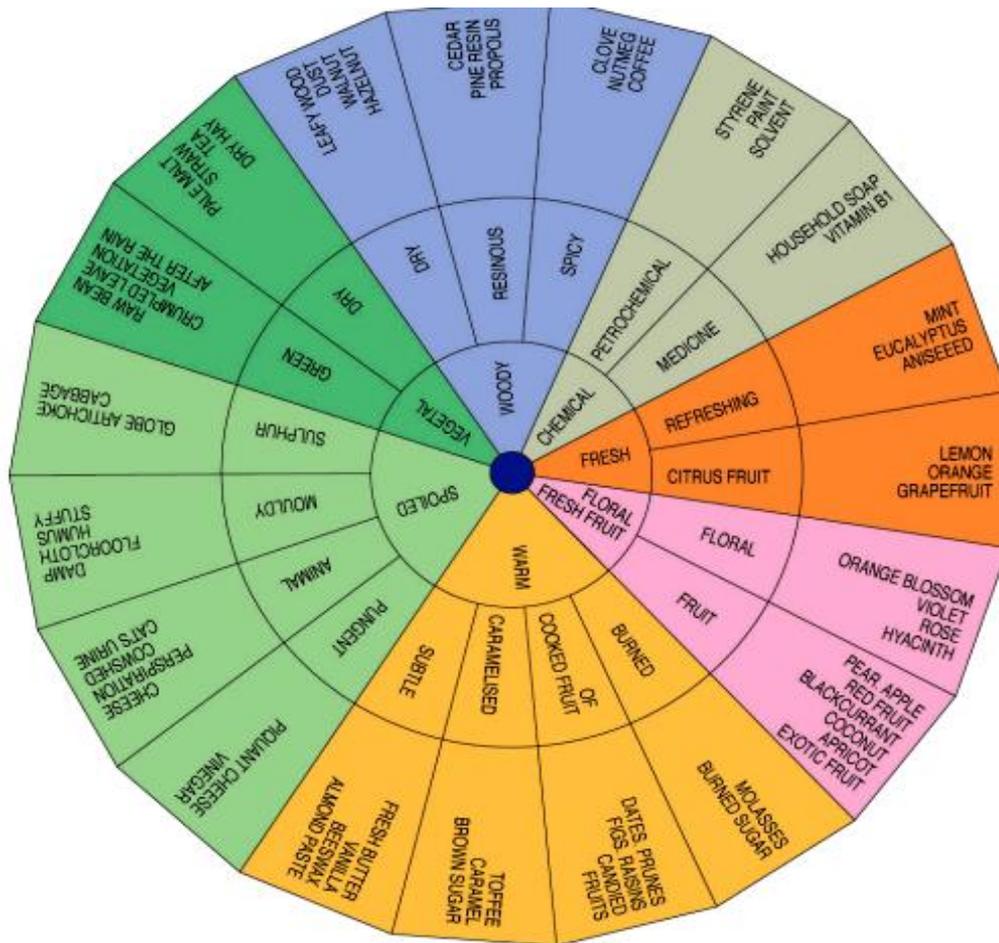


Figure 9 : Roue des odeurs et des arômes des miels

(IHC, 2001) (Piana et al., 2004).

Il ne faut pas oublier dans l'évaluation organoleptique, d'autres critères tels que l'aspect visuel, il va concerner l'intensité de la couleur perçue par le dégustateur et le ton, l'intensité de l'odeur et ses descripteurs (Figure 10), l'intensité de la sucrosité, de l'acidité, de l'amertume, de l'arôme en bouche, de la persistance, de l'arrière-goût, de l'astringence et de l'effet rafraichissant. Des remarques sur l'aspect (comportement tixotropique, gélification, cristallisation, brillance, consistance, propreté apparente, etc.) pourront être ajoutées. Dans certains cas, on peut avoir recours à la dilution du miel pour une meilleure appréciation de ces attributs organoleptiques et ceci quand la dégustation directe est perturbée par une sensation trop forte ou une texture gênante (Piana et al., 2004).

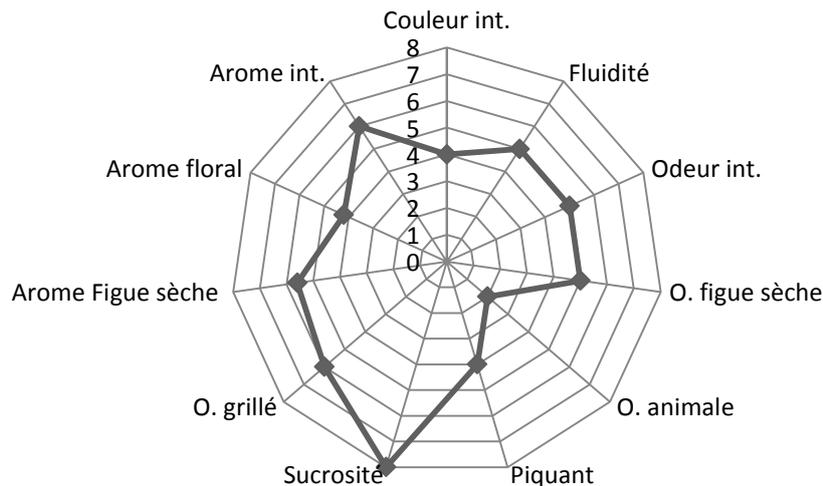


Figure 10 : Représentation graphique d'une analyse sensorielle quantitative d'un miel (exemple de *Eupatorium odoratum L.*)(Mahattanatawee et al., 2014).

(O : Odeur ; int : Intensité)

II.3.3. Profil physico-chimique

Les techniques physico-chimiques dites classiques sont depuis longtemps utilisées pour les contrôles de routine des miels. Elles ont été toutes validées et harmonisées par l'IHC et adoptées par le Codex Alimentarius (2001) et la commission européenne en 2002 (EUROPEAN COMMISSION, 2002a). Mis à part le fait qu'elles soient simples d'application et peu coûteuses, les résultats obtenus sont reproductibles et apportent beaucoup d'informations pertinentes quant à la classification des monofloraux et à la qualité générale du produit (Bogdanov et al., 2004). Nous passerons ici en revue les paramètres, un à un, en donnant leur utilité et les techniques utilisées.

II.3.3.1 Couleur

C'est la propriété la plus rapidement perçue par le consommateur. Elle résulte de l'interaction de la lumière avec les différents constituants du miel et de la perception d'une partie de la lumière transmise, ou réfléchié selon l'état physique du produit (liquide ou cristallisé) et de la qualité des cristaux en présence (fins ou grossiers).

En général, les miels possèdent des teintes jaunes caramel car ils absorbent presque totalement les longueurs d'ondes les plus basses (violet et bleu) et transmettent les plus élevées (jaune, orange, rouge) (Schweitzer, 2001). Variant du « blanc d'eau-water white » au « brun foncé-dark », la couleur passe par une série de teintes caramel de l'échelle Pfund,

unité encore utilisée (depuis 1925) dans les échanges commerciaux. De ce fait, même si on mesure la couleur par un comparateur Lovibond, on est obligé de convertir les résultats en mm ou en cm Pfund. Les tables de conversions sont données en (Annexe IV).

Ce type de mesure trouve des limitations importantes quand la teinte s'écarte de la gamme des caramels et parfois les sauts colorimétriques entre deux disques colorés sont trop grands, pénalisant ainsi les couleurs intermédiaires qui seront sous ou surévaluées.

En 1983, (Aubert and Gonnet) proposent une méthodologie tristimulaire basée sur la mesure de la lumière transmise par une épaisseur de 1cm de miel liquide dans le visible (400-700 nm), des courbes obtenues (sigmoïdes), ils tirent les trois coordonnées tristimulaires (X (700 nm), Y (546 nm) et Z (436 nm)) puis calculent leur valeur relative x et y ($x+y+z = 1$) qu'ils rapportent sur le diagramme de chromaticité de Henry. Cependant, malgré l'objectivité de cette technique et les possibilités de dérivation des courbes, les essais sur différents types de miels donnent des résultats inattendus et très différents de la perception humaine. De plus, il a été constaté que les miels perdent leurs allures caractéristiques au bout de deux mois de stockage à la lumière du jour, rendant l'exploitation des résultats difficiles.

En 2014, (Tuberoso et al.) ont travaillé sur les coordonnées spectro-photométriques (en mode transmittance) de chromaticité CEI $L^*C_{ab}^*h_{ab}^*$ (en coordonnées polaires) pour discriminer 17 miels monofloraux (305 échantillons de différents pays d'Europe). Ils apportent une preuve statistique du pouvoir de cette technique à différencier entre les miels d'origines florales diverses et ouvrent une voie prometteuse pour la mesure objective de la couleur des miels.

II.3.3.2 Pouvoir rotatoire spécifique

Le miel étant une solution de sucres, il a la capacité de faire tourner le plan de la lumière polarisée. Chaque sucre contribuera par sa rotation spécifique qui peut être dextrogyre ou levogyre. Le rendu final, selon la loi de Biot, sera la somme des pouvoirs

* $L^*c^*h^*$ est un espace de couleurs sous forme de sphère, généralement plus explicite que le système $L^*a^*b^*$. Il comporte trois axes.

- L^* : la luminance. Un axe vertical allant de 0 à la base (noir) à 100 au sommet (blanc).

- c^* : la saturation'. Elle évolue entre 0 au centre du cercle (gris, blanc ou noir), à 100 aux bordures du cercle et qui représente des couleurs de puretés absolue.

- h^* : les teintes. On le comptabilise en degré d'angle (entre 0° pour le rouge, 90° pour le jaune, 180° pour le vert et 270° pour le bleu.

spécifiques des sucres présents multiplié par leurs concentrations. Cette analyse peut indiquer les différences entre miels de nectar, pour la plupart levogyres et de miellats, souvent dextrogyres, mais peut aussi révéler certaines spécificités en rapport avec l'origine florale. L'analyse est conduite sur une solution standardisée à 0,1g/ml de miel, clarifiée et stabilisée au moins pendant 12 h, pour éviter le phénomène de mutarotation (Battaglini and Bosi, 1973).

II.3.3.3 Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique a été utilisée depuis les années 60 pour l'analyse de routine des miels. Elle nécessite un matériel peu coûteux (cellules conductimétriques) et est très facile à réaliser, ce qui en fait une technique usuelle. Elle est utilisée d'abord pour différencier les miels de nectar de ceux de miellats, puis elle a définitivement remplacé la détermination du taux de cendre qui est une analyse destructive consommant beaucoup d'énergie (fours à moufle) et de temps.

Sur la base d'une étude extensive sur des centaines de résultats du monde entier, Bogdanov et al. (1999) ont mis en évidence la forte corrélation entre la composition minérale et la conductivité électrique (Bogdanov and al. (21 members of IHC) (1999). à partir de 2001, la commission européenne et le *Codex Alimentarius* ont décidé d'inclure ce paramètre dans la gamme des analyses du miel. Ensuite en 2004, Persano oddo et Piro, ont appuyé l'importance de la conductivité électrique en prouvant que ce paramètre avait un très fort pouvoir discriminant pour l'identification des miels monofloraux (Persano Oddo and Piro, 2004).

II.3.3.4 Analyse des carbohydrates

La matière sèche du miel est composée, comme déjà vu, de près de 95 % de sucres. Le pourcentage relatif du fructose et du glucose est un paramètre important pour différencier les miels d'origines florales diverses, mais surtout pour des considérations de contrôle des fraudes (Sabatini et al., 1989), notamment l'adultération par les sucres invertis, les sirops de maïs, le sucre de canne ou de betterave, les sirops issus de l'amidon et des dextrines.

L'approche classique étant de combiner le dosage des sucres majeurs avec d'autres paramètres pertinents tels que le taux de proline, la présence ou l'absence d'oligosaccharides et de pollens et le taux de HMF comme indicateur des traitements thermiques et de l'inversion acide des sucres. Ces nombreuses manipulations rendant le contrôle laborieux et difficile à interpréter (nature de l'adultérant), les chercheurs se sont

intéressés alors à des techniques ne nécessitant aucune préparation spécifique de l'échantillon, analysant plusieurs paramètres en même temps avec un pouvoir d'identification décisif des adultérants et de leur quantité. C'est le cas de la spectroscopie Raman à transformée de Fourier (Raman-TF) utilisée pour la détection des sirops de canne et de betterave (Paradkar and Irudayaraj, 2001) et des sirops de maïs riche en fructose et en maltose (Li et al., 2012).

Pendant longtemps, les oligosaccharides n'apportaient pas beaucoup d'informations sur l'origine botanique des miels car ils sont, pour la majorité, issus de l'action des invertases sur les monosaccharides des nectars, mais certains, comme le mélezitose et le raffinose, ont été considérés comme spécifiques aux miellats. Aujourd'hui avec la spectroscopie à résonance magnétique nucléaire du proton (^1H RMN), la vision est toute autre. Non seulement le profil complet des saccharides peut différencier les miels d'origines florales différentes mais la ^1H RMN a la capacité de discriminer entre des miels de la même origine florale mais de pays différents ou de régions différentes du même pays (Consonni et al., 2013).

Les techniques harmonisées utilisées pour le dosage sont nombreuses, telle que les diverses chromatographies (HPLC avec détecteur à indice de réfraction, ou d'échange ionique ; HPAEC-PAD chromatographie haute performance d'échange anionique avec détecteur ampérométrique pulsé ; CPG avec dérivation, détecteur FID). Ces techniques donnent des résultats comparables pour le fructose, le glucose et le saccharose mais plus disparates les oligosaccharides.

Il existe aussi des méthodes chimiques ou enzymatiques classiques telles que la quantification des sucres réducteurs et non réducteurs par méthode spectrale après réactions spécifiques. Elles donnent une estimation globale de la somme du fructose/glucose et un pourcentage approximatif du saccharose après hydrolyse acide. Ce manque de précision provient du fait que les oligosaccharides peuvent interférer dans ce genre de réactions (Bogdanov, 1997a).

Des informations annexes peuvent être tirées après quantification des sucres tel que les ratios fructose/glucose et glucose/eau qui ont la capacité de mettre en avant les spécificités des monofloraux. Ils donnent aussi des informations utiles concernant le comportement

physique futur des miels, notamment la rapidité de cristallisation, la taille des cristaux et la texture en général (Gonnet, 1982, 1993; Persano Oddo and Piro, 2004).

II.3.3.5 pH et l'acidité

Comme déjà cité, les miels ont tous un caractère acide et leurs pH oscillent entre 3,5 et 5,5 et ce à cause de la présence d'acides organiques. Cette acidité participe à la conservation du produit vis-à-vis des micro-organismes. L'acide dominant est l'acide gluconique et son dérivé lactone présents dans différents équilibres, ce qui constitue l'acidité libre et l'acidité liée des miels. Il a été prouvé que l'acidité libre et le pH avaient un pouvoir de discrimination entre les monofloraux alors que l'acidité lactonée (liée) était trop variable pour donner des indications utiles (Bogdanov et al., 2004; Persano Oddo et al., 1986).

II.3.3.6 Proline

Pendant longtemps, la proline a suscité des doutes quant à sa provenance mais il a été prouvé que c'était un acide aminé ajouté par l'abeille et qu'en conséquence il pouvait être considéré comme indicateur d'éventuelles fraudes par addition de matières étrangères au miel (Von-der-Ohe et al., 1991). Sa teneur est facilement déterminée par spectrophotométrie dans le visible. La grande variabilité des résultats au sein du même groupe de monofloraux ne permet pas de l'utiliser seul pour l'indication d'une origine florale.

Les méthodes de l'IHC et de l'AOAC ont été comparées à la méthode originelle de dosage de la proline publiée par Ough (1969). En 2014 il a été prouvé que les précautions de temps prises par l'IHC n'avaient pas d'impact majeur sur les résultats et que 35 min de temps d'attente après le bain bouillon suffisait au développement de la couleur mesurée. La limite de détection est de 20 ppm, la limite de quantification étant autour de 60 ppm et le domaine de linéarité pouvant aller jusqu'à 1 800 ppm. Ceci fait de cette technique un outil fiable pour la détermination du taux de proline dans les miels (Truzzi et al., 2014).

II.3.3.7 Diastase et invertase

La diastase et l'invertase sont des enzymes ajoutées par l'abeille au miel. Cependant, leurs taux changent considérablement dans les miels. Cette hétérogénéité est due à plusieurs facteurs dont l'abondance des nectars et à l'état physiologique des glandes de l'abeille pendant la saison productive (Persano Oddo et al., 1990; Persano Oddo et al., 1999). Le système enzymatique des miels est fragile et s'affaiblit jusqu'à disparaître avec

le temps et avec les accidents thermiques (mauvais stockage, exposition au soleil). Aussi, il ne peut être considéré pour la caractérisation que sur des miels frais, sinon c'est un bon indicateur de fraîcheur du produit.

Les méthodes adoptées par l'IHC sont des méthodes basées sur la dégradation du substrat utilisé naturellement par l'enzyme dans des conditions optimales de pH et de température, suivie par une lecture spectrophotométrique de la quantité résiduelle de substrat (Persano Oddo et al., 1999; Von der Ohe et al., 1999). Le tableau 7 donne un aperçu sur l'évolution des enzymes à travers le temps dans différentes conditions de stockage.

Tableau 7 : L'action de la température sur les enzymes (Gonnet, 1993).

Température de chauffage ou de conservation (°C)	Période Diastase(j)	Période Invertase(j)	Temps de conservation si 20 unités diastasiques initiales
10	12 600	9 600	Environ 45 ans
20	1 480	820	Un peu plus de 5 ans
25	540	250	Presque 2 ans
30	126	48	5 mois et demi
40	31	10	41 j
50	15	32 h	20 j
60	16 h	3 h	21 h
70	4 h 30 min	40 min	6 h
80	1 h 10 min	8 min	1 h 30 min

j : jours ; h : heures ; min : minutes

II.3.3.8 Humidité

C'est un paramètre de qualité des miels ; il est déterminant pour apprécier la durée de vie du produit et sa sensibilité vis-à-vis des fermentations. Toutefois, il peut être modifié d'une façon artificielle pendant les opérations technologiques d'extraction et de maturation. Il a une importance mineure quant à la détermination de l'origine florale mais est grandement influencé par les climats, les régions et les saisons. En revanche, il affecte, d'une façon importante, le comportement rhéologique des miels (viscosité) et leur cristallisation (Bogdanov, 1997a; Bogdanov and al. (21 members of IHC), 1999; Persano Oddo and Piro, 2004).

Les techniques analytiques utilisées pour la détermination du taux d'humidité sont l'utilisation des réfractomètres Abbé analogiques ou numériques et donnent selon la table de Chataway une correspondance à la quantité d'eau présente dans le miel. Cependant, cette quantité est considérée comme étant légèrement inférieure aux valeurs réelles qui ne peuvent être données que par la méthode de titrage Karl Fischer (Bogdanov and al. (21 members of IHC), 1999; Gallina et al., 2010; Rüegg and Blanc, 1981). Une autre étude de Sanchez et al. (2010) a encore prouvé que les deux méthodes donnent des résultats comparables et satisfaisants pour la quantification de l'eau dans les miels et les solutions à haute concentration en sucres (Sanchez et al., 2010).

II.3.3.9 HMF (5-HydroxyMéthyleFurfural)

Cette molécule ne se trouve pas, ou peu, dans les miels frais et ne peut donc pas être prise en compte pour l'authentification d'une origine florale d'un miel. Cependant, elle apparaît avec le temps par un mécanisme de déshydratation en milieu acide du fructose (essentiellement). Son accumulation indique un vieillissement ou un mauvais traitement thermique. Elle est déterminante pour indiquer la DLUO d'un miel (date limite d'utilisation optimale).

Le HMF est un des premiers intermédiaires de la déshydratation des glucides. La réaction est limitée mais spontanée, même à température ambiante si le milieu est aqueux et acide, ce qui est le cas de tous les miels. Son accumulation est accélérée par l'augmentation de la température et de l'acidité. En effet, plus un miel est acide et stocké à température élevée, plus rapidement il atteindra la limite légale de 40 mg/kg. Le tableau 8 donne quelques éléments sur l'évolution de ce paramètre en fonction de la température.

Tableau 8 : Temps mis par des miels pour atteindre 40 mg/kg (Gonnet, 1993).

Température de stockage (°C)	Durée pour atteindre 40 mg/Kg
4	20 à 80 ans
20	2 à 4 ans
30	0,5 à 1 an
40	1 à 2 mois
50	5 à 10 j
60	1 à 2 j
70	6 à 20 h

j : jours ; h : heures

La technique principale adoptée par l'IHC pour la quantification du HMF est la technique de White. Elle utilise la capacité qu'a la molécule de HMF à absorber le rayonnement lumineux à 284 nm (White et al., 1979). Cependant, il existe d'autres techniques pouvant être utilisées, telles que l'analyse par HPLC (Bogdanov, 1997a) et la méthode de Winkler fortement critiquée à cause de l'utilisation de la *p*-toluidine (Bogdanov, 2009). La figure 11 montre la structure de cette molécule et de ses homologues issus de la réaction de Maillard.

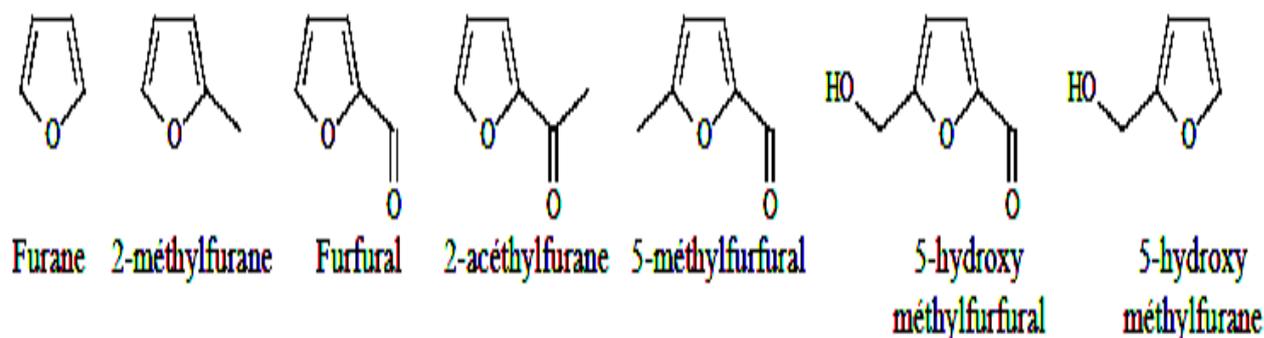


Figure 11 : Principaux furanes et furfurals produits par la réaction de Maillard (LeBlanc et al., 2009).

II.3.4 Chimiométrie

La Chimiométrie est une discipline qui s'est imposée dans les années 80 suite à la demande récurrente des analystes, surtout dans le domaine alimentaire, d'outils pouvant aider à fixer les intervalles pertinents pour certains produits d'importance économique tels que les huiles d'olive. Elle a comme objet la création de modèles mathématique et statistique sur la base des données analytiques pour obtenir de l'information utile. En outre, elle joue sur les particularités des données acquises et est utilisée dans différents domaines, tels que la recherche sur les aliments et en particulier l'authentification de leur origine.

Cette science offre une large palette d'outils pour développer des règles de prise de décision se rapportant à la provenance de la matrice étudiée. Elle offre l'avantage de prendre en charge les aspects importants de traçabilité, de sauvegarde et d'actualisation des données. Elle met à disposition des chercheurs un outil simple, robuste qui prend en charge les données défectueuses et qui donne des indications convertissables en un ensemble de spécifications.

L'approche chimiométrique se base sur le spectre analytique global même si les constituants ne sont pas individuellement identifiés. Les spectres obtenus sont analysés pour mettre en évidence ce qui démarque un groupe d'échantillon d'un autre. Cette démarche peut même être utilisée pour désigner les molécules utiles comme « biomarqueurs » et ce en appliquant ces mêmes outils à l'analyse qualitative et quantitative de certains constituants de la matrice étudiée (Vandeginste, 2013).

Plusieurs outils ont été mis à la disposition des chercheurs, nous citerons :

- Les analyses linéaires de LDA et SIMCA
- Les analyses des données non linéaires SVM et ANN
- Les analyses multivariées comme le ACP et PLS.

De meilleures techniques de classification ont aussi vu le jour, comme des méthodes utilisant les arbres de décisions basées sur la sélection des variables les plus influentes quant à la résolution d'une problématique donnée.

Il nous paraît, ici, important de signaler que la qualité des modèles obtenus dépend principalement de la représentativité des échantillons et de la qualité des données analytiques. Aussi, l'échantillonnage doit être statistiquement valable et ce par l'évitement

des présélections subjectives. Ceci permet de se rendre compte de l'hétérogénéité naturelle de la matrice étudiée. Chaque échantillon devra aussi être accompagné de données accessoires (producteur, méthode de production, année de récolte, région, maladies au cours de la production, pesticides utilisés, etc.) qui le placeront dans un espace multivariable (Vandeginste, 2013).

Vient ensuite le problème des données défectueuses (censurées, manquantes, extrêmes), auxquelles les statisticiens proposent plusieurs solutions qui affectent le moins possible la robustesse des modèles.

Le miel est un des produits alimentaires qui profite aujourd'hui des progrès de la chimométrie. Nous donnerons ici quelques exemples d'études ayant utilisé cet outil avec succès. Nous citons l'étude de Kelly et al. en 2004 sur l'adultération des miels par des solutions de sucres et l'analyse par spectroscopie MIR (moyen infrarouge) (Kelly et al., 2004), l'authentification et le contrôle d'adultération d'Arvanitoyannis et al. en 2005 (Arvanitoyannis et al., 2005), l'étude sur l'analyse de la fraction volatile par CG-MS pour l'authentification de l'origine florale de Baroni et al. en 2006 (Baroni et al., 2006), etc.

II.4. Propriétés thérapeutiques et activités biologiques du miel

Depuis toujours, il a été attribué au miel des vertus thérapeutiques, ce qui a ancré son utilisation dans les médecines traditionnelles et les pratiques folkloriques. Des premières études sur l'effet des miels dans la cicatrisation et le traitement des brûlures, sur l'effet antimicrobien et ses différents aspects, nous arrivons aujourd'hui à le considérer comme aliment fonctionnel qui améliore l'état de santé général et qui devra jouer un rôle important dans la ration alimentaire (The National Honey Board, 2004).

II.4.1 Miel et diabète

Pour le diabète, il existe une grande controverse quant à l'utilisation avantageuse du miel à la place des sucraants habituels, à savoir le saccharose pour la plupart du temps. Habituellement, on utilise l'indice glycémique (IG) pour donner une indication sur la quantité de glucose prévisible dans le sang après une prise alimentaire. Cependant, il s'avère que la quantité totale de glucides dans la ration est beaucoup plus significative et ceci peu importe l'origine de ces glucides ; c'est pour cela que les résultats paraissent très hétérogènes.

D'un autre côté, malgré que l'IG du fructose soit de 19 contre 68 pour le saccharose et 100 pour le glucose, les miels eux ont des IG très variables allant de 35 à 89, dépendant du taux d'humidité, des proportions fructose/glucose et même de la quantité des sucres totaux. La notion d'indice glycémique a été alors remplacée par celle de charge glycémique (CG), qui s'avère plus significative :

$$CG = IG * \frac{\% \text{ glucides totaux}}{100}$$

La charge glycémique classe les aliments en trois catégories :

- Aliments à faible charge (CG < 10)
- Aliments à moyenne charge (10 < CG < 20)
- Aliments à haute charge glycémique (CG > 20).

Vu leur composition globale, les miels sont, généralement, classés dans les deux premières catégories et devront donc être consommés avec discernement pour la catégorie des malades diabétiques (type I ou II) (Bogdanov, 2010).

II.4.2 Miel, obésité et alimentation infantile

Les problèmes de surpoids aux USA ont été reliés à la surconsommation de fructose industriel (sirop de fructose issu du maïs). En effet, l'ingestion du fructose augmente la lipogenèse De Novo et perturbe la régulation énergétique, ce qui conduit au surpoids. Son remplacement par du miel s'est avéré bénéfique dans le sens où il ne perturbe pas le métabolisme lipidique et ne conduit pas à des changements de poids (Bogdanov, 2011).

Par contre en nutrition infantile, beaucoup de bienfaits du miel ont été signalés, tel que la croissance rapide, une meilleure composition sanguine (hémoglobine), une meilleure couleur de peau, très peu de problèmes digestifs et une meilleure résistance aux maladies. Ceci a été relié à l'action des oligosaccharides sur la flore intestinale et à l'amélioration du processus de digestion (Rivero-Urgell and Santamaria-Orleans, 2001).

II.4.3 Activité antimicrobienne et santé humaine

Plusieurs agents pathogènes ont été prouvés sensibles aux miels. Nous citerons par exemple : *Bacillus anthracis* (agent de l'anthrax), *Corynebacterium diphtheriae* (diphthérie), *Escherichia coli* (diarrhées, septicémie, infections urinaires, infection des

brûlures), *Klebsiella pneumoniae* (pneumonie), *Proteus* spp. (Tuberculose), *Pseudomonas aeruginosa* (brûlure), *Salmonella* spp. (Diarrhées, septicémie, typhoïde, infection des brûlures), *Shigella* spp. (Dysenteries), *Staphylococcus aureus* (abcès), *Streptococcus* spp. (Carries dentaires, affections de l'oreille), *Vibrio cholerae* (choléra), le ténia et *Helicobacter pylori* (ulcère peptique). La liste n'étant qu'indicative car le miel a une action aussi sur certains virus (Rubella, Herpes), certains parasites (*Leishmania*) et une action fongicide sur la plupart des mycoses humaines.

L'action sur ces microorganismes peut être directe, c'est-à-dire que le miel inhibe le développement des bactéries (surtout à Gram+), soit par action bactériostatique ou bactéricide. Ces effets ont été reliés dans un premier temps à la capacité des miels à produire du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 fort antimicrobien), mais aussi à l'existence d'un complexe de composés appelés Inhibines non peroxydes comprenant des molécules de natures chimiques très variées (polyphénols, flavonoïdes, sucres, acides, mélanoides, protéines). Il faut préciser toutefois que seulement les miels frais et qui n'ont subi aucun chauffage, possèdent le potentiel antibactérien le plus grand (Bogdanov, 2011).

L'action indirecte consiste en un effet immuno-activateur, anti-inflammatoire et prébiotique. Il a été prouvé que le miel avait une action anti-oxydante dans le plasma humain, ce qui diminue le « stress oxydatif » qui déséquilibre l'organisme. Les molécules concernées sont les polyphénols et les produits de la réaction de Maillard. En effet, l'activité anti-radicalaire est impliquée dans la prévention de plusieurs pathologies chroniques liées au vieillissement comme le cancer, le diabète, l'athérosclérose, la cataracte et les maladies neurologiques chroniques. C'est pour cette raison que le miel a été associé à la prévention de ces maladies (Ames et al., 1993).

II.4.4 Miel et activité anti-inflammatoire

Le miel est doté d'une très bonne activité anti-inflammatoire. Les études de Al-Waili and Boni (2003) ont prouvé que l'ingestion de 70 g/j de miel pendant 15 jours a diminué significativement les indicateurs d'inflammation sanguins, à savoir les thromboxanes B2, les prostaglandines PGE2 et PGF (2 α) de 48, 63 et 50 % respectivement, et que l'effet commence très tôt à se voir (3 à 4 h après ingestion). Le mécanisme suggéré est l'élimination des radicaux libres des cellules inflammées. Ceci a été aussi relié à la prévention des maladies cardio-vasculaires d'origine inflammatoire, plus un effet stabilisateur de la tension artérielle (Bogdanov, 2011).

II.4.5 Miel, activité antimutagène et anti-tumorale

Nous savons, aujourd'hui, que certaines molécules issues de la friture et du rôtissage sont des promoteurs de la mutation de la structure génétique chez l'homme. Les miels montrent une inhibition de ces molécules par leur composition en glucides. En effet, il a été prouvé que le fructose, le glucose et le nigerose étaient plus antimutagènes que le saccharose et le maltose (Wang et al., 2002).

L'action anti-tumorale et anti-métastatique des miels a été reliée à la réactivation du système immunitaire, à l'action anti-inflammatoire et anti-oxydante et à la relance de l'apoptose naturelle des cellules. Ces études ont touchés surtout le cancer du côlon et celui du sein (Bogdanov, 2011).

II.4.6 Miel, effet immuno-activateur et immuno-supresseur

L'ingestion de miel provoque l'augmentation des lymphocytes types B et T et active les neutrophiles. Les mécanismes proposés sont la présence de molécules traces issus de la gelée royale et qui sont immuno-stimulateurs telles que l'Apalbumine 1. Dans certains cas, l'effet inverse est observé par l'inhibition des phagocytes myeloperoxydases causant une immuno-baisse particulièrement bénéfique pour les maladies auto-immunes et de sur-réactions allergiques (Al-Waili and Haq, 2004).

II.4.7 Miel, effet prébiotique et probiotique

L'activité prébiotique des miels a été reliée aux fructo-oligosaccharides, le panose étant le plus actif de cette série. Par leur action synergiste sur les bifidobactéries et les lactobacilles, cet effet est remarquable avec des miels très frais (2 à 3 mois d'âge) (Ustunol, 2000). D'autres effets ont été notés dans les essais animaliers, tels que la diminution de l'anxiété, l'élargissement du champ spatial de la mémoire, l'amélioration de l'absorption du calcium, l'augmentation de la fertilité et la diminution des symptômes de la ménopause (Bogdanov, 2011).

II.5. Recherche des polluants dans le miel

Les colonies d'abeilles explorent intensivement leur environnement, c'est pour cela que l'abeille a été qualifiée d'indicateur idéal de la qualité de l'environnement, car elle est en permanence exposée aux contaminants de son entourage pendant sa quête de nourriture.

Les abeilles et les produits apicoles sont contaminés par des substances qui proviennent de cet entourage, de l'agriculture et de la pratique apicole elle-même.

En effet, l'abeille transporte par le biais de l'eau et de l'air les polluants jusque dans la colonie, aussi, elle fréquente les plantes qui peuvent se charger de substances toxiques par l'air, l'eau ou le sol et après en avoir butiné le nectar ou le pollen, l'abeille les ramène dans la ruche.

S'il est impossible aux apiculteurs de savoir quelles substances toxiques sont présentes dans la ruche ou autour de celle-ci, il est en revanche important de savoir d'où elles proviennent, leurs quantités respectives et leur toxicité.

La qualité des produits apicoles préoccupe aussi bien les apiculteurs que les consommateurs, Qu'en est-il pour le miel spécifiquement ?

Etant issu d'un processus naturel de bioaccumulation, le miel a été pressentie assez tôt comme un bon bio-moniteur pour identifier la contamination environnementale et pour quantifier le niveau de certains polluants du sol, de l'eau, des plantes et de l'atmosphère. Mais sur le terrain, sa nature chimique et son mode d'élaboration font qu'il ne peut l'être pour tous les polluants, comme nous l'exposons ci-après.

II.5.1 Le miel et la contamination radioactive

Malgré le fait que le miel ait été utilisé comme indicateur de contamination radioactive à proximité de centrales nucléaires ou à différents endroits après des accidents radioactifs, Gilbert et Lisk in Machado De-Melo et al. (2017) n'ont détecté aucune émission bêta ou gamma dans aucun des échantillons prélevés à proximité d'une usine de retraitement nucléaire.

Tonelly et al. In Machado De-Melo et al. (2017) ont trouvé de l'iode, du césium et du ruthénium radioactifs dans les échantillons collectés dans différentes régions d'Italie, en déterminant les rapports I^{131} / Cs^{137} et Ru^{103} / Cs^{137} , ces chercheurs ont affirmé que, parmi

les produits apicoles, le miel était le pire indicateur de contamination radioactive de l'environnement, le pollen étant le meilleur, ce qui est dû au fait que la teneur radioactive du miel dépend de différents facteurs, tels que l'étendue des retombées déposées, le moment de la collecte, le laps de temps écoulé entre deux extractions de miel et l'origine botanique du miel.

II.5.2 Le miel et la contamination aux métaux lourds

Le miel a été considéré comme un indicateur potentiel de pollution par les métaux lourds dans différentes études et dans différentes zones, telles que les zones rurales, urbaines et industrielles, ainsi que dans les carrefours extra-urbains (Escriche et al., 2009a; Popa et al., 2013).

Ces chercheurs ont trouvé des concentrations faibles et variables de métaux lourds dans le miel, attribuant la variabilité à des facteurs tels que la source florale, la saison, la période de l'année et les précipitations, entre autres. Pour cette raison, qu'ils ont conclu que le miel ne pouvait pas être utilisé comme un indicateur fiable et sensible pour ce type de polluants. Fakhimzadeh and Lodenius (2000) vont dans le même sens, affirmant également que les abeilles elles-mêmes étaient de meilleures bio-indicatrices de la pollution industrielle et urbaine par les métaux lourds. Conti and Botré (2001) dans une étude sur des zones entourant la ville de Rome et son centre-ville, ont trouvé des différences statistiquement significatives entre les niveaux de métaux lourds chez les abeilles mellifères et, dans une moindre mesure, dans le pollen, la propolis et la cire, mais pas dans le miel).

Ceci-dit, d'autres chercheurs ont signalé des concentrations plus élevées de métaux lourds dans les miels des zones urbaines et industrielles polluées que dans les miels des zones rurales non polluées (Lambert et al., 2012; Rashed et al., 2009). Bastías et al. (2013) ont démontré que la pollution à l'arsenic dans le miel peut provenir à la fois d'activités naturelles (éruption volcanique) et anthropiques (minières). Enrich et al. (2007) ont trouvé des niveaux élevés de Zn, Pb, Cr et As dans certains échantillons qui dépassaient les lignes directrices pour la protection de la santé humaine. Des valeurs élevées de Zn pourraient être dues au contact du miel avec l'extracteur métallique ; et les valeurs élevées d'As ont été trouvées dans les zones contaminées par ce dernier. Bazeyad et al. (2019) ont eux aussi trouvé que le taux important de zinc dans les 33 échantillons de miel de la région d'Al-

baha en Arabie Saoudite ont été reliés à l'utilisation d'ustensiles galvanisé dans la récolte et l'extraction.

En résumé, le miel n'est pas un indicateur fiable de la contamination par les métaux lourds et Conti and Botré (2001) indiquent que le pollen, la cire, la propolis et l'abeille elle-même sont de meilleurs pour cette tâche. Néanmoins, Davodpour et al. (2019) constatent que les miels de miellat sont nettement plus contaminés que ceux de nectar, car les surfaces sur lesquelles le miellat est déposé par les pucerons sont fortement exposées à la pollution de l'air alors que les nectaires des fleurs sont bien protégés. Les valeurs de métaux lourds enregistrées par ces auteurs ne représentent cependant aucune mise en danger pour la santé des consommateurs, on suppose alors que les abeilles ont elles même un effet de filtre, car ils constatent, en analysant des abeilles, que les valeurs de contamination sont beaucoup plus élevées que celles détectées dans le miel. Il a été établi l'ordre suivant de contamination : Abeille- propolis- cire de rayon puis miel.

II.5.3 Le miel et la contamination par les pesticides

Les résidus de pesticides issus des applications agricoles persistent dans l'environnement et ils ont tendance à s'accumuler dans les plantes à partir de sols pollués (Panseri et al., 2014).

Balayiannis and Balayiannis (2008) ont étudié la pollution de différentes zones agricoles de Grèce par des insecticides, en utilisant le miel de ces zones comme bio-indicateur. Ils ont conclu que la contamination du miel par les pesticides était étroitement liée à la source de contamination.

Ils affirment que le miel peut rendre compte de la contamination de l'aire de butinage, surtout des terres cultivées qui subissent des traitements phytosanitaires. Il sert surtout à détecter les mauvaises pratiques et les utilisations inappropriées des pesticides, mais il faut signaler que les pesticides agricoles ne se sont pas retrouvés dans tous les miels, le contaminant le plus constant étant l'acaricide « coumaphos » utilisé contre le Varroa (Balayiannis and Balayiannis, 2008). Mais les teneurs étaient 1000 fois plus faible qu'attendu, cet état de fait est attribué à l'effet de filtre exercée par les abeilles ainsi qu'à la nature chimique des molécules étudiées. La plupart des pesticides sont liposolubles et peuvent donc s'accumuler dans la cire et dans une faible mesure dans le miel ; le degré de

contamination des différents produits apicoles étant le suivant: propolis > cire > pollen > miel (Johnson et al., 2013).

Alors que les teneurs dans le miel se situent nettement en dessous des valeurs de tolérance, la propolis et la cire sont rendues impures par l'utilisation répétée d'acaricides. Ces traitements se révèlent persistants, il faut compter au moins 20 ans avant qu'ils ne disparaissent de la cire gaufrée.

Dans d'autres études, on retrouve des taux importants d'acide oxalique dans le miel, raison pour laquelle il faut déferer son utilisation à l'hiver.

II.5.4 Le miel et les autres polluants environnementaux

Fermo et al. (2013) ont trouvé des concentrations plus élevées de certains cations et anions dans les Balkans occidentaux que dans les régions italiennes, attribuant ce fait aux activités industrielles et agricoles locales. Ponikvar et al. (2005) citent que le miel est un bon indicateur de pollution atmosphérique par les sulfates, il est admis que les miels natifs n'en contiennent pas, alors que les miellats en contiennent à des quantités importantes allant jusqu'à 73 mg de SO₂/100 g.

II.5.5 Le miel et les mauvaises pratiques apicoles

On peut aussi retrouver des résidus d'antibiotiques dans le miel, ils proviennent apparemment des traitements de lutte contre la loque américaine, alors que l'utilisation d'antibiotiques dans les colonies d'abeilles est interdite par l'Union européenne, le miel ne devrait donc pas contenir de résidus. Les analyses relatives aux résidus effectuées jusqu'à présent porte à croire que l'utilisation d'antibiotiques constitue certainement le plus grand problème de l'apiculture moderne (Benetti et al., 2006; Bohm et al., 2012; Kaufmann et al., 2002).

Les agents de préservation du bois ainsi que les peintures utilisées pour le protéger ne devraient pas contenir non plus d'insecticides ou de fongicides qui puissent contaminer la ruche. Lors de la récolte du miel, il ne faudrait pas utiliser non plus des substances répulsives telles qu'en contiennent les sprays pour éloigner les abeilles.

II.6 Revue des travaux nationaux sur la qualité des miels

L'intérêt croissant pour l'apiculture, lié à ses retombées environnementales et économiques positives, a boosté la production nationale induisant ainsi un besoin croissant pour des études scientifiques de caractérisation. Pour ces trois dernières décennies, de nombreux travaux de caractérisation ont été menés. Nous citons, à titre d'exemple, les travaux :

- Sur l'analyse pollinique réalisés par Louveaux and Abed (1984) incluant très peu de miels des régions semi-arides, mais donnant une idée sur la diversité floristique de nos territoires sur 59 échantillons collectés entre 1949 et 1982,

- De Chefrou et al. (2007) sur 13 miels de la région Nord-Est (Annaba) collectés en 2001, en majeure partie présumés toutes fleurs,

- De Ouchmoukh et al. (2007); (Ouchmoukh et al., 2010) sur 11 échantillons de miels de Bejaïa,

- De Makhloufi et al. (Makhloufi et al., 2010; Makhloufi et al., 2007) sur la caractérisation de 66 échantillons du Nord du pays (région Ouest, Centre sur 19 wilaya) collectés entre 2003 et 2005. La qualité globale a été étudiée et l'analyse des spectres polliniques montre les espèces les plus rencontrées,

- De Benaziza-Bouchema and Schweitzer (2010) sur 28 miels de la plaine de la Mitidja (4 wilaya),

- De Zerrouk et al. (2013) sur la caractérisation des miels de sulla. 12 monofloraux de sulla ont été collectés pendant la campagne 2009 de 12 localités différentes de la wilaya de Médéa, une caractérisation détaillée a été réalisée sur ces miels,

- De Amri and Ladjama (2013) sur 20 multifloraux collectés entre 2004 et 2007 dans 6 wilaya de l'extrême Est du pays,

- De Nair et al. (Nair, 2014; Nair et al., 2013) sur 34 échantillons de l'Ouest du pays dont 24 de la wilaya de Mascara,

- De Adjlane et al. (2014) sur 14 miels (9 wilaya) collectés entre 2010 et 2011. La qualité globale a été abordée mais sans confirmation de l'origine florale. L'accent a été mis sur la qualité hygiénique et la propreté microbiologique des miels en question,

- De Draiaia et al. (2014) sur 32 échantillons dont 25 de la wilaya de Souk Ahras et des wilaya limitrophes, collectés entre 2012 et 2013,

- De Mekious et al. (2015) sur 38 échantillons de 11 localités de la wilaya de Djelfa, collectés entre 2012 et 2013.

- De Behidj et al. (2019) sur la compétitivité de la filière apicole en Algérie cas de la région agricole de la Mitidja.

- De Hamrani et al. (2020) sur 62 échantillons de plusieurs régions bioclimatiques.

- De Zerrouk et al.(2020) sur 46 échantillons de jujubier des régions de djelfa et laghouat.

Nous citerons aussi l'ensemble des données de caractérisation de l'ITELV qui couvrent plus de 470 miels (données de 2008 à 2012, non publiés et qui touchent surtout l'humidité, l'acidité, le pH, l'HMF et la couleur).

Dans ces recherches les auteurs rapportent la diversité de la flore mellifère visitée par les abeilles et donnent une idée sur la qualité globale des miels étudiés, le plus souvent sans vérification de l'origine florale et en choisissant chacun certains paramètres utiles à son étude. De ce fait, les résultats nous donnent une information globale très hétérogène avec beaucoup de manquants, ce qui rend très difficile les comparaisons et le regroupement des données.

Les travaux réalisés entre 1984 et 2015 rapportent différentes origines botaniques (monofloraux et multifloraux), produits dans les différentes régions mellifères du pays, à savoir l'algérois, le constantinois, l'oranien et la steppe, incluant 38 wilaya (Alger, Blida, Sétif, Bouira, Médéa, Oran, Chlef, Boumerdes, Tizi Ouzou, Tipaza, Béjaïa, Skikda, Jijel, Constantine, Souk Ahras, Batna, M'sila, Djelfa, Laghouat, Biskra, Tissemsilt, Kenchla, Taref, Ain Defla, Bechar, Annaba, Tiaret, El Bayadh, Sidi Belabes, Tlemcen, Ain Timouchent, Saida, Mila, Bordj Bouarriridj, Ghardaia, Naama, Ghélizane, Tebessa).

Les miels en circulation sur le territoire national (foires du miel, coopératives apicoles, professionnels) sont présumés originaire des espèces suivantes : arbres fruitiers, miellats (forêt), nectar de montagne, toutes fleurs, jujubier, euphorbe, eucalyptus, oranger, bruyère, lavande, romarin, thapsia, asphodèle, sainfoin, atractylis, retam, moutarde, chardon, carvi, thym, carotte sauvage, tamarix, *Pimpinella anisum*, *Trifolium*, *Echium*, harmel, *Cnicus benedictus*, arbousier, ravenelle, bourrache, néflier, caroubier, chêne vert, luzerne, *Sinapis arvensis*.

Les grandes valeurs des écarts types pour certains critères et l'hétérogénéité des répartitions observées sont dues, probablement, au groupement des données sans la prise en considération des origines florales, mais aussi au fait que les auteurs ne donnent aucune estimation de l'âge des miels étudiés, ce qui influence d'une façon importante l'interprétation des résultats d'analyse pour certains paramètres en particulier.

Partie Expérimentale

III.1 Collecte et conservation des échantillons de miels

Pour l'ensemble de cette étude les échantillons de miels ont été collectés sur une durée totale de huit années (2005-2012). Les informations concernant la date de l'extraction, l'âge de l'échantillon, l'origine florale, la région et le mode d'extraction ont été fournies par les apiculteurs pour les miels locaux et ont été prélevés sur l'étiquetage pour les miels d'importation. Tous les échantillons ont été codés puis conservés dans l'obscurité à 4°C jusqu'au moment de l'analyse qui est faite dans le mois ayant suivi leur réception.

Les essais ont été faits en double mais dans les cas où les écarts entre les deux essais sont importants un troisième est effectué.

Le choix des miels étudiés a été orienté par leur disponibilité et leur quasi constance sur le marché. Pendant la durée de l'étude, un soin particulier sera porté à l'échantillonnage. Les miels seront prélevés sur plusieurs saisons, miellées et années pour que les résultats soient fidèles aux réalités du terrain.

III.2. Analyse melissopalynologique qualitative et quantitative

III.2.1 Préparation de l'échantillon

La préparation de l'échantillon consiste à extraire les pollens contenus dans le miel et ceci en les lavant convenablement des sucres et des autres substances. L'objectif est d'avoir une meilleure observation sous microscope et aussi de retarder l'apparition des moisissures sur les lames. Le schéma (Figure 12) suivant explique la procédure codifiée par la commission internationale de botanique :

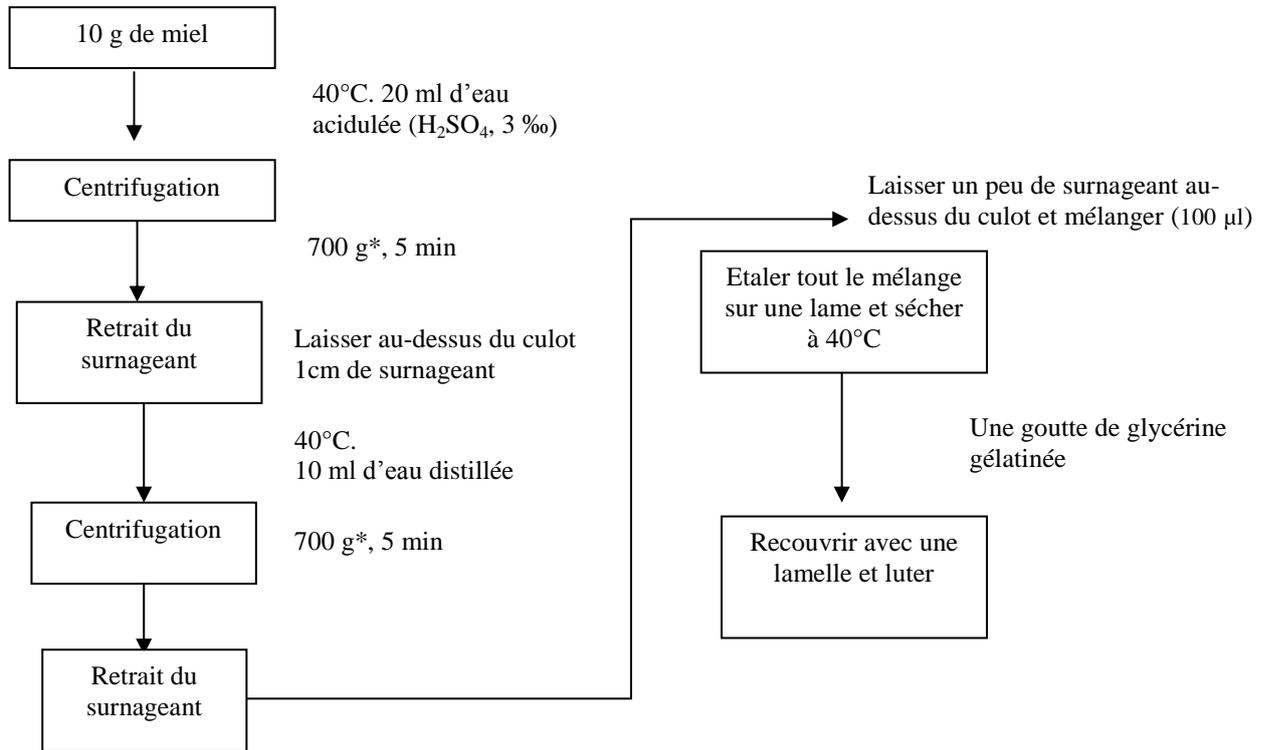


Figure 12 : Schéma de préparation du pollen du miel pour l'analyse melissopalynologique (montage entre lame et lamelle).

III.2.2 Analyse melissopalynologique (montage Woodhouse)

L'observation et le dénombrement se font de pair à l'aide d'un microscope photonique bi-oculaire à grossissement 40 x10. On prépare une feuille qui porte les noms des espèces ou des genres identifiés lors de l'examen préliminaire de la lame et cinq colonnes sont réservées pour le dénombrement des pollens de chaque catégorie. L'identification se fait par comparaison des formes observées aux microphotographies tirées de l'Atlas photographiques et des publications spécialisées des pollens du bassin méditerranéen. On doit identifier :

- Les pollens des plantes nectarifères et pollinifères,
- Les indicateurs de miellat (les algues, les spores et les champignons),
- Les pollens mal formés (non identifiables),
- La catégorie, la famille ou la forme s'il est impossible d'identifier l'espèce exacte.

Chapitre III. MATERIEL ET METHODES

Pour que l'analyse soit la plus fiable possible, il faut quantifier entre 500 et 1 000 grains de pollen et les pourcentages seront calculés uniquement sur la base des espèces nectarifères. Les pollens d'espèces pollinifères seront utilisés comme marqueurs de l'origine géographique ou de la saison. Le profil pollinique est dressé sous forme d'histogramme, base sur laquelle une appellation au miel pourra être donnée.

D'après Louveaux (Louveaux et al., 1978) et Lieux (Lieux, 1980) l'analyse quantitative se fait sur ces mêmes lames, mais il faudrait compter au moins 1 000 grains sur 100 champs équidistants. Le nombre de *fungi imperfecti* (éléments figurés) dans 10 g de miel est calculé selon la formule ci-dessous :

$$N = \frac{F*n}{f*a} \quad \text{Equa. 1}$$

où

N : Nombre total des *fungi imperfecti* trouvés dans 10 g de miel,

F : Surface effective sur la lame,

n : Nombre total des éléments comptés dans les champs observés,

f : Surface d'un champ microscopique,

a : Nombre des champs observés (100).

Sur cette base, le miel est classé en cinq groupes :

Classe I : *fungi imperfecti* < 20 000 /10 g, elle inclut les monofloraux sous-représentés.

Classe II : de 20 000 à 100.000 éléments /10 g, la plupart des miels.

Classe III : 100 000 à 500 000 éléments /10 g, les miels de nectar surreprésentés et les miellats.

Classe IV : 500 000 à 1 000 000 éléments/10 g, miels pressés.

Classe V : > 1 000 000 éléments /10 g, miels pressés.

III.3. Analyses physico-chimique

Les méthodes d'analyse des miels utilisées sont les méthodes de l'IHC (International Honey Commission : Harmonized Methods for Honey (Bogdanov, 1997a)). L'homogénéisation de l'échantillon est obligatoire avant chaque essai.

III.3.1 Teneur en eau

L'humidité du miel est un critère de qualité qui nous renseigne sur la stabilité du miel par rapport à la fermentation et à la cristallisation. La valeur de la teneur en eau (H %) se déduit par l'indice de réfraction (IR), grâce à la table de correspondance de Chataway (Annexe III). L'indice de réfraction augmente avec la teneur en matières solides du miel.

Pour obtenir l'indice de réfraction, il faut introduire quelques grammes de miel homogénéisés dans des flacons à fermeture hermétique, puis les placer dans un bain marie à 50°C ($\pm 0,2$) jusqu'à ce que tous les cristaux de sucres soient dissouts. Laisser refroidir à température ambiante, on mesure l'indice de réfraction à 20°C en employant un réfractomètre Abbé. Ces mesures sont réalisées avec un réfractomètre de marque Atago Nar- 1T- (Japan).

Si la température change au cours de l'analyse l'indice de réfraction est corrigé selon la relation suivante:

$$IR(20^{\circ}C) = IR(T) + (T - 20) * 0,00023 \quad \text{Equa. 2}$$

L'écart entre la température de lecture et 20°C ne doit pas dépasser $\pm 2^{\circ}C$ pour que les résultats restent fiables.

III.3.2 pH et acidité libre (AL)

L'acidité libre du miel est le contenu de tous les acides libres exprimé en milliéquivalents de soude par kilogramme de miel (még/kg). Cette mesure permet le contrôle de l'appellation et donne une idée sur l'âge du miel. Après la mesure du pH d'une solution de miel, la détermination de l'acidité libre se fait grâce à un titrage par une base forte.

Dans une fiole, 10 g de miel sont dissouts dans 75 ml d'eau distillée. La solution est mélangée par agitation magnétique. L'électrode du pH-mètre de marque Jenway immergée dans la solution donne une lecture directe du pH. Cette même solution est titrée avec du NaOH 0,1 N jusqu'au pH de 8,30. Le volume de titrage enregistré servira au calcul de l'acidité libre. Le titrage ne doit pas dépasser deux minutes. L'acidité libre sera calculée selon la relation suivante :

$$AL(\text{még/kg}) = V * 10 \quad \text{Equa. 3}$$

Où V : Volume de titrage (ml) ; 10 : Normalité x 100 (1kg).

III.3.3 Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique est un paramètre qui nous renseigne sur l'origine botanique du miel. Il indique si le miel analysé est un miel de miellat ou de nectar. Elle dépend, en grande partie, du taux de cendre du miel, c'est-à-dire, de sa richesse en minéraux. Le résultat est exprimé en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Cette méthode consiste à mesurer la conductivité électrique d'une solution de miel à 20 % de matière sèche (MS) par un conductimètre électrique. Celui utilisé pour cette étude est de marque Jenway 4510 (Bibby scientifica, UK).

L'équivalent de 20 g de MS de miel est dissout dans 25 ml d'eau bi-distillée puis transvasé dans une fiole de 100 ml où le volume est ajusté avec de l'eau. La conductivité est directement lue sur l'appareil en $\mu\text{S}/\text{cm}$. (la constante $K = 0,999$). Il est impératif de vérifier la conductivité de l'eau utilisée et de corriger par la suite les valeurs lues.

III.3.4 Pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D^{20}$

La rotation optique spécifique $[\alpha]_D^{20}$ est l'angle de rotation de la lumière polarisée à la longueur d'onde de la raie D du sodium à 20°C. C'est un paramètre qui permet de distinguer entre le miel de nectar et le miel de miellat. En effet, les miels de miellat sont pour la plupart dextrogyres, tandis que les miels de nectar sont levogyres, sauf exception. L'angle de rotation d'une solution filtrée (limpide) est mesuré au moyen d'un polarimètre. Le polarimètre utilisé est de marque POLARTRONIC (Schmidt, Germany) avec une cellule de 2 dm et une lampe à sodium (raie D du sodium).

Un poids P de miel correspondant à 10 g de MS est dissout dans de l'eau distillée. 10 ml de solution de Carrez I (ferrocyanure de potassium) sont ajoutés sous agitation vigoureuse puis 10 ml de solution de Carrez II (acétate de zinc) sont additionnés et mélangés. Le volume est ajusté jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée. La préparation est réservée pendant 12 h au moins puis filtrée de façon à obtenir une solution parfaitement limpide. Le tube du polarimètre est convenablement rincé à l'eau distillée puis rempli avec le filtrat et placé sur le trajet polarimétrique pour lire l'angle de rotation α à 20°C. Le résultat est calculé comme suit :

$$[\alpha]^{20}_D = \frac{\alpha * 100}{l * P} \quad \text{Equa. 4}$$

où

α : Angle de rotation lu sur le polarimètre,

l : Longueur du tube du polarimètre en dm (2 dm),

P : Poids de la prise d'essai en matière sèche (10 g) ; 100 : Volume total de la solution.

III.3.5 Hydroxymethylfurfural (HMF)

La mesure de la teneur en HMF, nous renseigne sur l'âge du miel, l'état de sa dégradation ainsi que les mauvaises pratiques de production et de stockage (sur-chauffage). Sa valeur s'exprime en mg/kg de miel.

La détermination de la teneur en HMF est basée sur la détermination de l'absorbance spécifique de la molécule à 284 nm. Pour cela, on détermine la différence entre l'absorbance d'une solution de miel claire (échantillon) et la même solution contenant du bisulfite de sodium (blanc de lecture) qui a pour rôle de détruire l'hétérocycle du HMF.

5 g de miel sont dissouts dans 25 ml d'eau distillée puis transvasés dans une fiole de 50 ml. 0,5 ml de Carrez I et 0,5 ml de Carrez II sont ajoutés dans cet ordre et bien mélangés. Le volume est ajusté avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et la solution est filtrée sur papier filtre. Les premiers 10 ml de filtrat sont rejetés et le reste recueilli dans un tube propre. 5 ml du filtrat sont prélevés auxquels sont ajoutés 5 ml d'eau distillée pour l'échantillon ou 5 ml de bisulfite de sodium pour le blanc de lecture (0,2 %). L'absorbance est prélevée sur un spectrophotomètre (UV/Visible) bi-faisceaux de marque Unicam. Si l'absorbance à 284 nm excède la valeur de 0,600 une dilution du blanc et de l'échantillon doit être réalisée et ce pour respecter le domaine de linéarité de la molécule analysée. Le taux de HMF se calcule de la manière suivante :

$$HMF \text{ (mg/kg)} = \frac{(A_{284} - A_{336}) * 149,7 * 5 * D}{P} \quad \text{Equa. 5}$$

où

A_{284} : Absorbance à 284 nm,

A_{336} : Absorbance à 336 nm,

5 : Poids nominal théorique de la prise d'essai en gramme,

D : Facteur de dilution,

P : Poids de la prise d'essai,

149,7 : Constante calculée sur la base du poids moléculaire du HMF, des facteurs de conversion du poids, du coefficient d'absorption molaire du HMF, du facteur de conversion du volume et de la prise d'essai.

III.3.6 Taux de proline

La teneur en proline est utilisée comme critère de maturité du miel et parfois comme indicateur d'adultération. Une valeur inférieure à 180 mg/kg indique un manque de maturité ou une falsification par addition de sucres invertis ou de saccharose. Le contenu en proline est défini comme la couleur développée à 510 nm avec la ninhydrine comparée à un standard contenant un taux défini de proline.

Chapitre III. MATERIEL ET METHODES

5 g de miel sont dissouts dans 50 ml d'eau distillée puis transvasés dans une fiole de 100 ml et complétés jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. A l'aide d'une micropipette, 0,5 ml de l'échantillon sont prélevés dans un tube, 0,5 ml d'eau distillée dans un deuxième tube et 0,5ml de solution de proline standard dans trois autres tubes. 1 ml d'acide formique puis 1 ml de ninhydrine sont additionnés à chacun des tubes. Les tubes sont de suite couverts et agités vigoureusement pendant 15 min puis placés dans un bain bouillant pendant 15 min avant qu'ils soient transférés dans un bain à 70°C pendant 10 min. Pour stopper la réaction, 5 ml de 2-propanol (50 %) sont ajoutés à chaque tube, puis on laisse refroidir pendant 45 min. L'absorbance à 510 nm des solutions est lue sur un spectrophotomètre de marque Unicam UV/Visible. La lecture est faite par rapport à un blanc contenant tous les réactifs avec de l'eau au lieu du miel.

La teneur en proline est exprimée en mg/kg, elle est calculée par la formule suivante :

$$Proline \text{ (mg/kg)} = \left(\frac{DOe}{DOp}\right) * \left(\frac{P1}{P2}\right) * 80 \quad \text{Equa. 6}$$

où

DOe : Absorbance de la solution de l'échantillon,

DOp : Absorbance de la solution de proline,

P₁ : Nombre de mg de proline dans la solution standard,

P₂ : Poids du miel (prise d'essai) en kg,

80 : Facteur de dilution.

III.3.7 L'activité de la diastase (DN)

L'unité de l'activité de la diastase est définie comme étant le nombre d'enzyme qui convertissent 0,01 g d'amidon pendant une heure de temps à 40°C. La méthode utilisée est la méthode Schade qui utilise l'amidon comme substrat. Elle détermine l'activité diastasique exprimée en unité Schade/g de miel.

La diastase dégrade l'amidon et cette dégradation est observée grâce au changement de la couleur engendrée par l'interaction de l'iode avec l'amidon. On mesure cette intensité par spectrométrie à 660 nm. Le spectrophotomètre utilisé est de marque Unicam UV/Visible.

10 g de miel sont dissouts dans 15 ml d'eau distillée et additionnés de 5 ml de tampon acétate puis transvasés dans une fiole de 50 ml contenant 3 ml de solution de chlorure de sodium (2,9 %). Le volume est ajusté jusqu'au trait de jauge. 10 ml de la solution de miel est placé dans un bain marie à 40°C. Dans le même bain, un tube à essai contenant 10 ml de solution d'amidon (2 %) est placé en parallèle pendant au moins 15 min. 5 ml de

Chapitre III. MATERIEL ET METHODES

solution d'amidon sont ensuite ajoutés à la solution de miel et de cette solution on prélève 0,5 ml auxquels on ajoute 5 ml de solution d'iodure de potassium et le volume d'eau nécessaire (fixé dans des essais préliminaires pour que l'absorbance initiale se situe autour de 0,700). L'absorbance à 660 nm est lue contre un blanc de lecture. Cette opération est répétée toutes les deux minutes jusqu'à ce que l'absorbance soit inférieure ou égale à 0,155.

Il est à noter que la solution d'amidon doit être calibrée en ajustant son absorbance entre 0,745 et 0,770. Ceci est fait par le choix d'un volume d'eau à ajouter pour que la solution ait une absorbance dans l'intervalle cité. Une courbe de l'absorbance en fonction du temps est représentée. Pour le calcul du DN (diastase number) on prend les valeurs de l'absorbance comprises entre 0,155 et 0,456. Le temps t_x correspondant à une DO de 0,235 est utilisé pour le calcul du nombre de diastase selon la formule suivante :

$$DN \text{ (Shade/g)} = \frac{60 \cdot 0,10 \cdot 1 \cdot 300}{t_x \cdot 0,01 \cdot 2} \quad \text{Equa. 7}$$

où

60 : Conversion en heure du temps (60 min),

0,10 : Quantité d'amidon mise en contact du miel en g,

1 : Quantité référence de miel en g,

300 : Facteur de dilution correspondant au prélèvement et manipulation de la solution d'amidon,

0,01 : Quantité d'amidon en g normalement dégradée en 1 h,

2 : Quantité totale de miel utilisée en g,

t_x : Temps pour atteindre une DO de 0,235.

III.3.8 Mesure de l'indice de couleur des miels

L'indice de couleur est l'une des données sensorielles servant de norme pour le miel. Son importance est essentiellement d'ordre commercial. Les miels ont des couleurs naturelles très variées. Toutefois, les longueurs d'ondes dominantes sont comprises entre 570 et 590 nm. Cette mesure s'effectue à l'aide d'un colorimètre (comparateur visuel) qui emploie à cet effet des verres teintés couleur caramel.

Pour déterminer l'indice de couleur d'un miel, ce dernier doit être convenablement liquéfié par chauffage et coulé dans la cuve de verre du comparateur Lovibond équipé de deux disques chromatiques à 9 pastilles. On fait défiler dans l'appareil la gamme colorée du disque choisi à côté de la cuve à échantillon. Quand la couleur observée au niveau des deux compartiments est à intensité égale, on note le numéro de la pastille correspondant.

Les résultats sont, ensuite, traduits en indice de Pfund, grâce à la table de correspondance Lovibond/Pfund (Annexe IV).

III.4 Quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour l'estimation des polyphénols totaux. Elle est basée sur le développement d'une couleur bleue caractéristique mesurée à 760 nm. Une prise d'essai de 0,5 ml (en triplicata) d'une solution de miel à 10 % (filtrée) est mélangée à 2,5 ml d'une solution de folin à 0,2 N, ensuite à 2 ml d'une solution de carbonates de sodium (75 g/l) en mélangeant vigoureusement. Une incubation à l'obscurité de 2 h est nécessaire pour le développement de la couleur. Une courbe d'étalonnage à l'acide gallique (Annexe V) est réalisée dans les mêmes conditions pour pouvoir exprimer les polyphénols du miel en équivalent acide gallique par 100 g de miel (mg EAG/100 g).

Sur cette même solution de miel (10 %) on mesure le taux de flavonoïdes totaux. Pour cela, 0,5 ml sont prélevés, on y ajoute 0,3 ml de $AlCl_3$ (2 %), 0,3 ml de $NaCO_3$ (5 %) et 2 ml de NaOH (1 N) pour la neutralisation. La couleur développée est mesurée à 510 nm. Une courbe d'étalonnage à la quercitine est élaborée (Annexe V). La quantité de flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent quercitine par 100 g de miel (mg EQ/100 g) (Meda et al., 2005). Un spectrophotomètre de marque Unicam UV/Visible a été utilisé.

III.5 Mesure de l'activité anti-radicalaire (AAR) au DPPH

Une solution de miel à 4° brix est préparée. Un prélèvement de 1 ml (en triplicata) est mélangé avec 1,5 ml d'une solution de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) à 0,02 mg/ml. Le mélange est laissé pendant 15 min à température ambiante, puis sa densité optique est mesurée à 517 nm avec un spectrophotomètre UV-visible de marque Shimadzu 1800 (LRTA). L'activité anti-radicalaire (AAR) est exprimée en % d'inhibition par rapport à un essai à blanc (Turkmen et al., 2006).

L'activité est mesurée et exprimée en % d'inhibition du DPPH par rapport à la solution de DPPH sans échantillon, par l'équation suivante :

$$AAR(\%) = \frac{(DO_{eau} - DO_{ech}) * 100}{DO_{eau}} \quad \text{Equa. 8}$$

Où : DO_{eau} : Absorbance de la solution du blanc (1 ml d'eau) ; DO_{ech} : Absorbance de la solution avec l'échantillon (1 ml solution de miel) ; 100 : Expression de l'activité relative en %.

III.6 Profil en sucres par HPLC (méthode AOAC, 977.20)

5 g de miel (à 0,001 g près) sont dilués dans 25 ml d'eau ultra-pure puis immédiatement complétés à 50 ml avec de l'acétonitril (CH₃CN). Le mélange est filtré sur micropore (0,45 µm). Des solutions standards de fructose, de glucose et de saccharose sont préparés dans les mêmes conditions avec respectivement 3,804 ; 3,010 et 0,602 g. 10 µl de chacune des solutions filtrées sont injectées sur une HPLC type Shimadzu (Institut agronomique Maich-Chania/Grèce) avec un détecteur à indice de réfraction sur une colonne C18 de 25 cm. Les sucres sont identifiés par comparaison des temps de rétention avec ceux des standards (Annexe VIII) et les quantités par l'aire des pics en % (AOAC official method, 2000).

III.7 Evaluation globale de l'activité antimicrobienne (AAM)

III.7.1 Méthode des puits

L'activité antimicrobienne est réalisée par la technique de diffusion sur gélose (Marghitas et al., 2009). Les extraits de miels ont été préparés dans de l'eau physiologique à 0,85 % de sel, aux concentrations de 10, 25, 50 et 75 %. Le profil de sensibilité des bactéries aux différentes concentrations de miel est déterminé par la mesure des diamètres d'inhibition autour du puit (Ø 4 mm) par un pied à coulisse. Le seuil de sensibilité est déterminé en s'inspirant des travaux Meena and sethi (1994) ainsi que ceux de Aboul Ela et al. (1996) qui considèrent qu'une solution est :

- Non inhibitrice si $\text{Ø} < 7\text{mm}$
- Légèrement inhibitrice si $7\text{mm} < \text{Ø} < 13\text{mm}$
- Modérément inhibitrice si $13\text{mm} < \text{Ø} < 25\text{mm}$
- Fortement inhibitrice si $\text{Ø} > 25\text{mm}$.

Après la revivification des souches par ensemencement sur des géloses préalablement fondues, coulées et solidifiées dans des boîtes de pétri (gélose nutritive pour les bactéries et Sabouraud ou OGA pour les champignons), on fait une incubation à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h à 5 jours pour les levures ; leur pureté est vérifiée par microscopie (le Gram, la forme, le mode de groupement et la mobilité). Par la suite, on procède à la préparation des suspensions microbiennes dans l'eau physiologique stérile, pour obtenir des absorbances à (520 nm) comprises entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries et

entre 2 et 3,8 pour les levures qui correspondent à une concentration de $10^6 - 10^8$ UFC/ ml (Leclerc et al., 1993).

Ces suspensions sont utilisées pour ensemercer des géloses où l'on fait 4 puits dans lesquels on introduit 500 µl de solution de miel puis on incube selon le cas dans les conditions optimales.

III.7.2 Fractionnement et estimation de l'AAM par le test de turbidité

On chauffe préalablement les solutions de miels à 70°C pendant 1 h pour détruire la glucose-oxydase responsable de la production de H₂O₂. Selon Bogdanov and Blumer (2001) cette précaution est prise pour éviter les erreurs d'estimation de l'AAM non peroxyde. Le fractionnement et le test de turbidité sont réalisés selon la méthode décrite par Bogdanov (1997b). La fraction volatile est retirée par rotavapor de marque Ika (LRTA), la fraction neutre non volatile par passage de la solution de miel à 20 % sur une colonne pré remplie C8, la fraction basique par passage sur une résine échangeuse de cations (forte) et enfin la fraction acide sur une résine échangeuse d'anions (forte). Un spectrophotomètre de marque Shimadzu UV-1800 (LRTA) est utilisé pour la mesure de la turbidité à 520 nm avant et après incubation avec les suspensions bactériennes. Les tubes en verre bouchonnés de 1 cm de diamètre sont directement placés sur le trajet optique de l'appareil. Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$Inhibition (\%) = 100 - \%croissance \quad \text{Equa. 9}$$

$$\% croissance = \frac{(DO2-DO1)*100}{DO2} \quad \text{Equa. 10}$$

où

DO₁ : Densité optique avant incubation,

DO₂ : Densité optique de la solution après incubation,

L'inhibition relative d'une fraction i est IR_{fi} :

$$IR_{fi} = \frac{I_{fi} * 100}{\sum I_{fi}} \quad \text{Equa. 11}$$

où Ifi est l'inhibition de la fraction i obtenue comme suit :

$$I_{fi} = If_n - If_{n-1} \quad \text{Equa. 12}$$

Exemple If₄ = If_f-If_e. La figure 13 illustre les différentes opérations de fractionnement.

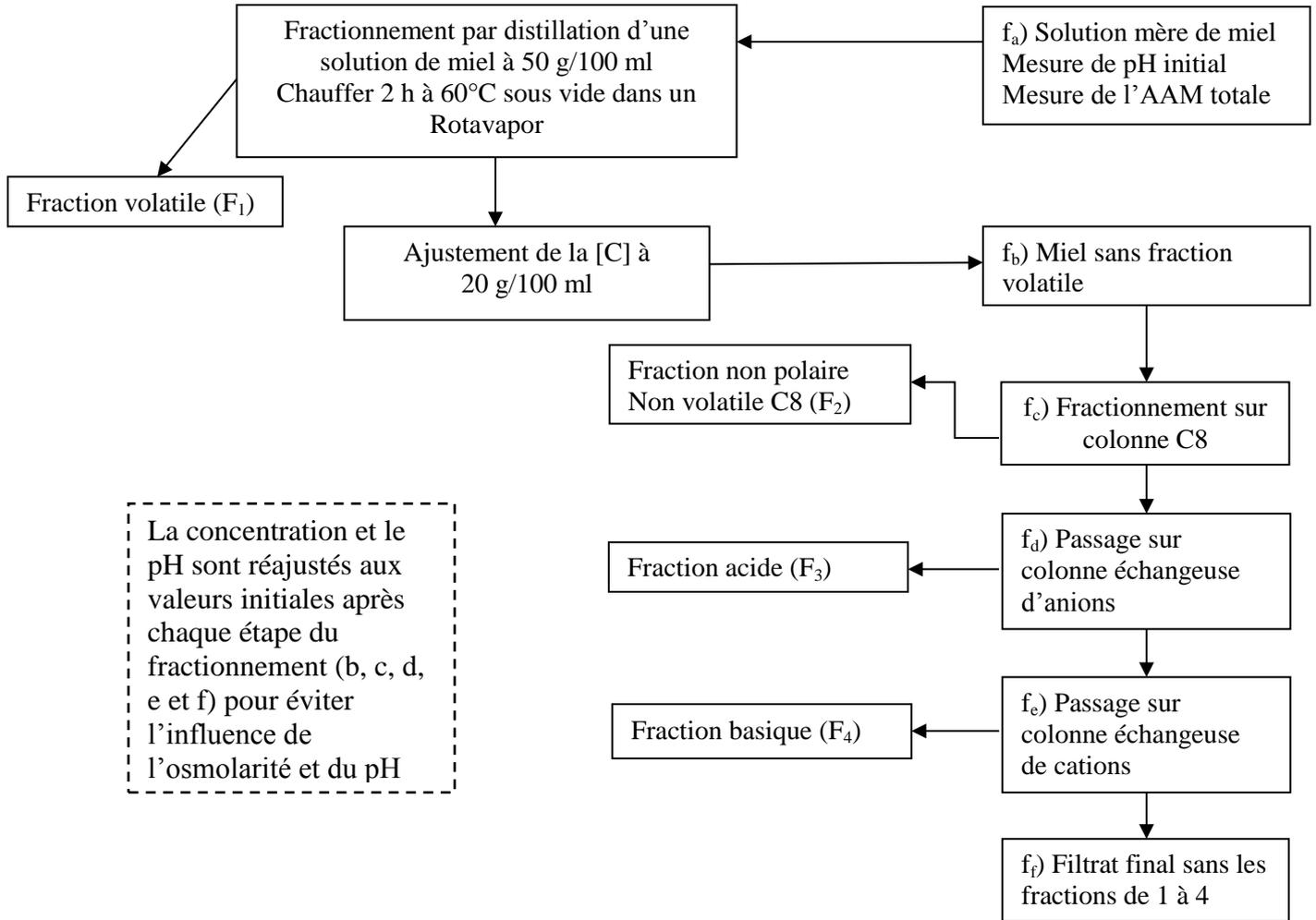


Figure 13 : Schéma du fractionnement du miel pour le test de l'AAM des fractions.

III.7.3 Évaluation de l'effet de l'osmolarité, du pH et de la contribution de H₂O₂ dans l'activité antimicrobienne.

Pour évaluer l'effet de l'osmolarité, des miels artificiels sont préparés en fonction de la composition globale en sucres et des pouvoirs rotatoires de chaque type de miel en mélangeant différentes proportions de fructose, de glucose, de maltose, de KCl et d'eau. L'activité antimicrobienne y est mesurée par test de turbidité (en milieu liquide), (voir annexe VII).

L'effet peroxyde (H₂O₂) est estimé en comparant l'activité du miel chauffé (70 ° C / 1 h) à celle du miel non chauffé, traités de la même manière dans une solution et incubés à 37 ° C pendant 1 h. L'activité de solutions de miels tamponnés (pH7, pH9 et pH3) par rapport au miel dilué uniquement à l'eau a été mesurée pour montrer l'influence du pH.

Pour toutes les expériences, la concentration de la solution de miel était la même (50 %) pour éviter l'effet de concentration.

III.7.4 Effet bactéricide et bactériostatique

Ce test est basé sur une comparaison entre l'absorbance d'une solution de miel à 50 % inoculée et incubée de la même manière que celle utilisée dans l'AMA totale ; un prélèvement de 0,5 ml de cette solution servira de suspension bactérienne et sera ajoutée dans du sérum physiologique et ré-incubée pendant 24h (G+) ou 48h (G-) à 37 ° C ; ceci servira à voir s'il existe encore une activité microbienne. L'effet bactéricide est noté lorsqu'il n'y a pas de changements significatifs dans la densité optique de la solution (< 2 %) et l'effet bactériostatique lorsqu'il y a une augmentation de la croissance bactérienne (> 30 %).

Les deux dernières parties sont inspirées des travaux de Bogdanov and Blumer (2001).

III.8 Analyse du profil en minéraux par SAA

Pour l'analyse du profil minéral d'un miel, on doit tout d'abord obtenir les cendres en traitant 10 g de miel pesés à 0,001 g près et incinérés à 650°C. Ces cendres sont pesées, pour le calcul ultérieur des concentrations en ppm, puis récupérés dans 3 à 6 ml de HCl (6 N). Quand la dissolution est totale le volume entier est transvasé dans une fiole jaugée de 50 ml et complété avec de l'eau distillée. Cette solution servira pour l'analyse du profil minéral en spectroscopie d'absorption atomique (SAA).

Pour le dosage de chaque minéral, une courbe d'étalonnage est enregistrée. La lampe contenant l'élément à doser est utilisée et la quantification se fait en mg/l puis recalculée en µg/kg de miel. L'analyse a été réalisée sur un appareil SAA de l'Unité de Recherche MPE (Matériaux Procédés et Environnement) (URMPE- FSI, UMBB), doté d'un four en graphite avec de l'acétylène comme carburant et le protoxyde d'azote N₂O comme camburant.

III.9 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel SPSS 17.0. D'abord, les statistiques descriptives des miels et les corrélations entre les paramètres par paire ont été calculées, ensuite, l'analyse en composantes principales (ACP) a été établie et le test de

Chapitre III. MATERIEL ET METHODES

variance appliqué (test de Duncan) pour voir si les différences, entre les groupes, sont statistiquement significatives.

L'applicabilité du test ACP a été vérifiée par le calcul :

- Du déterminant qui doit être différent de 0 ou de 1. Cela signifie que la matrice n'est pas singulière
- De la sphéricité de Bartlett qui confirme que la matrice n'est pas une matrice d'identité (sig = 0,000- confirmation de l'hypothèse nulle)
- Du test d'adéquacité de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pour chaque variable. Il indique si la variable pourrait être conservée dans une ACP ($KMO > 0,5$). Dans notre cas toutes les variables avaient un indice KMO supérieur à 0,5 et ont été prises en compte dans l'ACP.

Tableau 9 : Valeurs des indices de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pour l'applicabilité de l'ACP.

Variable du test ACP	KMO
Humidité	0,693
pH	0,656
Acidité libre	0,809
Conductivité électrique	0,613
Cendres	0,628
Couleur	0,729
Proline	0,845
Pouvoir rotatoire spécifique	0,715
HMF	0,574

En dernier, la vérification dans le tableau d'inter-corrélation qu'il existe pour chaque variable, au moins, un coefficient de corrélation substantiel avec une autre variable, cas vérifié entre le taux de cendre et la conductivité électrique, indiquant la dépendance des deux paramètres et la possibilité de se contenter du plus parlant des deux. Cela évite les biais d'interprétation dus à la redondance des données.

L'analyse ACP, proprement dite, est conduite comme suit : on fait d'abord l'extraction de 9 composantes (au nombre des variables), ensuite on juge du nombre optimal des composantes à extraire grâce au critère de Kaiser (il faut que la valeur propre de la composante soit $\geq 1,0$). Dans notre cas trois composantes suffisent pour l'interprétation des résultats.

Chapitre III. MATERIEL ET METHODES

Pour la partie miels des régions semi-arides, le test des classes basé sur les résultats de l'analyse pollinique a été utilisé pour reclasser les échantillons par similarité. Cela offre l'avantage de ne pas exiger au préalable la définition du nombre de classes à obtenir.

Les statistiques descriptives des résultats de la physico-chimie, ont été calculées et représentés sous forme de box plots. Les corrélations entre les variables ont été utilisées pour identifier ceux qui ont le plus fort pouvoir discriminant de l'origine botanique. La comparaison entre les moyennes de l'activité antimicrobienne des groupes a été réalisée par le t test (coefficient de Pearson à $p < 0,05$ - Annexe VI).

Résultats et discussions

IV.1. Comportement de consommation du miel en Algérie

Le comportement alimentaire indique l'action de l'ensemble d'un être vis-à-vis de stimuli externes (publicité, vue) et internes (besoin physiologique : faim ou soif), le poussant à choisir un aliment. La connaissance du comportement alimentaire revêt un intérêt pratique sur l'orientation des marchés alimentaires, l'organisation de l'alimentation collective, les actions de vulgarisation et de sensibilisation du consommateur (compagnes). L'achat n'étant que la partie visible d'un processus de décision complexe mis en place par le consommateur.

Pour chaque produit qu'il achète, il passe par :

- La reconnaissance du besoin (prise de conscience),
- La recherche d'informations,
- L'évaluation des possibilités et des solutions,
- La décision et l'acte d'achat,
- L'évaluation post-achat.

Ce sont les deux derniers points qui vont booster la production ou la réorienter (Trémolières, 1973).

Aussi, l'alimentation, au-delà de son aspect nutritionnel et de son rôle physiologique, est tributaire du comportement des populations, des cultures, des croyances et de l'apprentissage, qui sont considérés comme éléments subjectifs mais qui imposent leur loi sur le marché mondial (Volatier, 2000).

Un produit tel que le miel, portant une symbolique très riche, dans toutes les cultures, est un des produits types traduisant cette subjectivité. C'est pour cette raison qu'il faut cerner les envies et les attentes des consommateurs régionaux pour adapter l'offre, qui doit correspondre à l'image qu'ils se font de ce produit.

Le but de cette partie des préalables est de dresser un portrait de la perception du consommateur algérien, de ses attentes et de ses préférences concernant le miel. Les résultats vont permettre, nous l'espérons, aux professionnels de cette filière de mieux

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 1

cerner la situation présente en terme de comportement de consommation ainsi que les problématiques en termes de commercialisation, de dégager les principaux enjeux et d'identifier des pistes de solutions (opportunités et orientation des efforts de développement, ainsi que l'identification des outils de valorisation), Dans le contexte actuel de la filière apicole, c'est-à-dire avec une augmentation significative de la production, plus d'offre concernant les variétés de miels, leurs modes de présentation et leurs caractéristiques, comme déjà soulevé dans le paragraphe I.2 du chapitre I.

Notre enquête a pour principal but de répondre aux questions suivantes :

- Les **perceptions** actuelles, les **attentes** et les **préoccupations** des consommateurs pour le produit miel.

- Les **habitudes d'achat et de consommation et l'élasticité de prix** (volonté de payer, perception des prix).

Le questionnaire d'enquête a été établi et soumis à une analyse de la version initiale par un essai préliminaire sur une douzaine de sujets (universitaires). Il a, ensuite, été modifié et ajusté en fonction de l'état des lieux de la filière apicole et de données de terrain (voir annexe I) (Aadilly, 2006). La version finale comportait des questions se rapportant à ce qui suit :

- Les informations sur les répondants (région, âge, sexe, profession),
- Les habitudes d'achat et de consommation (lieu d'achat, quantité achetée, prix, etc.),
- Le miel et ses caractéristiques (utilisations, comparaison avec les produits concurrents, préférences selon la couleur, l'aspect, le goût, etc.),
- L'emballage et la présentation du miel (verre, plastique, liquide, cristallisé, etc.),
- Les pratiques traditionnelles de vérification de l'authenticité.

La population visée par le sondage est composée d'individus rencontrés au sein des universités et lors des foires au miel (tout venant), en provenance de 20 wilayas du pays (Est, Centre, Ouest, Intérieur et Littoral). Les répondants sont de différents profils familiaux, ayant chez eux au moins une personne consommant du miel.

Un nombre de 1 000 répondants était initialement visé, sur une période s'étalant entre 2006 et 2010. Un questionnaire n'est considéré valide que lorsque la personne aurait répondu à l'intégralité des questions. La figure 14-a et 14-b montre la répartition de ces derniers par tranche d'âge. Les résultats du tri ont abouti à 800 répondants répartis comme suit : 59,5 % de femmes, 40,5 % d'hommes, âgés entre 19 et 62 ans, représentés en majorité (77,5 %) par des sujets entre 20 et 40 ans.

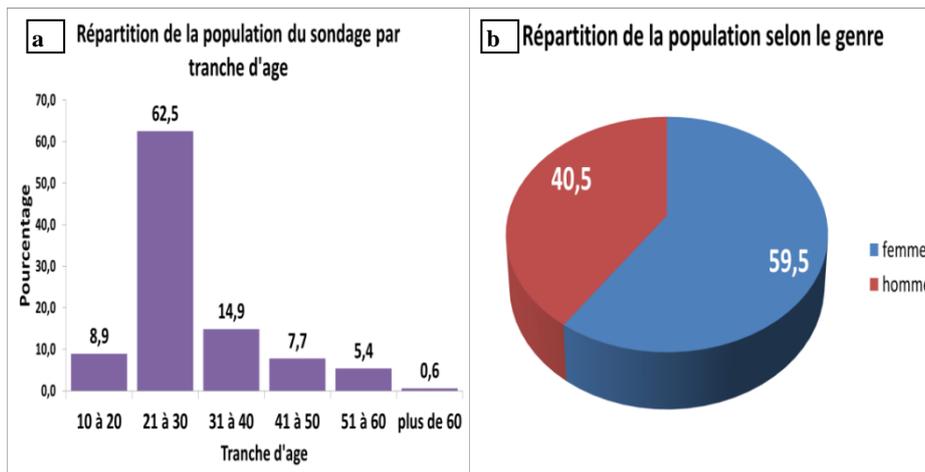


Figure 14: Répartition de la population sondée par tranche d'âge (a) et le genre (b).

La saisie des informations contenues dans les questionnaires a été effectuée afin de construire une base de données sur Microsoft Access 2007. Les questions avaient, au préalable, été enregistrées selon leur caractère (qualitatif ou quantitatif) puis les réponses ont été codées. Les erreurs potentielles de saisie des données ont été contrôlées avec une vérification des codes saisis sur 5 % des questionnaires et des corrections de saisie ont, au besoin, été effectuées. Les résultats ont été analysés sous forme de requêtes visant à dégager les tendances générales.

L'échantillonnage ayant été effectué sur 20 wilayas, un nombre de répondants suffisant pour chaque wilaya (30 à 40) a été assuré. Un redressement de l'échantillon a été effectué à l'aide d'une pondération basée sur le pourcentage de population réel de chaque wilaya (ONS, 2011). Par exemple, dans les échantillons de population, les répondants en provenance d'Alger étant sous-représentés et ceux de Laghouat surreprésentés par rapport aux populations réelles des deux wilayas, des pondérations respectives de 8,81 et 1,09 leur ont été attribuées (voir annexe II).

IV.1.1 Les faits saillants de l'enquête

Sur la base des données présentées dans les figures 17, 18 et 19, nous avons dégagé les principaux résultats suivants :

- 94,6 % de cette population dit consommer du miel. Ce dernier est **perçu** comme aliment/médicament car il est utilisé essentiellement pour se soigner (76,1 %), plus des deux tiers de ces personnes (69,4 %) ne consomment pas plus d'un kilogramme de miel par an et par individu (figure 15 a et 15 b).

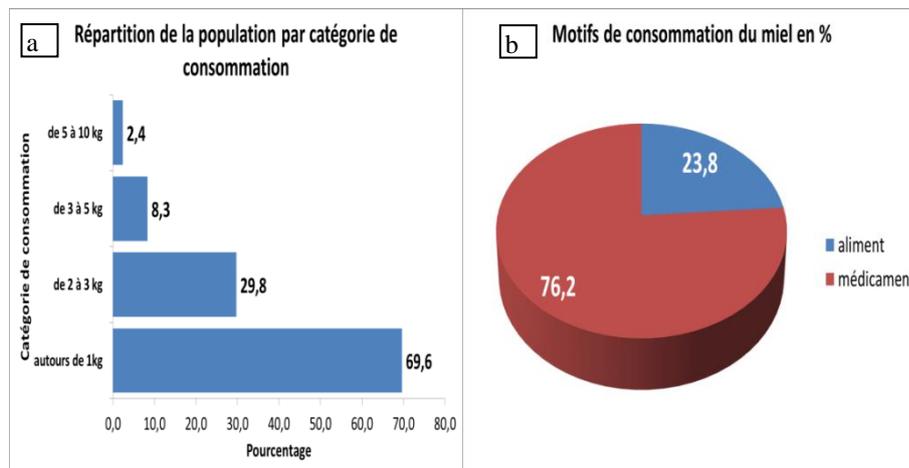


Figure 15 : Répartition de la population sondée par catégorie de consommation (a) et par motifs de consommation (b).

- Le tiers (31,2 %) des répondants avouent qu'ils achètent des miels d'importation à cause, surtout, de l'indisponibilité des miels locaux (44,2 % de cette tranche de la population) mais aussi pour d'autres motifs tels que l'aspect attrayant de l'emballage et la présentation du produit (30,8 %) et le prix abordable (25 %) (Figure 16 a).

- 48,1 % des consommateurs privilégient les rapports de confiance quand ils achètent leur miel car ils s'adressent, en premier lieu, à un proche. Ils s'orientent, par la suite, vers des professionnels (apiculteurs, 30,6 %). Cependant, ils sont très mal informés de l'existence de miels dans les coopératives apicoles (6 %) (Figure 16 b).

- Près de 60 % adoptent plusieurs critères pour juger de la qualité de ce produit dont les plus importants sont le goût et la couleur, puis viennent l'odeur et enfin le prix (Figure 16 c).

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 1

- Les préférences des consommateurs algériens sont portées sur les miels foncés (55,4 %), liquides, non cristallisés (56 %), emballés dans des bocaux en verre (94 %) (Figure 16 d).

- On relève que 52 % de la population sondée pense que le prix est une garantie de la qualité d'un miel (Figure 16 e) et certains sont prêts à dépenser jusqu'à 5 000 DA/kg, mais le pouvoir d'achat général reste autour de 1 000 à 2 000 DA le kg pour plus de 82 % de cette population (Figure 16 f).

- Dans la rubrique des observations, on retrouve souvent l'allusion du consommateur au problème de fraude, avec un réel souci quant à la distinction entre « bon » et « mauvais » miel. Ils signalent la rareté et surtout la cherté de ce produit et avouent, que pour beaucoup de bourses, il reste inaccessible.

- En absence d'une garantie de qualité, ils utilisent des astuces traditionnelles ancestrales pour contrôler eux même les miels qu'ils achètent, ils citent :

- La viscosité et l'écoulement du produit,
- L'étalement d'une goutte tombant sur le sol,
- Le comportement au feu,
- La réflexion de la lumière.

Il est à préciser que l'étude d'une équipe du laboratoire de l'ENS (France) publiée dans la Physical Review Letters (Patinet et al., 2013) a encore confirmé que toutes les pratiques traditionnelles utilisées sont liées à la viscosité. Cette dernière dépend, elle-même, de l'humidité, de la température, du type de sucres et de certaines protéines, choses qui changent dans une large mesure selon la flore butinée et selon les régions et les saisons. Il est donc complètement inefficace de se baser sur cet aspect pour examiner la « pureté » du miel tel que cela se fait traditionnellement.

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 1

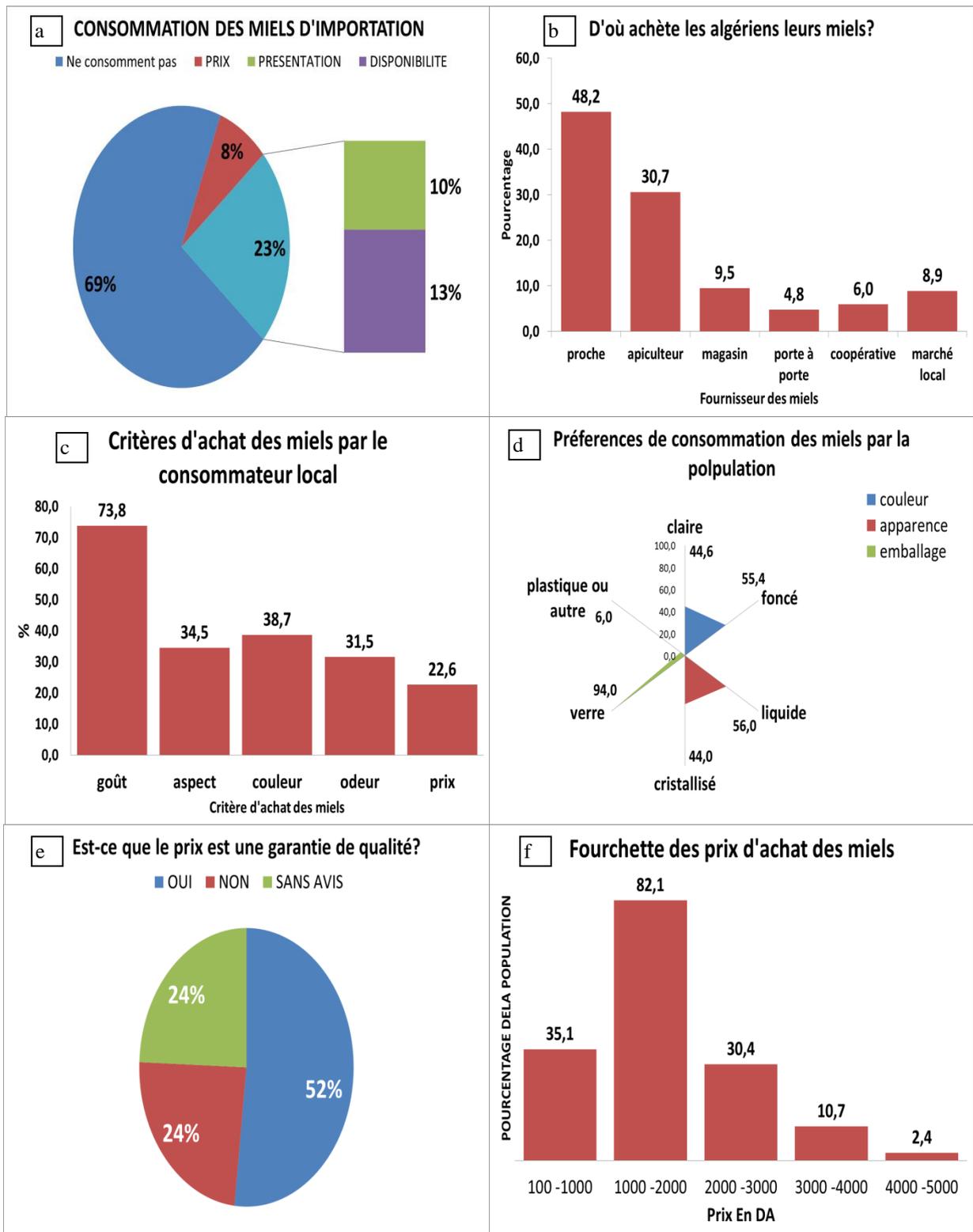


Figure 16 : Analyse des données de l'enquête sur la consommation de miel en Algérie.

IV.1.2 Estimation de la consommation et étude de comparaison

Si on fait une estimation de la quantité de miel consommée en Algérie par individu et par an, en se basant sur les chiffres de production nationale de miel, des quantités de miels importés et de la démographie, on passe de 0,060 kg/an/hab en 1998 à 0,133 kg en 2010 et 0,205 kg en 2019 (sur la base des chiffres du DSV/DSCSHA). Ce chiffre est, à notre sens, sous-estimé et ne donne qu'une approximation de la consommation réelle qui doit prendre en considération les quantités de miel qui n'entrent pas dans le circuit économique formel. Ces niveaux de consommation sont considérés très faibles en comparaison avec d'autres pays. Dans ce qui suit, nous donnerons un aperçu sur un certain nombre de pays et nous établirons une comparaison avec l'Algérie.

Une étude canadienne faite pour le compte de la fédération des apiculteurs du Québec (Jacque, 2009), indique certaines similarités de comportement des consommateurs québécois et algériens vis-à-vis du miel. Ces points se rapportent d'abord à l'apparence et à la consistance. Près de la moitié des consommateurs québécois affirment faire chauffer le miel afin qu'il retrouve son état initial, ce qui révèle leur préférence pour les miels liquides ou liquéfiés et leur refus de la cristallisation. Pour la présentation et l'emballage, globalement le pot en verre avec couvercle dévissable est privilégié par rapport à l'emballage plastique. Le prix du miel, quant à lui, est un critère secondaire vu qu'il est positionné à la troisième place. Pour les québécois l'origine nationale ou locale du miel est le facteur d'achat le plus important ; 64,7 % sont prêts à payer 4,89 \$ (4 000 DA) en moyenne pour un pot de miel de format moyen (1 kg).

A la différence des consommateurs algériens, la majorité des québécois (72,4 %) font l'achat de leur miel au supermarché et dans les grandes surfaces. Ils relient la couleur pâle à la qualité supérieure, mais paradoxalement ils sont tout à fait conscients que la couleur varie en fonction de la source florale (87,3 %). Leur consommation est Cinq fois supérieure à la nôtre et estimée à 1,05 kg/an/hab.

Une enquête menée en France en 2000, par l'AFSSA (Volatier, 2000), montre que la consommation moyenne de miel des français s'élève à 0,438 kg/an/hab et ceci sur toute la population. Cependant, sur la population consommatrice uniquement, ce chiffre est estimé à 2,556 kg/an/hab et présente un intervalle de variation assez important. Quoi qu'il en soit, en France ou dans les autres pays de l'Union Européenne (Tableau 10), le miel ne

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 1

représente qu'une très faible part de l'alimentation estimée à 0,04 à 0,17 % de l'ensemble du régime alimentaire (Briand, 2007), ce qui est aussi le cas en Algérie.

Nos niveaux de consommation par rapport à ceux des pays voisins sont beaucoup plus comparables. En effet, à partir des chiffres officiels, le marocain consomme en moyenne et par année 0,200 kg de miel, ce chiffre corrigé par la consommation dans les circuits informels, s'élève en réalité à 0,400 kg/an/hab (Ministère de l'agriculture Maroc, 2012). Pour le Tunisien, les données de l'Institut National de la Statistique (INS) montrent que la consommation par habitant est en moyenne de 0,165 kg/an. En revanche, le bilan de production et d'importation montre que la consommation s'établit à 0,200 kg/an/hab, comparable aux niveaux de consommation dans notre pays (Ministère de l'agriculture Tunisie, 2010).

Tableau 10 : Données sur la production et la consommation de miel dans l'Union Européenne (moyenne 2000/2005) (FAOSTAT, 2007).

Pays	Production annuelle (1 000 t)	Quantité consommé (g/hab/J)	Quantité (kg/an/hab)
Allemagne	21,91	3,01	1,098
Angleterre	4,82	1,36	0,496
Autriche	7,5	4,05	1,478
Belgique	1,71	1,57	0,573
Bulgarie	7,23	0,65	0,237
Cipre	0,77	3,39	1,237
Danemark	0,00	0,71	0,259
Espagne	34,20	2,40	0,876
Estonie	0,5	1,57	0,573
Finlande	1,67	1,44	0,525
France	15,53	1,35	0,492
Grèce	15,93	4,29	1,565
Hongrie	17,67	1,20	0,438
Irlande	0,22	1,02	0,372
Italie	8,67	0,91	0,332
Lettonie	0,65	0,98	0,357
Lituanie	1,13	0,90	0,328
Luxembourg	0,16	1,41	0,514
Malte	0,00	0,04	0,014
Pays-Bas	0,00	0,88	0,321
Pologne	10,22	0,85	0,310
Portugal	6,10	1,82	0,664
Roumanie	15,59	0,96	0,350
Slovaquie	3,45	0,92	0,335
Slovénie	2,23	2,79	1,018
Suède	3,00	1,60	0,584
Tchéquie	7,01	1,54	0,562

IV.1.3 Conclusion

Les niveaux de consommation en Algérie et dans les pays du Maghreb restent, en général, très faibles par rapport à ceux des pays européens et américains. Le miel constitue une part insignifiante du régime alimentaire en Algérie, malgré tous les bienfaits que présente ce produit et dont sont conscients les consommateurs.

A partir de ces données, on remarque la particularité de la Tunisie dans sa gestion des ressources locales devant le Maroc et l'Algérie. Ces deux derniers doivent faire un effort pour que le marché informel ne masque plus la production réelle, surtout que les potentialités d'expansion du secteur sont énormes sur nos territoires.

Le consommateur algérien considère le miel comme « Alicament », ce qui explique les niveaux de consommation actuels. Ses préférences se portent sur les miels foncés, non cristallisés, emballés dans des bocaux en verre, mais il est dans la confusion totale quant à l'acte d'achat, car il ne sait pas où trouver du miel et de ce fait se tourne parfois vers les miels d'importation présents dans les commerces. Sinon, il se procure ses miels dans les circuits informels comptant sur les rapports de confiance. Il est clair aussi que les prix de vente des miels locaux ne correspondent pas au pouvoir d'achat du consommateur, conduisant systématiquement à la réduction de l'achat et à la limitation de la consommation à des fins thérapeutiques.

Nous déduisons que la consommation de miel en tant qu'aliment est tributaire du type de système économique, relié au niveau de vie, à la situation financière des familles, ainsi qu'aux aspects culturels. La région du Maghreb a beaucoup d'efforts à fournir en comparaison aux autres pays du bassin méditerranéen ayant réussi à mettre à leur juste valeur les ressources apicoles.

IV.2. Qualité des miels d'importation mis sur les étalages en Algérie

On voit, aujourd'hui, sur nos étalages tout type de produits alimentaires d'importation, originaire de pratiquement tous les pays du monde. Cet afflux de denrées, qui suit la logique mondiale de commercialisation, se trouve devant des systèmes de contrôle insuffisants pour assurer la protection du consommateur. Aussi, les répercussions sur la petite et moyenne entreprise algérienne se font déjà ressentir. En effet, nos entreprises se trouvent concurrencées par des producteurs de l'étranger offrant une plus large gamme de produits avec une meilleure présentation et des prix plus intéressants.

Le secteur apicole n'est pas épargné, alors que la profession s'efforce, depuis une quinzaine d'années, avec l'aide de l'état à se développer, le marché de l'importation s'ouvre et décourage les producteurs. L'importation du miel est devenue une pratique commerciale de plus en plus courante. Selon les chiffres donnés par la Douane algérienne, elle est passée de 18 t en 1999 à 800 t en 2010 (MADR, 2019). Ces chiffres ne comptabilisent pas les quantités circulant dans le circuit informel et entrant dans le pays d'une manière illicite par les frontières.

En effet, l'Algérie avec des niveaux de production de l'ordre de 7 400 tonnes (MADR, 2019), est loin de satisfaire la demande croissante du consommateur. Pour combler ce besoin, le consommateur algérien a recours à des produits d'importation qui offrent, entre autres, l'avantage d'être disponibles à longueur d'année et d'être bon marché. Cependant, est ce que ces produits importés sont conformes aux critères du *Codex Alimentarius*?

Le but de cette partie est, justement, de répondre aux interrogations des uns et des autres concernant ces denrées importées et de donner au consommateur une image de ce qu'il est en train d'acheter. Il est important de noter que ces produits évoluent dans des circuits économiques très longs pour arriver jusqu'au client final. C'est la raison pour laquelle plusieurs aspects de la conformité commerciale du produit seront abordés dans cette étude.

L'étude a porté sur 40 échantillons de miels importés collectés entre 2004 et 2011, sur les étalages de magasins et de supermarchés (Boumerdes et Alger), c'est-à-dire déjà mis à la disposition du consommateur. Quelques échantillons nous ont été fournis par des

commerçants, cherchant à importer du miel ou l'ayant déjà introduit sur le territoire national.

Les échantillons subiront une multitude d'analyses de la qualité et de contrôle de l'appellation après avoir été décrits, grâce aux informations mentionnées sur l'étiquetage si elles existent et sont suffisamment lisibles (Nom commercial, Nom du producteur, pays d'origine, poids net, date de production, date de péremption, prix par pot). D'autres descripteurs sont prélevés telles que la couleur, l'état de cristallisation et les défauts apparents.

Notre échantillonnage a pris en considération les différents types d'emballages et les différentes contenances. Pour des raisons pratiques, les échantillons ont été codés et conservés à 4°C jusqu'au moment de l'analyse qui n'a pas dépassé un mois à partir de la date d'achat.

Les méthodes d'analyse adoptées sont les méthodes harmonisées d'analyse des miels du IHC (Bogdanov, 1997a) qui sont équivalentes aux méthodes AOAC tel que décrites précédemment. L'humidité, le pH, l'acidité libre (AL), la conductivité électrique (CE), le taux d'hydroxyméthylfurfural (HMF), la proline et la couleur Pfund ont été mesurés.

L'origine botanique mentionnée sur l'emballage est vérifiée par l'analyse melissopalynologiques (Von der Ohe et al., 2004), les pollens sont identifiés grâce aux photos de pollens référence du Text book of melissopalynology (Riccardelli d'albore, 1997).

IV.2.1. Résultats et discussions

Les photographies figures 17 et 18 montrent les différents matériaux d'emballage et les différents volumes et présentations proposés au consommateur.



Figure 17 : Présentation des échantillons de miel importés [Originale].



Figure 18 : Echantillon (gauche) emballé dans un pot en plastique et un autre (droite) dans un fut métallique. [Originale].

Le tableau 11 donne une description générale des 40 échantillons étudiés. Le premier constat à faire est que les miels importés se présentent de manière très diversifiée en forme, en volume et en couleurs des miels. Les matériaux d'emballage sont généralement en verre pour les petits et moyens volumes mais en métal ou en plastique pour les grands volumes. Certains miels ont un suremballage en carton, offrant ainsi une large gamme de produits et un grand choix au consommateur. Nous abordons dans ce qui suit les différents aspects de la conformité et l'évaluation de ces échantillons selon les exigences commerciales et légales, organoleptiques et de qualité.

IV.2.1.1 Conformité commerciale et légale

Les miels collectés sont originaires de 13 pays, dont quatre de l'Union Européenne, trois d'Afrique, 5 du Moyen Orient, d'Asie de l'Ouest et d'Australie.

Près de 48 % des échantillons sont correctement étiquetés et portent la mention de l'origine florale ou géographique des miels. Les autres présentent des défauts majeurs d'étiquetage, tels que l'absence de la dénomination du produit, de la date de production, de la DLUO, du pays d'origine ou du poids net. Ce manque d'informations ne permet pas une bonne traçabilité du produit et peut créer une confusion chez le consommateur. Nous

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 2

donnons l'exemple de deux miels : l'un d'Arabie Saoudite dénommé « Al shiffa » et un autre provenant de Turquie dénommé « Flower honey-Shiffa home ». Les deux produits présentent de grandes similarités d'apparence.

D'autres échantillons portent des mentions en langue étrangère (allemand ou turque) qui rendent difficile l'accès aux informations. Ceci est contraire à la réglementation nationale concernant l'étiquetage des produits importés (JORA, 9 novembre 2013) (Art 7. JORA N° 58, décret N° 13/378).

Les miels en question sont présentés sous divers emballages (verre, plastique ou fer blanc), avec des contenances allant du petit pot de 50 g au bidon de 40 kg. Cependant, dans la majeure partie des cas, ils sont bien emballés dans du verre avec un étiquetage attrayant et un emballage pratique.

Le prix ramené au kilogramme varie entre 333 et 630 DA, respectivement, pour les miels de Turquie et d'Australie et 2 143 DA pour ceux de l'Arabie Saoudite, avec une moyenne autour de 1 136,2±489,1 DA. De l'autre côté les miels locaux dépassent le seuil de 2 500 DA dans le meilleur des cas.

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 2

Tableau 11 : Description générale des échantillons de miels importés étudiés.

N°	Nom commercial	Origine florale supposée	Pays d'origine (cité sur l'étiquette)	Poids (g)	Date de production
1	Granja San Francisco	TF	Espagne	250	2004
2	Langese	TF	Allemagne	125	2004
3	Flower honey-shiffa home	TF	Turquie	1 000	2004
4	Rima	TF	Australie	1 500	2005
5	Jena miel	TF	Espagne	350	2006
6	Martelet	TF	Grande Bretagne	250	2006
7	Imker antese	Acacia	Allemagne	50	2006
8	Imker antese	Bleuet	Allemagne	50	2006
9	Alshiffa	TF	Arabie Saoudite	125	2006
10	L'abeille	TF	Bulgarie	250	2006
11	Al Baraka	TF	-	140	2006
12	L'abeille	TF	Bulgarie	25 000	2006
13	Lune de miel	Miel de Trèfle	France	375	2006
14	Lune de miel	Miel d'Oranger	France	375	2006
15	-	Forêt	Mali	40 000	2006
16	Metin	TF	Turquie	450	2007
17	San Francisco	TF	Espagne	250	2008
18	San Francisco	TF	Espagne	125	2010
19	San Francisco	TF	Espagne	125	2010
20	-	TF	Mali	1 000	2010
21	Al shiffa	TF	Arabie Saoudite	500	2010
22	Langnese	Forêt	Allemagne	125	2010
23	Miel de nectar	Colza	Allemagne	50	2010
24	Miellat	Montagne	Allemagne	50	2010
25	Miel nectar	Acacia	Espagne	125	2010
26	Miel nectar	Jujubier	Kachmir (Inde)	1 000	2010
27	-	TF	Cote d'Ivoire	1 000	2011
28	-	TF	Côte d'Ivoire	1 000	2011
29	-	TF	Côte d'Ivoire	1 000	2011
30	-	TF	Côte d'Ivoire	1 000	2011
31	-	TF	Côte d'Ivoire	1 000	2011
32	-	TF	Inde	1 000	2011
33	San Francisco	TF	Espagne	500	2011
34	-	Forêt	Mali	25 000	2011
35	San francisco	TF	Espagne	250	2011
36	-	Forêt	Niger	40 000	2011
37	-	TF	Etranger	1 000	2011
38	-	TF	Etranger	1 000	2011
39	San francisco	TF	Espagne	250	2011
40	Al shiffa	TF	Arabie saoudite	125	2011

- Absence d'information ; TF : toutes fleurs ;

IV.2.1.2 Conformité organoleptique

Le tableau 12 donne la description sensorielle de quelques-uns de ces miels. 43 % de ces échantillons présentent des défauts de cristallisation bien décrits par Gonnet (1982) (Figure 19). Ces défauts sont dus soit à une chauffe inadéquate (volontaire ou non), à une mauvaise homogénéisation ou à une fermentation. On retrouve aussi des signes de mauvais conditionnement comme :

- La séparation de phase issue d'une absorption d'humidité,
- Des taches brunes dues à une contamination (conditions hygiéniques de remplissage),
- Des marbrures blanches,
- Des cristallisations aléatoires indiquant des chocs thermiques (froids ou chauds),
- Des débris de cires,
- Des bulles d'air provenant d'un mauvais écumage et un mauvais conditionnement,
- Des odeurs de fermentation pour les miels trop humides et qui est l'accident de conservation le plus grave, car il entraîne une insalubrité du produit.

Du point de vue couleur et consistance, près de 60 % de ces miels sont ambrés foncés et fluides. C'est ce type de miel qui est, justement, très recherché par le consommateur algérien selon les résultats de l'enquête dans la partie 1 des préalables de cette thèse.



Figure 19 : Défauts apparents de cristallisation, à gauche : séparation des phases, à droite : marbrures et cristallisation hétérogène). [Originale].

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 2

Tableau 12 : Description sensorielle et exemples de défauts d'apparence de quelques miels importés.

N°	Couleur	Aspect	Contenant	Observations générales	Diagnostic préalable
1	Foncé	En phase de cristallisation	Verre	Défaut de cristallisation (séparation des phases).	Prise d'humidité due à un mauvais stockage ou à un défaut d'emballage
2	Foncé	Liquide au départ puis cristallisé	Plastique	Cristallisation homogène	-
3	Clair	Cristallisé	Verre	Présence de défaut de cristallisation (des taches brunes) et présence de bulles d'air au fond du pôt sous forme d'une couche continue horizontale	Mauvais remplissage des pôts et contamination par des champignons ou des levures,
4	Foncé	Cristallisé	Verre	Défaut de cristallisation (cristallisation aléatoire)	Choc thermique
5	Clair	Liquide et limpide	Verre	Homogène	-
6	Foncé	Deux phases	Verre	Défaut de cristallisation (séparation des phases)	Prise d'humidité
7	Foncé	Liquide	Verre	Défaut de cristallisation (début de cristallisation aléatoire)	Choc thermique
8	Verdâtre	Cristallisé	Verre	Cristallisation fine et homogène	-
9	Foncé	Liquide et limpide	Verre	Homogène	-
10	Foncé	Cristallisé	Plastique	Homogène	-
11	Clair	Cristallisé	Verre	Contient de la cire d'abeille	-
12	Foncé	Cristallisé	Bidon métallique	Défaut de cristallisation (marbrure blanche)	Choc thermique et manque d'homogénéisation
13	Blanc	Pâteux	Verre	Homogène	-
14	Foncé	Liquide et limpide	Verre	Homogène	-
15	Foncé	Liquide	Bidon métallique	Homogène	-
16	Noir	Liquide	Bidon plastique	Trop fluide avec odeur de mélasse.	Fermentation due à un excès d'humidité et à une mauvaise hygiène de production.

IV.2.1.3 Conformité de l'origine florale

Dans la plupart des cas, quand l'origine florale est mentionnée sur l'étiquette l'analyse pollinique a confirmé cet état de fait (Tableau 13). Il est à noter qu'en cas d'absence totale de pollen cela signifie que les miels en question sont filtrés, comme le montre l'analyse des échantillons 17 et 30. Le *Codex Alimentarius* (1993) stipule clairement que les miels soumis à un filtrage minutieux pour améliorer la limpidité doivent porter obligatoirement la mention « filtré » sur l'étiquetage pour informer le consommateur. C'est la raison pour laquelle les associations apicoles de l'Union Européenne conseillent, dans leurs guides de bonnes pratiques, l'utilisation des filtres dont la taille des ouvertures est supérieure à 0,2 mm.

Il s'est également posé le problème des pollens non identifiés pour plusieurs échantillons (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 40), car ils proviennent de pays dont on ne dispose pas d'Atlas pollinique et dont la flore est très différente de celle de la méditerranée.

IV.2.1.4 Conformité de la qualité physico-chimique

Le tableau 12 illustre la qualité des miels étudiés comparés aux exigences du *codex Alimentarius*. Il s'avère que 40 % des échantillons ont une humidité supérieure à 18 %, ce qui les rend susceptibles de fermenter. Un seul échantillon a dépassé le seuil de 21 % fixé comme valeur maximale et qui présentait déjà des signes de fermentation avancée. L'humidité est le critère le plus pertinent pour connaître les aptitudes des miels au stockage (Bogdanov et al., 2004).

Le pH et la CE sont des paramètres qui renseignent sur l'origine florale des miels. Ceux issus de nectar sont, généralement, plus acides et moins riches en minéraux comparés à ceux de miellats. En revanche, le pH change avec le temps et devient plus bas avec le vieillissement, cas de plus de 27 % des échantillons étudiés dont le pH est inférieur à 3,5. La conductivité électrique reste relativement stable et nous a servi à confirmer les miellats (CE > 0,800 mS/cm). Dans deux cas, on se rend compte que la mention « miel de forêt » ne renvoie pas, forcément, à des miellats mais à des miels de nectar (ech. 38) ou à des mélanges nectar/miellat (ech. 36), ce qui peut être une source de confusion pour le consommateur.

La proline est utilisée pour détecter les fraudes par ajout de sucres invertis aux miels (Von-der-Ohe et al., 1991). Elle varie naturellement dans un large intervalle mais des taux plus bas que 183 mg/kg indiquent une anomalie. Les échantillons 9, 11, 13 et 15 présentent

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 2

des taux de proline extrêmement faibles qui sont respectivement de 73, 77, 102 et 33 mg/kg et des CE très basses (0,084 ; 0,143 ; 0,079 et 0,100 mS/cm), indiquant un mélange avec des sucres invertis ou du sirop de saccharose qui ne contiennent ni proline, ni minéraux (Anklam, 1998). De ce fait, ils ne peuvent en aucune manière porter la dénomination légale « miel ».

En dernier, le taux de HMF, qui est le critère le plus pertinent quant à la fraîcheur des miels et à leur historique thermique (Gonnet, 1993; Jeanne, 1993), s'est avéré trop élevé avec une moyenne, pour tous les échantillons, de $56,2 \pm 37,6$ mg/kg, sur une étendue allant de 0,4 à 157,2 mg/kg. Nous savons que le miel atteint sa fin de vie vers 40 mg/kg et ne peut plus porter la dénomination « miel », mais il peut être réorienté vers l'industrie alimentaire en tant que « miel industriel », pour l'aromatisation des produits de cuisson.

Pour donner l'image la plus juste sur ces échantillons, il convient de signaler que 30 % ont un taux de HMF dans la norme (< 40 mg/kg) parmi lesquels seulement un tiers peuvent être classés dans les miels de qualité supérieure (HMF < 15 mg/kg) (Lachman et al., 2007).

En revanche, 70 % de ces miels ont largement dépassé leur DLUO avec un taux moyen de $78,0 \pm 30,3$ mg/kg de HMF, dénotant un vieillissement avancé (circuit économique long), un traitement post-récolte inapproprié (refonte, pasteurisation) ou de mauvaises conditions de stockages et de transport (expositions prolongées au soleil, stockage dans les conteneurs métalliques, etc.), sachant que ces denrées importées peuvent mettre des mois à arriver sur les étagères.

Chapitre IV. PREALABLES DE L'ETUDE 2

Tableau 13 : Résultats des analyses physico-chimiques et pollinique des miels
d'importation étudiés.

Ech.	Teneur en eau (%)	pH	AL (mégq/kg)	CE (mS/cm)	HMF (mg/kg)	proline (mg/kg)	Indice de couleur (mm Pfund)	Confirmation de l'Origine botanique
1	17,5	2,79	28	0,184	58,7	242	71	Confirmé
2	16,4	2,86	30	0,179	70,4	343	83	Confirmé
3	17,0	2,64	33	0,225	45,1	264	83	Confirmé
4	18,1	2,33	28	0,239	121,0	300	92	Confirmé
5	17,3	3,01	14	0,118	21,3	247	18	Non confirmé
6	17,6	2,84	30	0,174	26,0	144	99	Non identifié
7	17,6	2,44	36	0,218	72,2	365	77	Confirmé
8	18,4	2,30	38	0,166	17,1	284	83	Confirmé
9	17,4	3,06	13	0,084	46,1	73	80	Confirmé
10	18,3	2,84	30	0,202	144,6	215	68	Confirmé
11	18,0	2,59	20	0,143	72,6	77	71	Confirmé
12	17,5	4,12	24	0,140	74,6	256	83	Confirmé
13	17,0	4,43	13	0,079	23,5	102	11	Confirmé
14	18,0	4,36	18	0,107	34,0	171	62	Peu de pollen
15	16,1	4,82	14	0,100	102,1	33	83	Confirmé
16	18,8	4,08	73	1,399	16,3	100	140	Miellat Confirmé
17	15,0	4,00	49	0,367	13,5	33	62	Pas de pollen
18	16,0	3,76	34	0,198	07,2	250	55	Confirmé
19	20,5	4,77	75	0,334	34,6	200	119	Confirmé
20	21,0	5,13	55	0,534	67,2	300	119	Non identifié
21	21,0	5,14	56	0,538	80,4	200	119	Non identifié
22	21,0	5,22	58	0,568	59,7	150	119	Non identifié
23	21,0	5,12	75	0,570	96,4	300	119	Non identifié
24	18,5	5,40	44	0,625	20,2	250	110	Non identifié
25	19,5	4,86	33	0,177	86,8	100	92	Non confirmé
26	18,0	5,18	38	0,204	61,4	110	83	Non identifié
27	18,5	5,06	43	0,145	106,3	250	92	Non identifié
28	18,0	4,90	85	0,381	41,0	350	62	Confirmé Erica
29	22,0	5,12	57	0,647	101,0	200	110	Non identifié
30	19,0	4,73	42	0,102	50,4	100	62	Pas de pollen
31	17,0	4,42	33	0,513	51,9	284	119	Confirmé
32	18,5	3,83	24	0,264	35,8	300	62	Pauvre en pollen, non confirmé
33	19,5	3,93	15	0,158	67,8	207	83	Confirmé
34	17,8	4,78	13	0,187	16,5	220	83	Confirmé
35	18,2	4,00	19	0,244	65,0	240	83	Confirmé
36	15,8	4,96	41	0,760	0,4	200	119	Miellat non confirmé
37	18,4	4,85	15	0,123	9,6	300	41	Confirmé
38	17,2	3,85	13	0,100	22,5	120	71	Non confirmé
39	18,5	4,20	07	0,070	51,2	180	11	Confirmé
40	15,5	6,81	09	0,770	157,2	120	110	Non identifié, pas de jujubier
Max	22	6,81	85	1,399	157,2	365	140	
Min	15	2,3	7	0,070	0,4	33	11	
Moy ±SD	18,2 ±1,6	4,1 ±1,1	34,4 ±20,1	0,308 ±0,267	56,2 ±37,6	207,7±102,8	82,6±30,3	
Normes	≤21	3,5 - 5,5	≤40		< 40	> 183		

moy : moyenne ; SD : écart type ; Ech. : Échantillon

IV.2.2 Conclusion

Au terme de cette partie, on peut faire ressortir les faits les plus pertinents quant à la qualité des miels importés contrôlés lors de cette étude.

Alors que plus de 60 % de ces miels répondent aux attentes du consommateur du point de vue présentation, emballage, couleur et prix, il n'en est pas autant pour leur qualité car :

- 60 % des échantillons prélevés ne sont pas conformes du point de vue étiquetage et peuvent rendre difficile l'accès à l'information pour le consommateur. Ils peuvent créer chez lui une confusion quant à l'origine florale ou territoriale, un fait aggravé par le manque de réglementation nationale concernant l'étiquetage de miels en particulier, car c'est un produit spécifique.

- Plus de 40 % des échantillons présentent des défauts organoleptiques et de cristallisation.

- Pour près de 45 %, l'origine botanique n'a pas pu être confirmée, soit à cause de l'absence de pollen dans ces miels, soit à cause de l'impossibilité d'identification des pollens présents par manque de références polliniques des pays en question.

- 10 % sont suspectés d'être mélangés avec des sucres invertis, ce qui relève de la fraude. Leurs caractéristiques physico-chimiques ne sont pas ceux de miels naturels.

- Plus de 70 % ont dépassé leur DLUO, car ils présentent des taux supérieurs à 40 mg/kg de HMF et sont devenus trop acides, ils ne peuvent plus être vendus sous la dénomination « miel » et surtout pas pour un usage thérapeutique.

Ces conclusions ne nous permettent pas de généraliser notre jugement sur tous les miels d'importation, mais ce constat montre clairement que ces miels bien présentés, bien emballés et bon marché, peuvent être d'une qualité très médiocre et parfois impropres à la consommation. Cette situation n'est parfois pas due à une mauvaise production mais parce qu'ils ont subi les aléas de circuits commerciaux longs, alors que ce sont des produits sujets à la dégradation et au vieillissement et qu'ils perdent de leurs valeurs avec le temps. Ceci appelle à la vigilance et au déploiement des politiques et des efforts nécessaires (logistiques, techniques, réglementations) pour un contrôle rigoureux des miels d'importation car il y va de la protection du consommateur et de la viabilité d'une profession de première importance pour l'agriculture.

V.1 Caractérisation physico-chimique des miels algériens : *Evaluation de la qualité globale*

Du point de vue chimique, le miel est un mélange de sucres et d'eau, contenant un très grand nombre de composés mineurs responsables de ses particularités. Cette matrice complexe est influencée par l'origine géographique, le type de sol, le climat, les traitements post-extraction et les conditions de stockage (Bera et al., 2009). Cependant, l'origine botanique est largement responsable de l'identité chimique des miels, leur conférant leur goût et leurs touches aromatiques spécifiques responsables de leur attractivité.

Pendant longtemps, les résultats de la physico-chimie ne suffisaient pas à différencier l'origine du miel à cause de leur très grande variabilité. La vérification était alors réalisée par l'analyse pollinique qui, elle-même, n'est pas une méthode parfaitement fiable à cause de plusieurs insuffisances qu'elle présente (Von der Ohe et al., 2004). C'est pour cette raison que la nouvelle approche utilise la combinaison des données précédemment citées à l'analyse sensorielle, qui apporte des données souvent non ou difficilement décelables par l'instrumentation.

Par ailleurs, plusieurs auteurs, tels que Bogdanov et al. (2004), ont utilisé la chimométrie comme solution alternative pour résoudre des problèmes analytiques dus à la complexité de la matrice miel. Ceci a comme conséquence un gain d'efforts, de réactifs et de temps (Arvanitoyannis et al., 2005; Baroni et al., 2006; Kelly et al., 2004; Zhou et al., 2014). Cette discipline vise à extraire des informations utiles des données analytiques en utilisant des notions de statistiques appliquées, de mathématiques et d'informatique, dans le but d'aider à l'explication de certaines différences.

A travers le monde, beaucoup d'études menées sur les miels ont été publiées. Ceci n'est pas le cas pour les miels algériens pour lesquels nous avons aujourd'hui très peu d'informations dans le sens où les études sont réalisées sur un petit nombre d'échantillons régionaux et que les approches adoptées prennent souvent en compte un seul des aspects de l'analyse. Nous citerons, comme exemple, les travaux sur l'analyse pollinique réalisés par Louveaux and Abed (1984), la caractérisation physico-chimique de miels à l'échelle régionale de Ouchmoukh et de Makhloufi (Makhloufi et al., 2007; Ouchmoukh et al.,

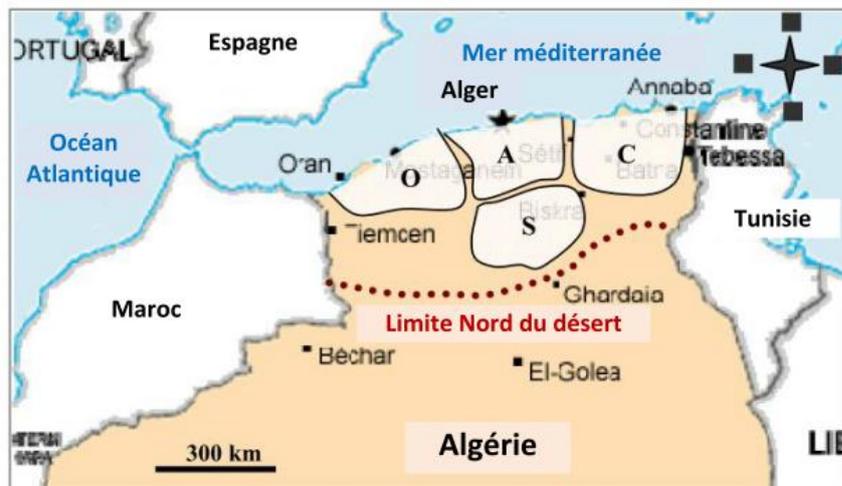
Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

2007; Ouchmoukh et al., 2010), l'effet antimicrobien de miels et de mélanges à base de miel que des chercheurs de l'université de Tiaret ont publiés en 2012 (Ahmed et al., 2012a; Ahmed et al., 2012b; Meslem et al., 2012). Dans ces recherches, les auteurs rapportent la présence de certaines plantes mellifères et donnent une idée sur la qualité globale des miels étudiés, mais la taille des échantillons et la limitation des zones de collecte peuvent poser des problèmes d'interprétation, ne donnant en aucun cas une idée réelle de la richesse floristique utilisée par les abeilles, ni sur la qualité globale du produit. D'autres études ne précisent ni l'origine botanique, ni les critères de qualité.

Pour toutes ses raisons, la présente partie tente de répondre à un besoin réel concernant les miels locaux, et ce dans le but d'avoir une vision plus globale et plus large sur la diversité mellifère de nos territoires. Les données collectées serviront comme ébauche à une base de données sur les miels algériens avec leurs caractéristiques, ce qui servira à moyen et à long terme, au processus d'identification, de certification et de labellisation.

V.1.1 Echantillonnage et échantillons

Cette partie a été réalisée sur 82 échantillons, de miels de nectar de différentes origines botaniques (monofloraux et multifloraux), qui ont été collectés dans les différentes régions mellifères du pays, à savoir l'algérois, le constantinois, l'oranien et la steppe, incluant 20 wilaya (Alger, Blida, Bouira, Médéa, Oran, Chlef, Boumerdes, Tizi-Ouzou, Tipasa, Béjaïa, Skikda, El-Taref, Jijel, Constantine, Souk Ahras, Batna, M'sila, Djelfa, Laghouat et Biskra), la figure 20 illustre les zones concernées.



A: Algérois ($n = 42$), O: Oranie ($n = 5$), S: Steppe ($n = 26$), C: Constantinois ($n = 10$)

Figure 20 : Aire géographique de l'échantillonnage des miels sujets de l'étude.

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

L'échantillonnage (200 à 500 g) a été mené sur une durée de 5 ans (de 2005 à 2010) dans le but d'avoir une meilleure idée sur la diversité et la constance de la production des miels. Pour chaque échantillon, les informations concernant l'origine botanique supposée, la saison de production, l'âge du miel et la méthode d'extraction ont été enregistrés. L'origine florale a été vérifiée par l'analyse pollinique et les échantillons ont été répartis en groupes selon le besoin de l'analyse de données.

V.1.2 Description globale de l'échantillon et évaluation de la qualité

Les statistiques descriptives des miels selon l'origine florale (facteur principal) sont données dans le tableau 14. En se référant aux critères de qualité du *Codex Alimentarius* (1993). Les résultats montrent clairement que les miels étudiés présentent, d'une façon générale, un bon degré de maturité ($H = 16,5 \pm 1,2 \%$) et de bonnes aptitudes à la conservation ($pH = 4,06 \pm 0,60$ et $HMF = 13,2 \pm 16,8 \text{ mg/kg}$), avec une richesse particulière en proline ($624 \pm 303 \text{ ppm}$) et une couleur ambrée foncée convenant parfaitement aux préférences du consommateur local ($110 \pm 26 \text{ mm Pfund}$ et $CE = 455 \pm 167 \text{ } \mu\text{S/cm}$).

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Tableau 14 : Statistiques descriptives des miels selon l'origine florale (facteur principal).

	<i>Citrus</i>		<i>Eucalyptus</i>		<i>Ziziphus</i>		Nectar Forêt		Multifloraux		Autres		Tous les miels	
	(n = 7)		(n =12)		(n =7)		(n =6)		(n =32)		(n =18)		(n = 82)	
	moy	SD	moy	SD	moy	SD								
H (%)	16,7 ^b	0,6	16,5 ^b	1,1	15,0 ^a	0,6	17,7 ^c	0,8	16,5 ^b	0,8	16,4	0,8	16,5	1,2
pH	3,88 ^a	0,49	3,90 ^a	0,33	5,01 ^b	0,50	3,89 ^a	0,14	3,92 ^a	0,37	4,19	0,36	4,06	0,60
AL (méq/kg)	15,9 ^a	5,6	18,9 ^{ab}	4,6	13,1 ^a	2,9	28,0 ^c	4,9	27,1 ^{bc}	7,5	20,8	5,2	22,4	8,7
CE (µS/cm)	163 ^a	28	501 ^{bc}	46	502 ^b	58	612 ^c	112	481 ^b	131	412	91	455	167
$[\alpha]_{20}^D$ (° ml/g.dm)	-11,1 ^a	1,4	-12,6 ^a	5,0	-0,7 ^b	4,4	-11,4 ^a	4,2	-11,4 ^a	3,7	-7,2	6,8	-9,8	7,6
Couleur (mm Pfund)	63 ^a	19	108 ^b	16	103 ^b	10	137 ^c	3	110 ^b	22	112	21	110	26
HMF (mg/kg)	11,7	5,6	12,5	7,8	4,8	4,3	11,4	9,9	17,6	10,7	9,2	9,4	13,2	16,8
Proline (ppm)	269 ^a	75	689 ^c	148	521 ^{abc}	121	478 ^{ab}	44	758 ^{bc}	325	478	103	624	303

H : humidité ; AL : acidité libre ; CE : conductivité électrique ; HMF : hydroxyméthyl-2-furaldéhyde; $[\alpha]_{20}^D$: pouvoir rotatoire spécifique; n : nombre d'échantillons; SD : écart type, différentes lettres dans les rangs signifient diverses différences statistiques (p-value < 0,05) d'après le test de Duncan.

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Pour une meilleure visualisation des résultats, les histogrammes des figures 21 et 22 nous donnent la répartition des résultats de l'analyse physico-chimique par fréquence et par classe. Les miels sujets à cette étude sont des miels frais ayant un âge moyen qui tourne autour de 5 mois avec plus de 91 % du total des échantillons de moins d'une année. Ceci nous permet d'utiliser les données sans biais d'interprétation.

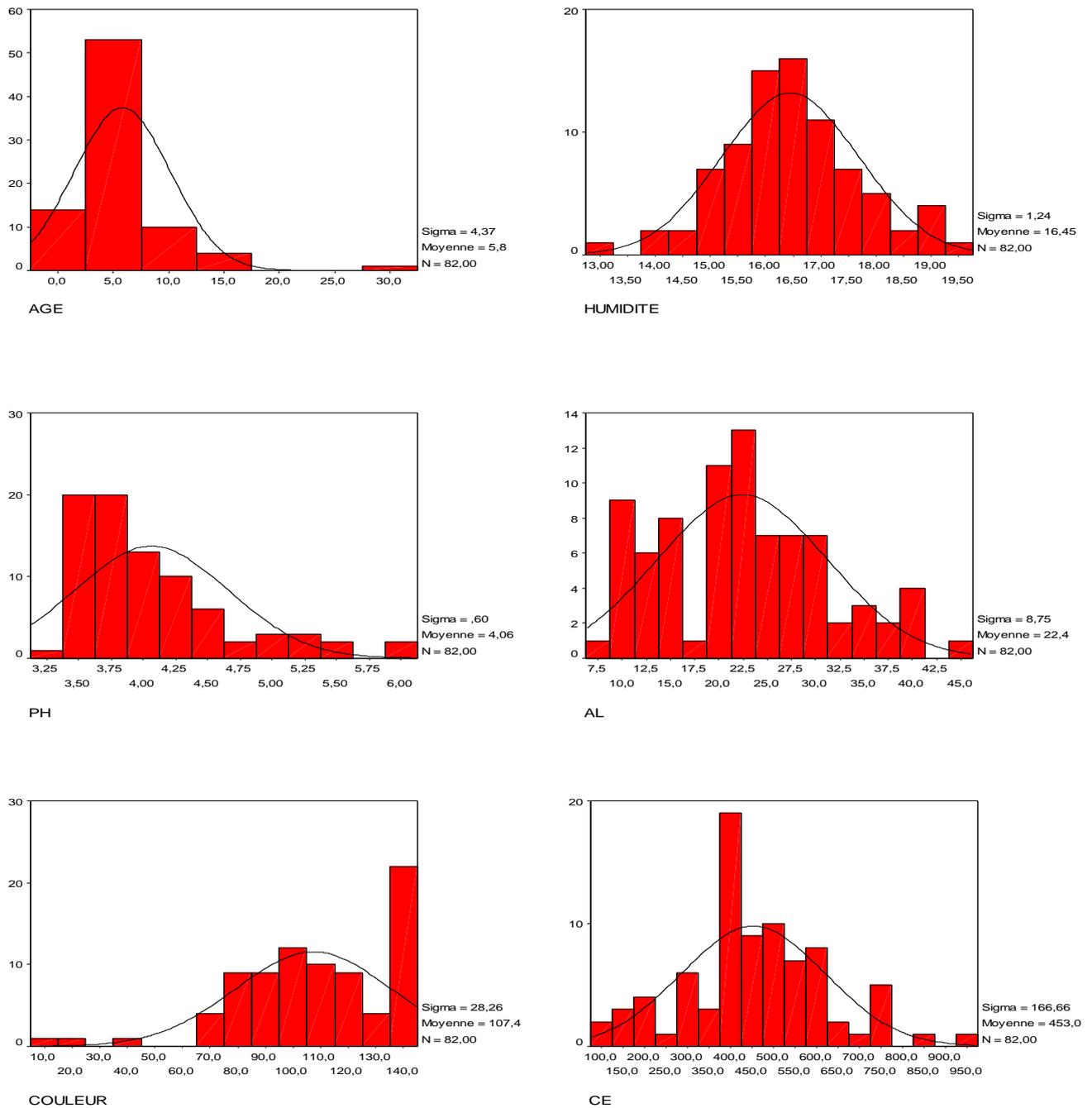


Figure 21 : Statistiques descriptives (H, pH, AL, CE, Couleur, âge) des échantillons de miels étudiés (histogrammes des fréquences par classe).

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

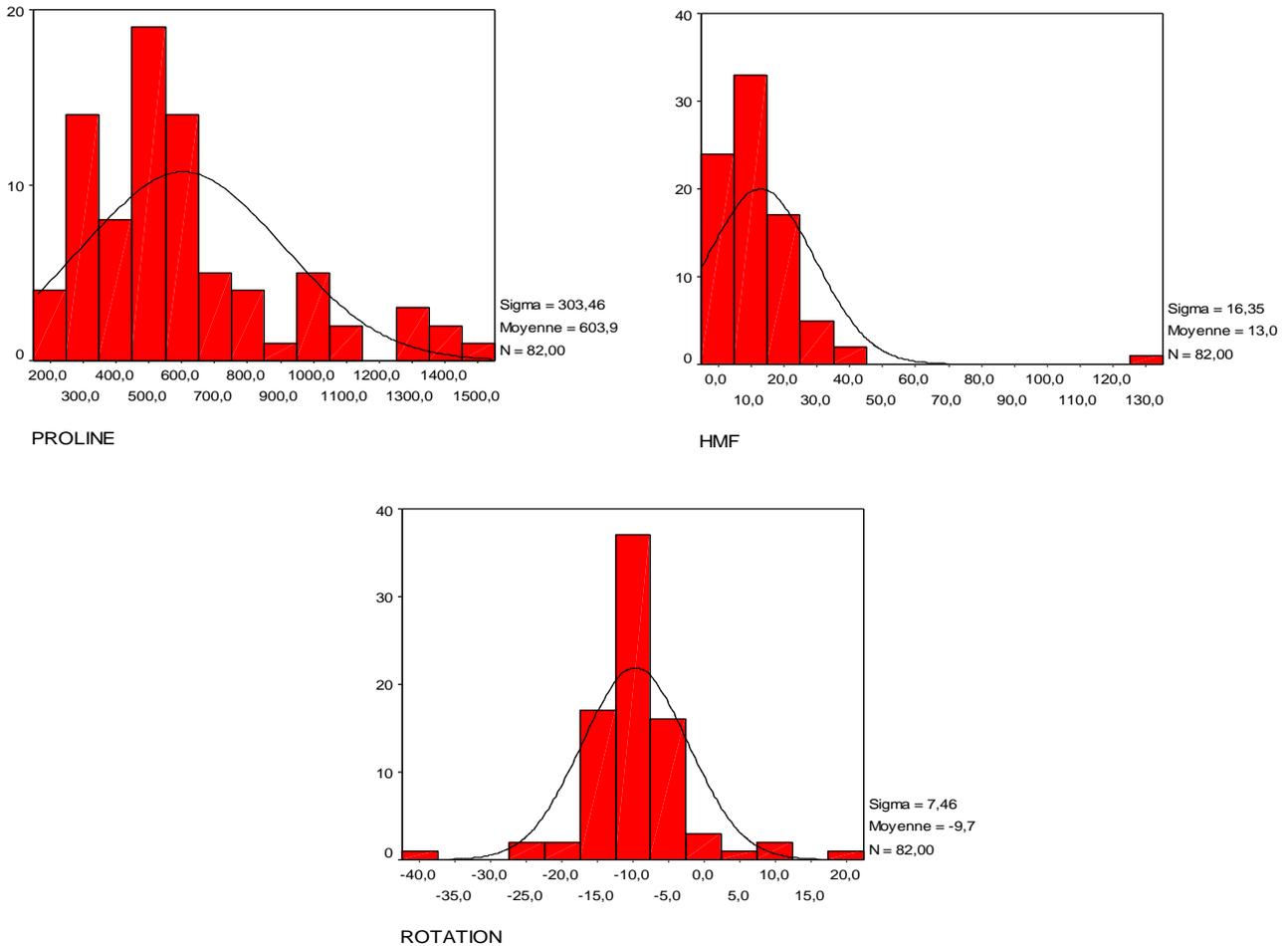


Figure 22 : Statistiques descriptives (proline, HMF, rotation spécifique) des échantillons de miels étudiés (histogrammes des fréquences par classe).

61 % de l'effectif a une humidité comprise entre 15,5 et 17 % avec une classe modale à 16,5 %. Plus de 79,3 % des miels ont des pH compris entre 3,5 et 4,5 dont 48,8 % se trouvent dans l'intervalle 3,5-3,75.

La répartition des acidités libres est très hétérogène montrant deux grands groupes. Le groupe 1 (28 %) où l'acidité est comprise entre 10 et 15 méq/kg et le groupe 2 (55 %) où elle est comprise entre 20 et 30 méq/kg.

Pour la conductivité électrique (CE) on distingue deux groupes : le premier avec les valeurs inférieures à 250 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (12,2 %) et le deuxième majoritaire avec des valeurs comprises entre 400 et 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (67 %). Le même résultat est observé pour les taux de proline où les échantillons sont scindés en deux groupes, le premier avec des valeurs

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

comprises entre 200 et 800 et le second entre 1 000 et 1 500 ppm, mais la classe modale est celle de 500 ppm, chiffre qu'on prendra comme référence.

La couleur montre une répartition particulière, où la classe modale représentée par les miels très foncés (26,8 %) à 140 mm Pfund se trouve en dehors de l'intervalle de confiance. Les autres échantillons se répartissent autour d'une valeur de 100 mm Pfund (entre 80 et 120). Les miels très clairs sont très peu représentés.

Le taux de HMF montre une répartition normale autour d'une classe modale à 10 ppm, les valeurs ne dépassant pas les 40 ppm en majorité. C'est aussi le cas pour la rotation spécifique qui varie entre -15 et -5° avec un mode à -10° .

Pour le *Codex Alimentarius*, ce sont d'abord l'humidité, l'acidité libre ainsi que le taux de HMF qui conditionnent la qualité commerciale et le devenir de l'échantillon sur le marché mondial, garantissant la fraîcheur du miel et écartant le risque de fermentation. Mais du point de vue nutritionnel, ce sont évidemment les autres critères analytiques qui classeront les miels de qualité ; nous citons la richesse en proline, en minéraux, en molécules bioactives (pigments, antioxydants, etc.)(Carnwath et al., 2014; Israili, 2013; Shenoy et al., 2012) ; (Aida, 2008; Jerkovic et al., 2014; Schneider et al., 2013). Les échantillons de miel analysés sont, donc, en conformité avec ces orientations, ce qui nous permet de dire qu'ils sont de bonne qualité globale.

Les grandes valeurs des écarts types pour certains critères et l'hétérogénéité des répartitions montrent qu'il existe de grandes différences entre les miels, cela étant dû à d'autres considérations que nous aborderons ci-après. Les tableaux 14, 15 et 16 montrent les résultats d'analyse des miels classés selon les facteurs ORIGINE, SAISON et REGION, ils donnent les résultats des classes sous forme de moyenne et d'écart type. Ils nous serviront à déterminer les paramètres physico-chimiques qui sont significativement différents selon le facteur choisi (Après analyse des variances ANOVA et le test de Duncan).

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Tableau 15 : Statistiques descriptives des miels selon le facteur Région (facteur secondaire).

	Montagne (n = 25)				Plaine (n =20)				Steppe (n =18)			
	min	max	moy	SD	min	max	moy	SD	min	max	moy	SD
H (%)	14,0	19,2	16,4 ^{ab}	1,4	14,8	18,6	17,1 ^b	0,9	13,0	17,8	16,0 ^a	1,13
pH	3,46	5,50	3,95 ^a	0,52	3,22	5,22	3,71 ^a	0,42	3,83	5,95	4,56 ^b	0,57
AL (méq/kg)	8,8	39,6	25,6	7,9	8,8	39,6	21,8	8,7	6,6	44,0	19,1	11,0
CE (µS/cm)	143	773	499,9	148,0	108	745	390,5	181,1	117	968	478,3	180,1
[α] ^D ₂₀ (° ml/g.dm)	-25,0	-4,5	-11,6 ^a	5,4	-41,2	-8,0	-12,9 ^a	7,0	-16,5	19,0	-3,8 ^b	8,2
Couleur (mm pfund)	71	140	113,2	25,5	18	140	100,2	34,4	10	135	101,2	28,7
HMF (mg/kg)	3,1	32,3	11,5	7,8	5,4	42,7	17,3	10,3	0,0	131,9	14,18	30,2
Proline (ppm)	177	1291	589,7	270,1	175	1516	662,6	378,4	300	1380	667,7	361,3

Min : valeur minimale, max : valeur maximale, SD : écart type, différentes lettres dans les rangs signifient diverses différences statistiques (p-value < 0,05) d'après le test de Duncan.

Tableau 16 : Statistiques descriptives des miels selon le facteur Saison (facteur tertiaire).

	Été (n = 42)				Printemps (n =20)				Automne (n =6)			
	min	max	moy	SD	min	max	moy	SD	min	max	moy	SD
H (%)	13,0	19,0	16,2 ^a	1,2	14,4	19,2	16,8 ^{ab}	1,1	16,4	19,0	17,3 ^b	0,9
pH	3,49	5,97	4,13	0,61	3,22	5,22	3,95	0,57	3,42	3,84	3,58	0,15
AL (méq/kg)	6,6	44,0	22,4	9,4	8,8	39,0	21,8	9,1	19,8	39,6	27,1	7,1
CE (µS/cm)	117	968	494,3 ^{ab}	155,7	108	733	367,1 ^a	179,6	300	675	505,2 ^b	132,3
[α] ^D ₂₀ (° ml/g.dm)	-25,0	+19,0	-9,1	8,0	-41,2	-4,9	-11,8	7,3	-15,0	-8,0	-10,4	2,5
Couleur (mm pfund)	10	140	111,8 ^b	27,3	18	139	89,3 ^a	28,5	115	140	131,5 ^b	10,5
HMF (mg/kg)	0,0	131,9	13,4	20,5	2,10	42,7	14,4	10,2	4,2	25,7	16,4	8,5
Proline (ppm)	300	1516	639,8	281,7	175	1337	572,7	398,8	500	1354	748,2	320,2

Min : valeur minimale, max : valeur maximale, SD : écart type, différentes lettres dans les rangs signifient diverses différences statistiques (p-value < 0,05) d'après le test de Duncan.

V.1.3 Facteur origine florale

Le tableau 14, donné précédemment, montre que la majeure partie des miels collectés sont des multif floraux ($\geq 46\%$). Les monofloraux les plus représentés sont les miels d'eucalyptus, de citrus et de ziziphus avec une proportion de 31,6 % à eux seuls (par rapport au nombre total d'échantillons). Ceci est probablement dû à la prévalence des échantillons de la zone A et S dans notre échantillon global (Voir figure 18). Des monofloraux des espèces *Asphodelus*, *Rosmarinus*, *Lavendula*, *Carduus*, *Peganum harmala*, *Daucus carota L.*, *Arbutus unedo*, *Vicia*, *Trifolium*, *Erica*, *Ferula*, *Tapsia* et *Brassica* spp. étaient sous-représentés dans l'échantillon global et sont classés dans le groupe « Autres ». Ce groupe nous donne de précieuses indications sur le potentiel mellifère du pays comme l'indique Ricciardelli D'albore (Ricciardelli d'albore, 1997).

La classification selon l'origine botanique était, en général, capable de différencier entre les groupes pour tous les critères ($p < 0,05$) sauf pour le HMF. Les différences significatives étaient causées par les groupes de miels de nectar de forêt, de citrus et de ziziphus.

Le groupe des miels de nectar de forêt était différencié par son Humidité, AL, CE, couleur et sa proline, alors que pour le groupe ziziphus, c'est les paramètres H, pH, $[\alpha]_{20}^D$ et proline qui le distinguent. En effet, ce groupe se montre particulier en tout point de vue. Il affiche :

- Des valeurs de pH plus élevées que le commun des miels de nectar estimés à $5,01 \pm 0,5$;
- De basses teneurs en humidité, en acidités libres et en HMF avec des valeurs respectives de $15,0 \pm 0,6\%$, $13,1 \pm 2,9$ méq/kg et $4,8 \pm 4,3$ mg/kg ;
- Une rotation spécifique particulière de $-0,7 \pm 4,47$ ml/g·dm, la plupart du temps positive, indiquant un profil particulier en sucres. En effet, Al Khalifa and Al Arify (1999) rapportent des résultats similaires pour les miels de Sidir aseer, issu de l'espèce «*Ziziphus spina-christi L.*», indiquant que c'est un caractère commun des nectars de la famille des rhamnacées.

La proline, qui est un critère de contrôle des adultérations (Von-der-Ohe et al., 1991), peut aussi être utilisée comme critère de discrimination comme cela a été rapporté par plusieurs auteurs (Sporns in Anklam (1998); Sabatini in Bogdanov et al. (2004) et Persano

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Oddo and Piro (2004)), qui parlent de miels riches et de miels pauvres en proline. Dans le cas du jujubier, les valeurs sont de 521 ± 121 ppm, plus élevées que celles avancées pour le miel de Sidir-aseer. Ceci est expliqué par la prévalence des facteurs environnementaux quand il s'agit de la quantité et de la qualité des acides aminés présents dans les nectars, mais aussi de la durée de travail des abeilles et de leur état physiologique. Notant, à titre d'information, que la proline et l'hydroxyproline sont les seules molécules appartenant à la classe III des acides aminés responsables de la stimulation des cellules gustatives sensibles aux sels (Nicolson and Thornburg, 2007).

Le groupe des miels de nectars de forêt montre des teneurs en humidités, en acidité, en conductivité et en couleurs les plus élevées, évaluées respectivement à $17,7\pm 0,8$ %, $28\pm 4,9$ méq/kg, 612 ± 112 μ S/cm et 137 ± 3 mm Pfund. Pour l'humidité, Nicolson and Thornburg (2007) confirment que la contenance en eau des plantes à nectar dépend des facteurs génétiques de la plante mais aussi du stress hydrique que celles-ci subissent pendant la floraison, ce qui se répercute sur l'humidité des miels. Pour les trois autres paramètres, l'intervention des miellats dans les milieux forestiers étant importante ; il est probable que des mélanges, même en faible quantités, influencerait d'une manière significative les paramètres généraux.

Les miels de citrus ont des valeurs intermédiaires d'humidité ($16,7\pm 0,6$ %) et présentent les plus faibles valeurs de conductivité et de couleur avec respectivement 163 ± 28 μ S/cm et 63 ± 19 mm Pfund. la conductivité électrique rejoint celle de tous les miels de Citrus cités dans la littérature. Ce paramètre est fortement dépendant de la source du nectar et peut être un indicateur potentiel d'origine géographique comme suggéré par plusieurs auteurs (Bogdanov et al., 2004; Manyi-Loh et al., 2011; Ruoff et al., 2006; Wang and Li, 2011).

Le pouvoir rotatoire des miels de Citrus présente une valeur moyenne de $-11,1\pm 1,4$ ml/g.dm. Cette valeur est légèrement inférieure à celles des miels de Citrus d'Europe qui affichent des valeurs de $(-13,5\pm 2,17)$ ml/g.dm). Ils ont aussi montré les plus faibles valeurs de proline comparativement aux autres groupes avec des valeurs autour de 269 ± 75 ppm. Cependant, ces valeurs sont, tout de même, plus élevées que ceux de citrus d'Andalousie (Espagne) rapportés par Serrano et al. (2004), avec des valeurs moyennes de $185,4\pm 126,5$ ppm.

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Les échantillons d'Eucalyptus étudiés sont comparables à ceux d'Europe pour la plupart des critères (Persano Oddo and Piro, 2004; Piazza and Persano Oddo, 2004), avec de légères différences dans le taux de proline et la couleur. Ces paramètres sont généralement influencés par la localisation géographique et par les taux d'expositions solaires de la flore qui induisent, en général, la synthèse de métabolites secondaires, responsables de la forte pigmentation des miels de notre pays (Gerhardt et al., 2008).

V.1.4 Facteurs Région et Saison

Le reclassement des miels, dans l'échantillon global, selon les régions a donné des groupes assez homogènes avec 39,68 % de miels de montagne (haute altitude), 31,63 % de miels de plaines (basse altitude) et 28,57 % de miels de steppe (régions semi-arides). Par contre, leur réarrangement selon les saisons de récolte a engendré des groupes très hétérogènes avec 61,67 % de miels d'été et juste 8,82 % de miels d'automne.

Les tableaux 15 et 16 présentent les résultats selon ces nouvelles répartitions sous forme de valeurs minimales, maximales, moyennes et écarts type.

La classification par région et par saison n'a pas permis l'obtention de groupes homogènes, mais il a été constaté que les miels des régions semi-arides étaient moins humides ($16,0 \pm 1,1$ %), moins acides ($\text{pH} = 4,56 \pm 0,57$) et présentaient des rotations spécifiques particulières ($-3,8 \pm 8,16$ ml/g.dm). Ceci est à relier aux espèces butinées dans ces régions. En effet, il existe une grande liaison entre le milieu où pousse une espèce et son comportement hydrique. Les plantes dans les milieux arides ont tendance à avoir de plus petites fleurs en plus faible nombre, cela permet d'économiser de l'eau, mais ce taux est également affectée par l'équilibre avec l'humidité ambiante (Corbet, 2003).

Les nectars à hexose ont tendance à s'évaporer plus lentement que les nectars à saccharose de la même concentration sur une base poids/poids, car plus de particules de soluté sont présentes pour abaisser l'efficacité de la contribution du solvant (eau). Pour la même concentration en sucre, les nectars à hexoses ont une osmolarité beaucoup plus élevée que celle du nectar à saccharose. Ceci conduit à une évaporation plus lente et des concentrations finales plus faibles qui sont en équilibre avec l'humidité relative ambiante, affectant ainsi la composition des nectars et leur comportement optique (Nicolson and Thornburg, 2007).

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

Les miels de plaine et de montagne n'ont pas montré des différences significatives sauf pour l'humidité, estimée pour le premier groupe à $16,4 \pm 1,4$ % et pour le second à $17,1 \pm 0,9$ %.

Les miels d'automne sont ceux qui montrent les plus grands taux d'humidités avec des valeurs de $17,3 \pm 0,9$ % correspondant aux niveaux d'humidité de la saison. En effet, Chirife et al. (2006) affirment que l'humidité des miels est fonction de plusieurs facteurs dont la récolte, les conditions climatiques, l'humidité du nectar d'origine et les conditions de stockage. Ce fait explique bien les résultats de la classification par région, surtout si on sait que dans notre échantillon global, 94,4 % des miels des régions semi-arides et 68 % des miels de nectar de montagne sont produits en été, alors que 50 % des miels de plaine sont des miels de printemps.

On conclut que les facteurs « région » et « saison » ne sont, en général, pas significatifs pour la discrimination entre les groupes, mais montrent des effets sur le pH, le pouvoir rotatoire spécifique et l'humidité pour la classification par région et sur la couleur, la conductivité électrique et l'humidité pour la classification par saison de récolte. On en déduit alors que le facteur région montre un effet sur la composition en glucides et en acides organiques alors que le facteur saison influe sur la composition minérale et pigmentaire, comme mentionné par Wang et al. (Wang and Li, 2011).

V.2 Choix des facteurs de discrimination

Le choix des paramètres s'est fait sur la base de la matrice de corrélation entre les paramètres analytiques par paire ($P < 0,01$ et $P < 0,05$) tel que cela est montré dans le tableau 17. Une forte corrélation a été trouvée entre la CE et le taux de cendres, nous permettant ainsi d'éliminer un des deux paramètres pour éviter la redondance dans l'analyse des données comme cela a été soulevé par Terrab et al. (Terrab et al., 2003a). De modestes corrélations au niveau 1 % ont été notées entre la CE, la couleur, l'acidité libre et le taux de proline. Enfin, le taux d'humidité et le HMF étaient faiblement corrélés avec l'acidité libre et le pH aux deux niveaux 1 et 5 %, indiquant que leurs valeurs sont indépendantes dans une large mesure de la composition du miel. Ces caractéristiques intrinsèques concordent avec les conclusions données par Escriche et al. (Escriche et al., 2009b) qui affirment que le taux de HMF est essentiellement dépendant de l'historique thermique des échantillons. L'humidité, quant à elle, dépend des conditions

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

pédoclimatiques, des traitements post-récolte et des bonnes pratiques apicoles (Chirife et al., 2006).

Cette étape est indispensable en chimiométrie pour ne pas donner de fausses déductions et rend plus fiables les arbres de décision utilisés dans ce type d'approches.

Tableau 17 : Corrélations binaires entre les paramètres physico-chimiques des échantillons de miel.

	H	pH	AL	Cendres	CE	$[\alpha]_{20}^D$	Couleur	HMF	Proline
H	1,000								
pH	-0,277**	1,000							
AL	0,396**	-	1,000						
		0,400**							
Cendres	0,133	0,061	0,464**	1,000					
CE	0,208	0,084	0,447**	0,851**	1,000				
$[\alpha]_{20}^D$	-0,236	0,382**	0,292	-0,192	-0,050	1,000			
Couleur	0,165	-0,160	0,385**	0,385**	0,522**	-0,074	1,000		
HMF	0,115	-0,195*	0,075	-0,074	-0,126	-0,096	0,091	1,000	
Proline	0,132	-0,192	0,455**	0,419**	0,384**	-0,144	0,406**	0,145	1,000

Déterminant =0,004188; ** Statistiquement différents à 1% ; * Statistiquement différents à 5 % ; $[\alpha]$ pouvoir rotatoire spécifique, H : humidité, AL : acidité libre, CE : conductivité électrique, HMF : hydroxyméthylfurfural.

V.3 Contribution des différents critères dans la discrimination entre les échantillons

Le tableau 17 met en évidence d'une façon claire une corrélation significative entre toutes les variables (au moins une) avec au moins une autre variable. Le déterminant, la sphéricité de Bartlett et l'adéquation KMO étaient en faveur d'une analyse ACP (Analyse en Composante Principale).

Pour montrer la contribution de chaque paramètre dans la différenciation des échantillons, trois composantes principales ont été extraites, décrivant au total 65,37 % de la variance. La première composante (PC1) explique 31,25 % de la variance (Figure 23) ; les paramètres dans la partie positive sont des paramètres liés à l'apparence du miel, à savoir : la CE, la couleur et la proline.

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

La deuxième composante (PC2) représente 20,92 % de la variance et elle est définie par deux groupes de paramètres inversement corrélés. La partie positive est représentée par l'humidité et l'acidité libre alors que la partie négative est représentée par le pH et le $[\alpha]$; cette composante peut être associée au goût du miel.

La troisième composante (PC3) (13,21 % de la variance) est caractérisée par une relation inverse entre le HMF (partie positive) et le pH (partie négative), suggérant un antagonisme entre les deux variables qui sont reliées à l'âge du miel. En effet, il est connu, depuis longtemps (Gonnet et al., 1964), qu'avec le vieillissement il y a une accumulation de HMF et une acidification des miels (une baisse de pH).

Après l'analyse globale des données, nous pouvons affirmer que tous les paramètres étudiés ici sont pertinents dans la classification des miels et dans la discrimination entre les échantillons, exception faite pour le HMF qui est pertinent pour l'estimation de la qualité mais en aucun cas pour la classification. La CE a été le plus fort paramètre pour la discrimination. Ce résultat confirme les conclusions de Bogdanov (Bogdanov et al., 2004) qui, néanmoins, met en avant la CE (premier rang) suivie de la couleur, de la proline, de $[\alpha]$, du pH puis de l'acidité libre, dans cet ordre.

Quand on observe les composantes principales et la bonne corrélation entre la couleur, la proline et la CE (Tableau 17), nous pouvons conclure que ce paramètre peut expliquer à lui seul près de 31 % de la variance.

La classification par origine botanique peut expliquer près de 52 % des différences entre les échantillons, suivie par la classification par saison (facteur secondaire) en relation avec les critères d'apparence des miels (PC1) puis la classification par région reliée aux attributs gustatifs du miel (PC2). Ceci revient au fait qu'il existe une plus forte relation entre l'origine botanique et la saison de récolte qu'avec la région. En combinant la physico-chimie et l'analyse statistique, trois groupes de miel sont bien distingués, à savoir les miels de Citrus, de Ziziphus et de nectar de forêt. Les miels d'Eucalyptus et les multifleurs se confondent et ne peuvent être différenciés par ces seuls paramètres.

Le groupe des miels de jujubier peut être différencié des autres groupes par son humidité, son acidité libre, son pH et son pouvoir rotatoire. En général, on peut constater qu'il a des propriétés qui lui permettant d'avoir une longue durée de vie. Les miels de nectar de forêt apparaissent comme le groupe le plus fragile et peuvent être discriminés par

Chapitre V. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS

leur CE, leur couleur et leur proline. La classe des Citrus était la plus différenciée ; elle montre une singularité aussi bien pour les facteurs de l'apparence que pour ceux du goût.

V.4 Conclusion

Au-delà du fait que les miels étudiés étaient de bonne qualité avec une richesse particulière en proline et une couleur attractive qui est, en général, plus foncée que celle de leurs homologues dans d'autres pays, la combinaison de la physico-chimie et de la chimiométrie nous a aidé à les classer, surtout quand on prend en compte le facteur origine botanique. Cependant, ceci ne diminue en rien l'effet des deux autres facteurs étudiés (région et saison) car ils peuvent expliquer la grande variabilité de certains paramètres. L'ACP a pu montrer que la CE est un très bon outil pour la discrimination entre les groupes de miel.

Le spectre pollinique aussi bien des monofloraux que des multifloraux change d'une aire géographique à une autre. Pour toutes ces raisons, les caractéristiques physico-chimiques de ces miels changent dans une large mesure, mais la prévalence de l'origine florale est claire ; un miel monofloral d'une espèce garde des caractéristiques globales stables qu'il soit issu de la Mitidja ou de l'Oranie.

Les groupes citrus, ziziphus et nectar de forêt ont été bien différenciés, ce qui n'est pas le cas des groupes eucalyptus et multifleurs malgré qu'ils soient plus représentés que les autres types de miels. Ceci confirme que l'approche chimiométrique est bien adaptée pour la discrimination et qu'elle n'est pas faussée par le nombre d'échantillons dans chaque groupe, problème posé par les difficultés pratiques de collecte des échantillons.

La présente partie montre aussi que les miels de jujubier, récoltés dans les régions semi-arides d'Algérie, sont des miels aux caractéristiques très typiques et qui devraient être proposés pour une labellisation ou une appellation d'origine contrôlée. Pour ce faire, de plus profondes investigations devraient être entreprises, ce qui fera l'objet du chapitre VI de cette thèse.

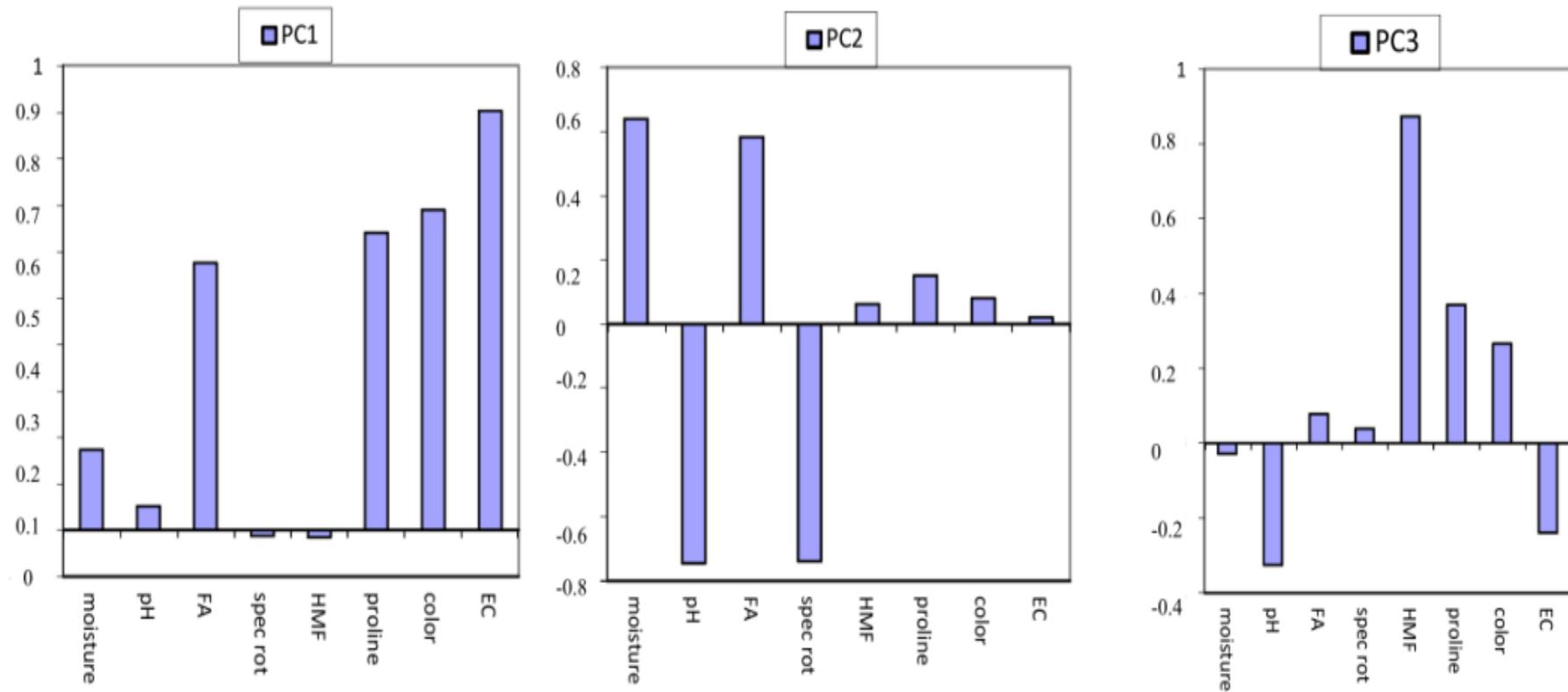


Figure 23 : Les trois composantes principales de l'analyse de la variance des échantillons de miel étudiés.

VI. Caractérisation des miels des régions semi-arides d'Algérie, Cas de *Ziziphus lotus L.* et d'*Euphorbia bupleuroïdes L.*

VI.1. Spectre pollinique, physicochimie, composition phénoliques et pouvoir Antioxydant

De par la situation centrale de l'Algérie en Afrique du Nord et de sa position particulière en région méditerranéenne, elle possède un gradient bioclimatique d'une diversité biologique de première importance (Amirouche and Misset, 2009); 40,5 % de la flore algérienne est rare à très rare (Chouaki, 2006). Celle-ci se traduit, entre autres, par un potentiel apicole important qui se base sur une flore mellifère spontanée, abondante et variée, aidée d'un climat généralement favorable à l'activité des abeilles (Louveaux and Abed, 1984).

Les régions arides et semi-arides représentent près des deux tiers de l'Algérie tellienne. Ces régions sont dominées par des xérophytes en touffes et subdivisées en deux types de steppes prépondérantes, celle dominée par des graminées pérennes (*Stipa tenacissima* (alfa), *Lygeum spartum* (sparte), *Stipa grostispungens* (drinn)) et celle formée de ligneux dont la plus typique celle à armoise blanche (*Artemisia herba alba*). Le caractère de fonctionnement de ces systèmes est la variabilité et le facteur limitant est l'eau (Le houèrou, 1995; Quezel and Médail, 2003).

L'immensité de ces territoires et l'absence d'études systématiques portant sur la flore apicole steppique font que les miels de ces régions soient très peu étudiés ou très mal connus. Louveaux et Abed en 1984 (Louveaux and Abed, 1984), rapportent quelques informations sur le profil pollinique de 59 échantillons de miels d'Algérie, mais les miels des régions steppiques n'étaient qu'au nombre de trois. Les auteurs citent que ces miels se caractérisent par le nombre restreint de taxons et l'existence de nombreux pollens d'espèces non identifiées.

Aujourd'hui, les avancées des études sur la flore apicole de la méditerranée, font que beaucoup d'espèces des régions arides ont été identifiées. En 1997 Ricciardelli D'albore (Ricciardelli d'albore, 1997), dans son ouvrage « Textbook of Mediterranean Melissopalynology » cite les genres suivants pour l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie et Tunisie) : *Artemisia spp.*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Pistacia*, *Lygeum*, *Stipa spp.*, *Peganum*,

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Dactylis, Trifolium, Hedysarum, Onobrychis, Medicago, Crucifereae, Phonix, Pimpinella, Ceratonia, Erica, Eryngium, Ononis, Retama, Carthamus, Lotus, etc. Ceci n'étant pas une liste exhaustive et la contribution de ces espèces à la composition du miel, dans certain cas, reste encore mal connue.

Le jujubier « *Ziziphus lotus L.* » de la famille des Rhamnacées, appelé « Sedra, N'beg, Djerdjer ou Azar » selon les régions (Baba Aissa, 1999) et l'Euphorbe « *Euphobia bupleuroides L.* » de la famille des Euphorbiacées, dite « Loubayna, Helayba, Halib el Diba ou Tanahout » du mot « laban = lait » à cause d'un suc laiteux blanchâtre, corrosif et bien souvent vénéneux, qu'elles secrètent, sont deux espèces qui poussent un peu partout dans l'Algérie tellienne et même sur le littoral.

Dès 1962 Quezel et Santa ont établi l'aire de répartition du jujubier en Algérie. Ils citent les régions de Ain Ouessara, Messaad (wilaya de Djelfa) et Taghit (wilaya de Béchar) comme étant des lieux privilégiés pour l'espèce, alors que l'euphorbe est surtout retrouvée dans les études sur les régions d'El Bayadh et de Nâama (Quezel and Santa, 1962). Un inventaire récent des plantes natives d'Algérie recense plus de 51 espèces d'euphorbiacées (Marouf, 2000). Il ne faut pas oublier que cette famille est la quatrième plus grande famille des plantes à fleurs avec plus de 6 000 espèces (Pritchard, 2003).

Comme beaucoup d'espèces, ces plantes font partie de la tradition populaire et des pratiques alimentaires et médicinales des habitants du Grand Maghreb, mais leur exploitation en tant que ressource apicole était quasiment inexistante jusqu'aux années 90. L'apparition de la nouvelle génération d'apiculteurs professionnels et le développement des pratiques apicoles, la transhumance essentiellement, a conduit à l'exploration de nouveaux territoires et à la redécouverte de nouvelles espèces mellifères. Il est donc primordial d'étudier et de préserver le patrimoine floristique de nos régions.

Ces deux familles sont connues pour être très nectarifères et peuvent donner des miels monofloraux dans certaines régions steppiques, où elles forment une population suffisamment dense et exclusive. Alors qu'aucune littérature ne signale de toxicité pour les miels de jujubier, les miels d'Euphorbiacées sont, selon les espèces, soit toxiques (*E. segueirana*), soit utilisés à des fins thérapeutiques (Damblon, 1988; Debbagh, 1988).

En 2011, une étude marocaine menée par Chakir et al. (Chakir et al., 2011) portant sur la caractérisation physico-chimique de quelques miels produits au Maroc, cite 9 groupes de

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

miels, dont les trois groupes de *Z. lotus* (n = 4), *E. résinifera* (n = 9) et *E. echinus* (n = 4), espèces endémiques du Maroc utilisées en médecine traditionnelle. L'origine botanique n'ayant pas été vérifiée et le nombre d'échantillons par groupe étant assez réduit, cette étude rend les conclusions relatives aux résultats obtenus, trop peu significatives.

La présente partie porte sur la caractérisation des miels de jujubier et d'euphorbe d'Algérie. En premier, l'analyse pollinique nous permettra de dresser les profils polliniques de ces miels et de déterminer leur caractéristiques mellissopalynologiques qualitatives et quantitatives. Ensuite, les analyses physico-chimiques nous permettront de mettre en relief leurs particularités de composition et de qualité par rapport à d'autres miels des mêmes familles (d'autres pays), où ils y sont qualifiés de miels uniques et très particuliers (Al Khalifa and Al Arify, 1999; Sergent, 2002).

VI.1.1 Identification de l'origine florale et du profil pollinique des miels

Le travail a été réalisé sur 27 échantillons de miels des régions de Laghouat, Djelfa, Médéa et El-Bayadh, dont 18 supposés miels de jujubier (*Z. lotus* L.) et 9 supposés miels d'euphorbe (*E. bupleuroides* L.). Les informations concernant la date de récolte, la région et l'origine florale supposée ont été enregistrées et illustrés dans le tableau 18 comprenant aussi les résultats de l'analyse pollinique. L'échantillonnage s'est étalé sur une période allant de l'été 2005 jusqu'à l'été 2010. La confirmation de l'origine botanique a été réalisée selon les méthodes harmonisées de la mellissopalynologie (Von der Ohe et al., 2004). Les spectres polliniques ont été établis ainsi que la détermination de la classe à laquelle appartient chaque miel.

Les figures 24, 25, 26 et 27 montrent les deux espèces étudiées et leur pollen sous microscope photonique. Du point de vue morphologique, le grain de jujubier est un grain triangulaire, tricolporé caractéristique des espèces de rhamnacées, de taille moyenne (18-20 µm). Le pollen d'euphorbe est beaucoup plus grand (35-45µm), il est subsphérique, colporé avec des endo-apertures latérales ; les apertures sont au nombre de 3. Sa surface est tectée de type crotonoïde comme décrit par Lobreau-Callen et al. (Lobreau-Callen and Cervera, 1997).

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE



Figure 24 : Photos de la plante de Ziziphus lotus.

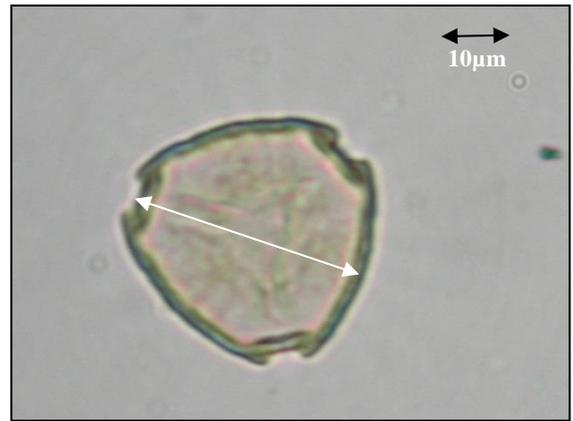


Figure 25 : Photos du pollen du jujubier ($\times 10^4$).



Figure 26 : Photos de la plante d'Euphorbia bupleuroides.

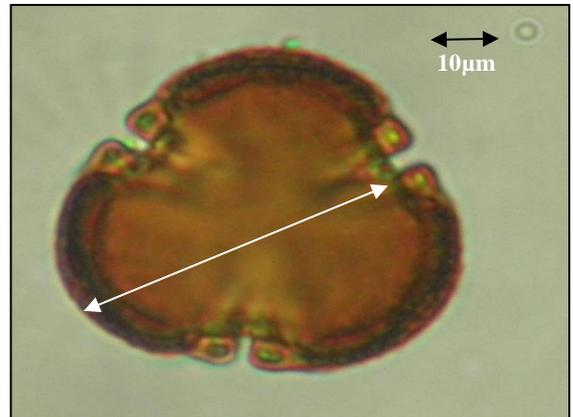


Figure 27 : Photos du pollen d'euphorbe ($\times 10^4$).

(Les photos sont originales et appartiennent à Mr. Mohammedi Arezki, laboratoire de recherche VALCORE)

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 18 : Identification des échantillons de miels de Jujubier et d'Euphorbe et résultats de l'analyse pollinique.

Code	Région de récolte	Date de récolte	Origine supposée	Résultats de l'analyse pollinique					
				Pollen dominant	%	Premier Pollen d'accompagnement	%	Nombre taxons	Classe
Z1	Laghouat	Juillet 2007	Ziz.	Ziz	50,0	Peg.	28,2	14	II
Z2	Ain Oussara (Djelfa)	Juillet 2007	Ziz.	Ziz	56,2	Peg.	22,9	8	I
Z3	Ain Oussara (Djelfa)	Juillet 2007	Ziz.	Ziz	75,0	-	-	7	I
Z4	Ain Oussara (Djelfa)	Juin 2005	Ziz.	Ziz	56,0	Peg.	22,6	8	I
Z5	Djenien (Ain Safra)	Juillet 2008	Ziz.	Ziz	73,4	-	-	7	I
Z6	NI	Juillet 2008	Ziz.	Ziz	73,2	-	-	16	I
Z7	NI	Juillet 2009	Ziz.	MF	-	ziz	30,0	15	I
Z8	Médéa	Été 2005	Ziz.	MF	-	ziz	43,6	19	I
Z9	Bouchahra (Laghouat)	Juillet 2007	Ziz.	MF	-	ziz	42,4	16	I
Z10	NI	NI	Ziz.	Peg.	52,2	Euc.	18,2	09	I
Z11	NI	NI	Ziz.	Ono.	70,4	Omb.	14,8	14	II
Z12	Ain Oussara (Djelfa)	Été 2008	Ziz.	Cha.	71,3	-	-	14	I
Z13	Laghouat	Juin 2007	Ziz.	Peg.	46,9	Ziz.	21,4	8	I
Z14	Ain Oussara (Djelfa)	Juin 2007	Ziz.	MF	-	Astera.	37,7	8	I
Z15	Djelfa/Laghouat	Juin 2007	Ziz.	MF	-	Euc.	32,3	12	I
Z16	Bouchahra (Laghouat)	Juin 2007	Ziz.	MF	-	Ziz.	29,1	7	I
Z17	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Ziz.	Ziz.	70,0	-	-	6	I
Z18	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Juillet 2010	Ziz.	Ziz.	48,0	Euph.	20	6	I
E1	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	54,4	Ziz.	16,3	19	I
E2	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	69,7	-	-	17	I
E3	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	75,9	-	-	12	I
E4	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	55,5	Ziz.	15,2	13	II
E5	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	77,3	-	-	14	I
E6	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	64,0	Ziz.	13,6	15	I
E7	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Euph.	70,3	-	-	12	I
E8	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Été 2010	Euph.	Ziz.	42,0	Euph.	34,7	8	II
E9	Labiadh Sidi Echikh (El Bayadh)	Sept 2010	Euph.	Euph.	57,8	Ziz.	26,8	6	II

Euph. : Euphorbia spp., Euc. : Eucalyptus spp., Ziz. : *Ziziphus lotus*, Peg. : *Peganum harmala*, Aster.: Asteraceae, Omb. : Umbelliferae, Cha. : Chardon, Ono. : Ononis, MF: Multifleur, NI: Non identifié.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

La classification par la méthode des dendrogrammes (Figure 28, gauche, méthode de Ward) a permis de dégager, sur la base de l'analyse pollinique, deux groupes distincts. Le premier groupe est représenté par les échantillons de miel contenant plus de 42 % de pollen de *Z. lotus* et dont les spectres sont relativement simples (moins de 10 taxons). Le second est caractérisé par un profil pollinique plus riche (plus de 12 taxons) et par la présence de pollen de *Z. lotus* sous forme de pollen isolé important ou isolé (en moyenne 11,83 %). Ces derniers sont, soit des multif floraux contenant du jujubier, soit des monofloraux d'autres espèces comme *E. bupleuroides*, *Peganum harmala*, *Ononis spp.* (Légumineuses) ou *Carthamus* (Asteracées).

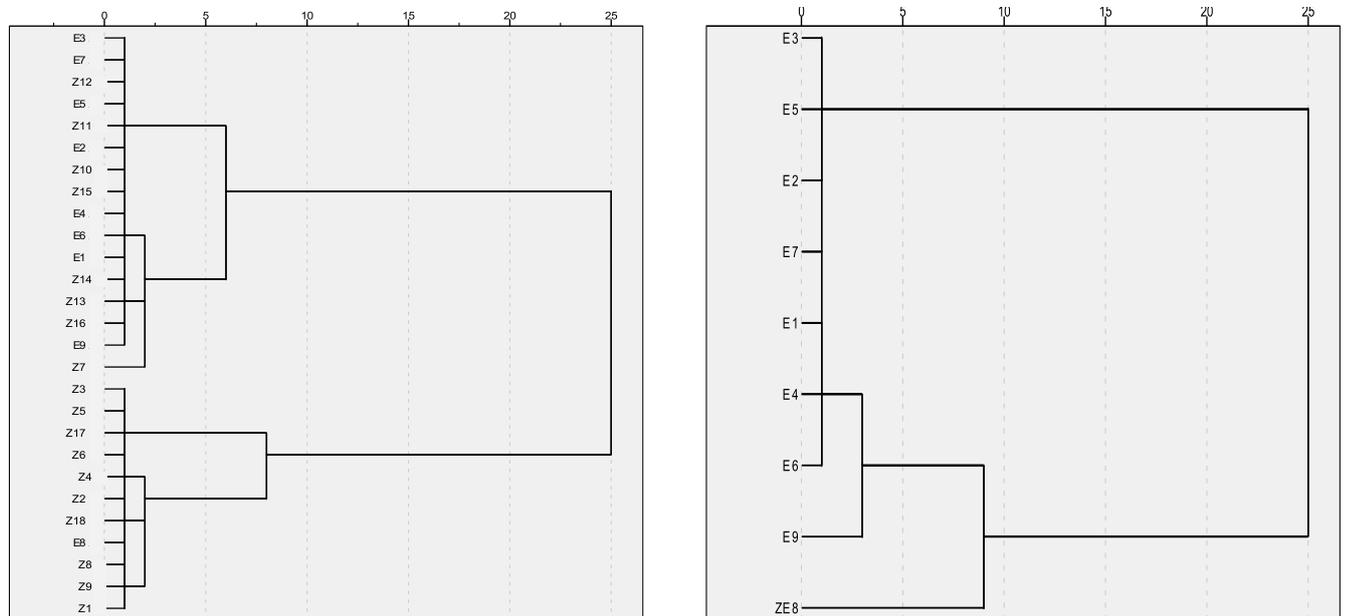


Figure 28 : Classification des miels étudiés par la méthode des Dendrogrammes (tous les échantillons/gauche, les miels supposés d'Euphorbia spp. /Droite).

Les pollens d'accompagnement du jujubier sont différents selon la région et l'année de récolte. Nous citons ici *Peganum harmala*, Brassicacées, Astéracées. Les pollens isolés importants ou isolés appartiennent, dans la plupart des cas, aux familles des Ombellifères, des Brassicacées, des légumineuses et des Compositées. La figure 29 montre le spectre simplifié d'un miel de « jujubier type » toutes régions confondues.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

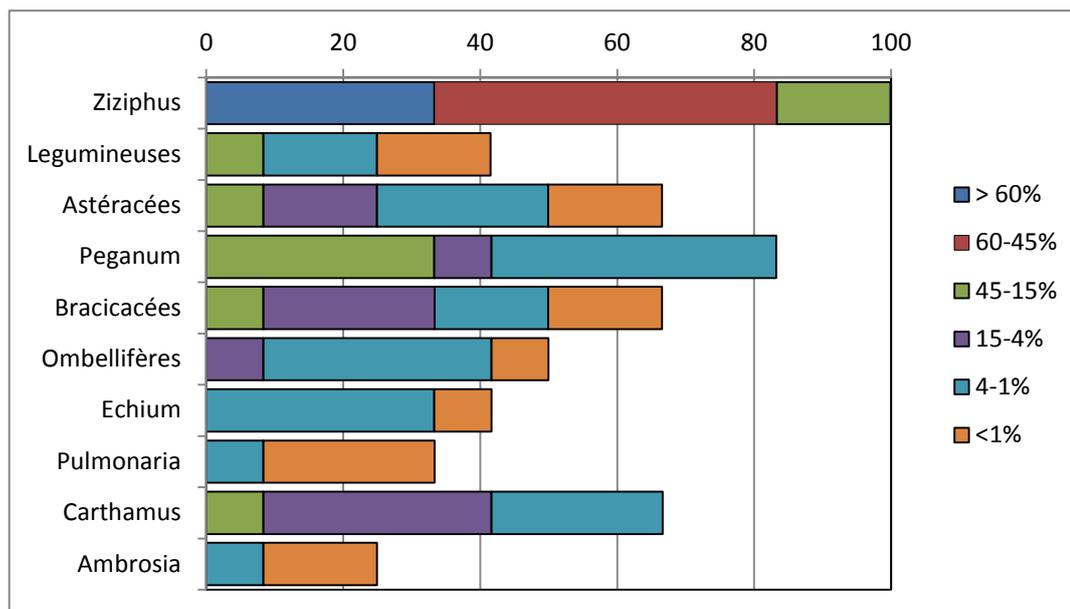


Figure 29 : Spectre pollinique global des miels de jujubier étudiés (différentes régions).

Les miels d'euphorbe (Figure 28, droite), provenant tous de la région l'El Bayadh, possèdent un spectre pollinique prédominé par le pollen d'Euphorbia spp. (> 54 %) avec un nombre de taxons supérieur à 12. Le pollen d'accompagnement majeur est le *Z. lotus* indiquant une juxtaposition des périodes de floraison des deux espèces avec une antériorité de l'euphorbe (fin printemps / début été) à cause de la présence de pollens de printemps dans ce dernier. Les autres familles de pollens quasi-présents sont (par ordre d'importance) : les asteracees, les compositées, les bracicacées, les ombellifères ; les pollens isolés et isolés importants montrent la présence constante des éricacées et de Eryngium (Figure 30).

La présence constante de pollen anémophile du type *Stipa tenacissima* et *Phoenix dactylefera* est observé dans les deux cas ainsi que la présence de contaminations tertiaires (rutacées, myrtacées, oleacées, cistacées) due probablement à la transhumance. Il est aussi constaté la quasi-absence d'indicateurs de miellat.

L'analyse pollinique quantitative montre que les deux types de miels (jujubier et euphorbe) appartiennent à la classe I, classe des miels monofloraux sous-représentés, c'est-à-dire dont le total des pollens dans 10 g de miel ne dépasse pas les 20 000 grains.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

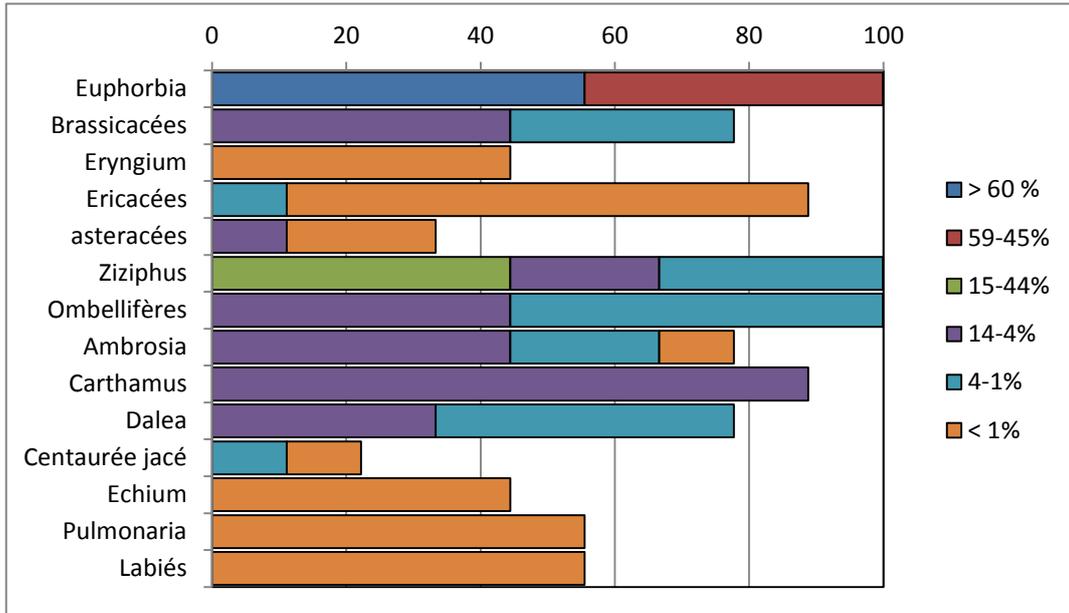


Figure 30 : Spectre pollinique global des miels d'euphorbe étudiés (région d'El Bayadh).

Selon Ricciardelli D'albore (1987), les spectres polliniques d'une région précise peuvent servir de base solide pour la détermination de la provenance du miel mais, il existe toujours des facteurs de variabilité qui sont :

L'activité humaine même sur de courtes périodes. La situation phyto-sociologique d'une aire géographique peut être significativement modifiée. L'impact est remarquable dans les systèmes agraires où l'installation des cultures participe à la disparition d'espèces florales au détriment d'une seule espèce (appauvrissement des spectres),

Les dynamiques des végétaux, c'est-à-dire toutes les modifications quantitatives et qualitatives des associations végétales au cours du temps, saisonnières (phénologiques), fluctuations pluriannuelles, modifications cycliques dues notamment aux invasions de parasites, successions autogènes ou allogènes (séries de végétation). Ces phénomènes peuvent trouver leur origine dans des actions humaines, des changements climatiques, des cicatrifications, comme après un incendie, etc.

L'évolution des populations de pucerons : généralement elle atteint son maximum de densité chaque 3 à 4 ans cela dépend surtout des espèces,

Les conditions climatiques qui conditionnent l'activité des butineuses et la quantité de nectar secrété par les plantes.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Les expériences sur le terrain montrent, aussi, qu'il suffit de 3 à 4 ans pour bien décrire un miel produit continuellement par le même apiculteur, dans la même zone et avec les mêmes techniques.

VI.1.2 Résultats de l'évaluation de la qualité physico-chimique

L'analyse pollinique et le test statistique de classification (Figure 28) nous ont permis de garder en final, trois groupes homogènes que nous nommons : les monofloraux de jujubier ($n = 8$), les monofloraux d'euphorbe ($n = 8$) et les multifloraux contenant du jujubier (MFCJ, $n = 7$). Les autres échantillons sont exclus. Les groupes serviront comme base à l'analyse statistique des caractéristiques physico-chimiques et de qualité.

Dans le souci de mettre sur le marché des miels de bonne qualité la réglementation internationale (*Codex Alimentarius* adopté par l'Algérie) et européenne (74/409/CEE) ont fixé des limites pour les critères les plus importants avec lesquels nous allons comparer nos résultats. Le tableau 19 résume les critères de qualité (H, HMF, proline, DN, G+F, G/H et F/G) avec les recommandations du *Codex* (colonne a). La synthèse des résultats obtenus est comme suit :

- Les miels étudiés ont des seuils d'humidité assez faibles allant de 14,63 à 15,19 %, ce qui élimine le risque de fermentation et leur assure de bonnes aptitudes à la conservation (Gonnet, 1982).
- Le taux en sucres réducteurs est, pour tous les échantillons, supérieur à 65 % et le taux de proline généralement supérieur à 180 ppm, ce qui dénote d'un état de maturité convenable. Dans notre cas, le groupe des miels d'euphorbe se différencie par un taux de proline moyen de $114,25 \pm 4,05$ ppm, plus bas que la limite inférieure des miels américains fixée à 150 ppm (Crane, 1990).

Selon Tabouret (1979), une humidité inférieure à 14 % ou supérieure à 20 % permet aux miels de rester parfaitement liquides pour des durées dépassant 13 mois de conservation, les ratios G/H et F/G sont utilisés pour expliquer ce phénomène complexe mais n'apportent que des indications. Les miels de jujubier sont restés liquides et n'ont présenté aucun signe de cristallisation ($G/H = 1,92 \pm 0,26$ et $F/G = 1,44 \pm 0,35$). Ces résultats sont en concordance avec les valeurs de F/G donnés pour Sidir Asser et Sidir Albaha (rhamnacées d'Arabie Saoudite) qui sont respectivement de 1,56 et 1,47 (Al

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Khalifa and Al Arify, 1999), indiquant que c'est un caractère général des miels de cette famille.

Les miels d'euphorbe étaient de cristallisation fine et rapide ($G/H = 2,15 \pm 0,16$ et $F/G = 1,33 \pm 0,06$). Les multif floraux contenant du jujubier (MFCJ) avaient des cristallisations intermédiaires. Ces tendances ne peuvent être expliquées que par la richesse en glucose des miels d'euphorbe, car les niveaux d'humidité et de fructose sont comparables pour les trois groupes.

Le DN des miels de jujubier ou contenant du jujubier est en moyenne de 36,06 et 32,43 Ushade respectivement, valeurs largement supérieures à celles citées par Al Khalifa and Al Arify (1999) pour *Z. spina christi* (L.) et Chakir et al. (2011) pour *Z. lotus* du Maroc qui se situent entre 4,00 et 9,3 Ushade dans le premier cas et 15,63 dans le second. En revanche, le DN n'est que de 14,63 Ushade pour les miels d'euphorbe, résultat comparable aux données sur *E. resinifera* et *E. echinus* du Maroc (Chakir et al., 2011) avec une moyenne de 13,89 Ushade.

Babacan et al. (2002) donnent un intervalle de pH optimal favorisant l'activité de la diastase situé entre 5,3 et 5,6. Ceci peut expliquer les valeurs élevées caractéristiques des miels des deux premiers groupes (jujubier ou contenant du jujubier) par rapport au troisième (euphorbe).

Les taux de HMF sont très bas et varient entre 0,0 et 18,7 mg/kg avec des moyennes ne dépassant pas 4 mg/kg, valeurs comparables aux résultats d'Al khalifa et al. (Al Khalifa and Al Arify, 1999). Ce résultat est une bonne indication de la fraîcheur des miels étudiés et leur qualité supérieure ($HMF < 5$ mg/kg) selon l'AFNOR (1990).

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 19 : Statistiques descriptives des critères de qualité des miels, classés par origine botanique.

	<i>Ziziphus lotus</i> (n = 8)				<i>Multifleurs contenant Ziziphus lotus</i> (n = 7)				<i>Euphobia spp.</i> (n = 8)				<i>Colonne a limite Codex alimentarius</i>
	Min	Max	Moyenne	SD	Min	Max	Moyenne	SD	Min	Max	Moyenne	SD	
H (%)	13,4	15,5	14,63	0,70	12,8	16,8	15,19	1,38	13,7	15,2	14,76	0,51	< 21%, généralement < 18%
HMF (mg/kg)	0,0	6,0	2,91	2,04	0,0	18,7	3,92	6,58	1,98	5,3	2,81	1,03	< 10 mg/kg (miels frais) < 40 mg/kg (limite légale)
Proline (ppm)	150	647	382,50	184,01	198	723	453,0	178,82	89	167	114,25	30,25	> 180 ppm
DN (Ush)	24,4	52,0	36,06	10,06	25	55	32,43	10,31	9,2	20,5	14,63	4,05	> 8 USh
G+F (%)	60,8	75,1	70,31	4,09	71,1	75,1	73,93	1,93	73,8	75	74,4	0,64	> 65 %
G/H	1,5	2,1	1,96	0,26	1,5	2,6	1,83	0,44	2,0	2,3	2,15	0,16	-
F/G	1,29	2,28	1,44	0,35	1,22	2,28	1,85	0,54	1,27	1,39	1,33	0,06	-

H : humidité, HMF : hydroxyméthylfurfural, DN : diastase, G : glucose, F : fructose, SD : Ecart type.

Tableau 20 : Profil en sucre des miels de jujubier et d'euphorbe.

Quantité (%)	Monosaccharides				Di- et tri-saccharides				
	Fructose (-)	Glucose (+)	Saccharose ^a (+)	Turanose ^a (+)	Maltose ^a (+)	Iso-maltose ^a	Erlose ^b (+)	Mélézitose ^b (+)	∑di et tri saccharides
Z	40,1	31,0	1,3	2,3	5,5	0,6	1,5	0,4	11,5
Z	36,2	24,7	0,0	3,9	7,5	3,1	2,5	0,5	17,6
Moyenne Z	38,15	27,85	0,65	3,1	6,5	1,85	2	0,45	14,55
E	42,0	33,0	1,3	1,6	4,6	0,5	0,0	0,0	8,0
E	42,9	30,9	1,1	1,7	4,0	0,4	0,0	0,0	7,3
E	41,1	33,8	2,5	2,1	4,9	Tr	Tr	0,0	9,5
Moyenne E	42,0	32,6	1,6	1,8	4,5	0,5	0,0	0,0	8,2

Tr : traces, a : disaccharides, b : trisaccharides. - : lévogyre, + : dextrogyre.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.1.3 Evaluation des paramètres de composition

Cette partie nous permet d'identifier les caractéristiques des miels reliées à leurs origines botaniques. Le pH, l'acidité libre (AL), la conductivité électrique (CE), le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]D_{20}$ (Rot), la couleur (Couleur), le taux de polyphénols totaux (Poly.), le taux de flavonoïdes (Flav.), l'activité anti-radicalaire (AAR), le taux de fructose (F), le taux de glucose (G) et enfin le taux de saccharose (S) sont regroupés dans le tableau 21.

Il apparait clairement à travers la représentation en box plots (Figure 31), que les groupes des miels de jujubier et d'euphorbe peuvent être différenciés grâce à plusieurs paramètres. Les plus pertinents sont le pH, la CE, le Rot ($[\alpha]D_{20}$) et la Couleur.

Le pH moyen des miels de jujubier se situe autour de 5,0 dans l'intervalle 4,5-5,5, confirmant les constats de Schweizer (1997) sur ce caractère commun des rhamnacées et qui est inédit pour les miels de fleurs. En revanche, le pH des miels d'euphorbe oscille entre 3,7 et 3,9 avec une médiane autour de 3,8. Celui des miels du groupe MFCJ tourne autour de 4,2 (intervalle 4,0-4,5), indiquant l'importante influence du nectar de jujubier.

La même tendance est notée pour la CE où la moyenne des miels de jujubier est largement supérieure à celles présentées par les MFCJ et les miels d'euphorbe dont les valeurs sont respectivement de 480, 400 et 260 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Ces valeurs sont deux fois plus basses que celles données pour *Ziziphus lotus* et *Euphorbia resinifera* du Maroc (Chakir et al., 2011).

Le pouvoir rotatoire spécifique (Rot) des miels de jujubier se situe autour de 0, fait déjà signalé pour les miels de rhamnacées (Schweizer, 1997), suivi par le groupe MF avec des valeurs moyennes autour de -5° et en dernier le groupe des miels d'euphorbe avec des valeurs caractéristiques de -20° . Ces grandeurs ne sont expliquées ni par le taux des sucres majeurs (glucose et fructose) ni par le taux de saccharose, qui ne dépasse pas les 2 % ($1,30 \pm 0,69$ % pour le jujubier et $1,15 \pm 0,19$ pour l'euphorbe). Les autres sucres (complexes) entrant dans la composition de ces miels peuvent être à l'origine de ses particularités (Battaglini and Bosi, 1973). Il faudrait donc des investigations plus poussées pour identifier les di et trisaccharides spécifiques des miels étudiés.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 21 : Statistiques descriptives des critères de caractérisation des miels, classés par leur origine botanique.

	<i>Ziziphus lotus</i> (n = 8)				<i>Multifleurs contenant</i> <i>Ziziphus lotus</i> (n = 7)				<i>Euphobia spp.</i> (n = 8)			
	Min	Max	Moy	SD	Min	Max	Moy	SD	Min	Max	Moy	SD
pH	3,5	6,1	4,96	0,91	3,8	5,3	4,34	0,48	3,5	4,0	3,83	0,15
AL (méq/kg)	10	27	14,75	5,95	12	23	17,71	4,54	13	18	15,13	1,73
CE (µS/Cm)	328	714	478,3	125,2	293	588	418,3	109,2	251	275	258,1	7,4
[α] ^D ₂₀ (° ml/g.dm)	-12,1	+7,9	-1,4	+7,6	-12,7	+19,0	-2,9	+10,6	-27,1	-14,6	-20,1	+3,9
Couleur (mm pfund)	88	119	100,9	11,3	77	119,0	101,6	15,8	119	130	124,5	5,9
Poly. (mg EAG/100 g)	33,3	76,2	54,51	16,19	33,3	70,2	56,34	13,81	43	66,7	51,01	7,54
Flav. (mg EQ/100 g)	8,6	22,6	15,60	4,15	8,6	24,1	16,49	4,56	13,3	30,3	20,45	5,70
Flav/poly (%)	23,7	32,6	28,94	3,15	24,8	52,4	30,11	10,03	25,7	49,1	40,25	9,45
AAR (%)	4,7	9,3	6,33	1,56	4,0	9,3	5,73	1,86	5,2	6,6	5,81	0,55
Fructose (%)	36,2	52,2	41,13	4,68	40,1	52,2	47,16	6,30	42,0	42,9	42,45	0,48
Glucose (%)	22,9	31,0	29,20	3,37	22,9	33,8	26,77	4,92	30,9	33,0	31,95	1,12
Saccharose (%)	0,0	2,6	1,30	0,69	1,3	2,6	2,21	0,63	0,9	1,5	1,15	0,19

AL : Acidité libre ; CE : Conductivité électrique ; HMF : Hydroxyméthyl-2-furaldéhyde; [α]^D₂₀ : Rotation spécifique; Poly : polyphénols totaux ; Flav : flavonoïdes ; n : Nombre d'échantillons; Différentes lettres en exposant indiquent les différences significatives au test de Duncan ($p < 0.05$) ; AAR : Activité anti-radicalaire; Min : Minimum; Max : Maximum; Moy : Moyenne ; SD : Ecart type.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

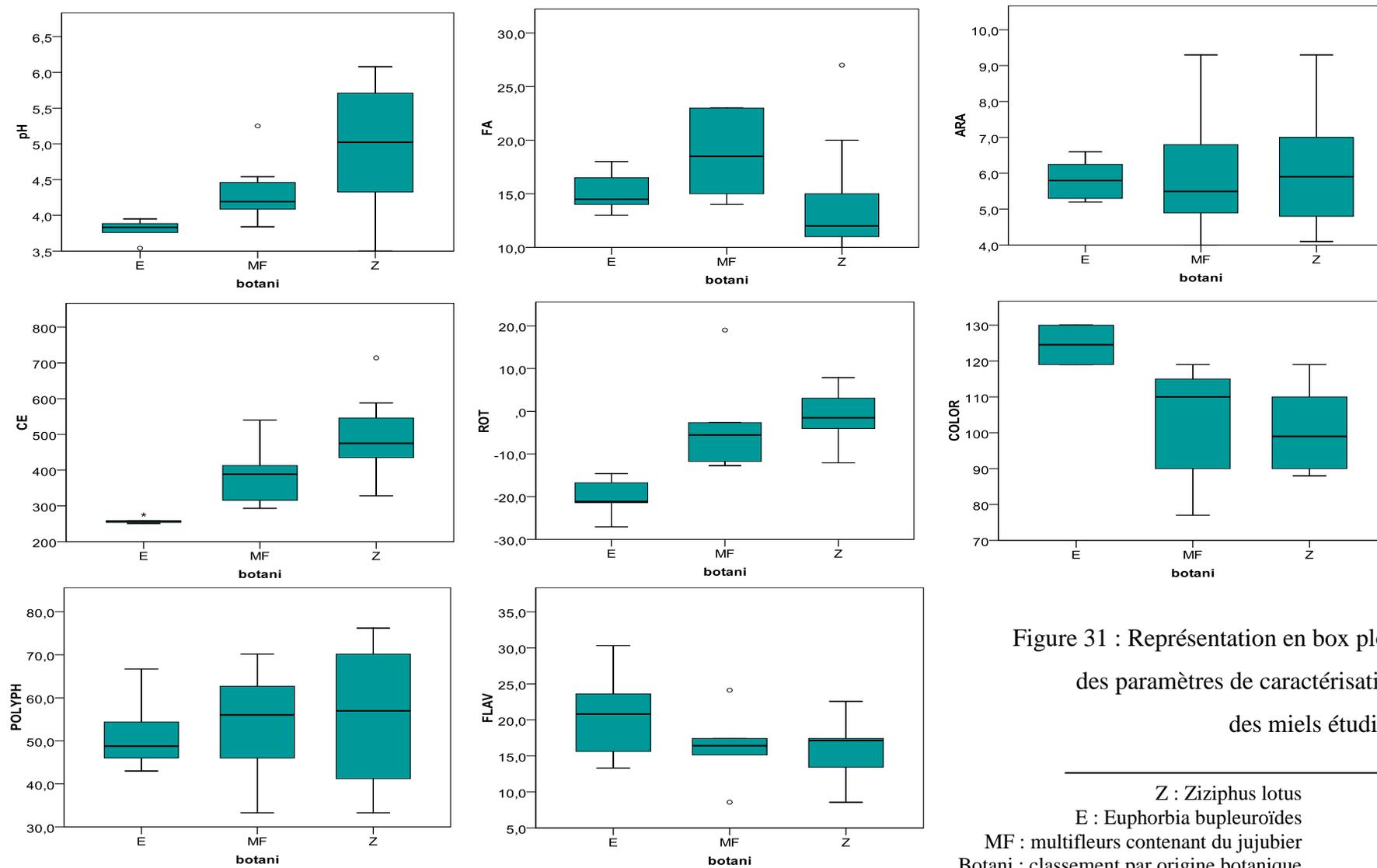


Figure 31 : Représentation en box plots des paramètres de caractérisation des miels étudiés.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

L'établissement du profil complet des sucres (Chromatogrammes en Annexe VIII) de deux échantillons de jujubier et de trois échantillons d'euphorbe, tel que montré sur le tableau 20 et illustré par la figure 32, confirment que le miel de jujubier contient près de 14,6 % de di et trisaccharides, alors que le miel d'euphorbe n'en contient que 8,3 %. Les sucres qui constituent cette fraction dans le jujubier sont, par ordre d'importance, le maltose, le turanose, l'erlose, l'iso-maltose, le saccharose et le mélézitose, alors que l'euphorbe ne contient ni erlose, ni mélézitose et est composé de maltose, de turanose, de saccharose et d'iso-maltose.

La présence de maltose, d'iso-maltose et de turanose est considérée comme normale, car ils existent dans pratiquement tous les miels à des niveaux différents selon l'origine botanique (Joshi et al., 2000; Persano Oddo et al., 1995; White et al., 1962), la présence d'erlose en grande quantité (sucre présent dans la gelée royale) et de mélézitose dans les miels de jujubier les rendent particuliers. Ils peuvent rejoindre les miels de nectar à caractère atypique avec les miels de *tilia* et de *castanea* (Persano Oddo et al., 1995), qui se rapprochent, en certaines caractéristiques, des miels de miellats, alors qu'ils sont issus de nectar.

Une étude menée par Terrab et al. (2001) sur 98 échantillons de miels et de miellats de l'Ouest du Maroc donne des taux comparables de maltose avec des valeurs allant de 2,82 à 5,67 % en moyenne pour les groupes de miels étudiés. Cependant, nos échantillons de jujubier montrent des taux beaucoup plus élevés d'isomaltose (1,85 % en moyenne), alors que les auteurs parlent de moyenne de 0,17 à 0,34 % dans un rang de 0 à 0,66 %. C'est le cas aussi de l'erlose qui est présent en grande quantité dans le jujubier (2,0 %), alors que ces mêmes auteurs avancent un rang de 0 à 0,43 % avec des moyennes variant de 0,01 à 0,16 %. Dans leur étude, le mélézitose n'était présent dans aucun miel de nectar sauf celui d'*apiaceae* mais à des niveaux très faibles, de l'ordre de $0,08 \pm 0,21$ % et dans le groupe des multifleurs avec des valeurs de $0,04 \pm 0,17$ %, valeurs attribuées aux mélanges accidentels à faible proportion de miellats et à la non homogénéité de l'origine florale des miels qui constituent ces deux groupes.

De ce fait, nous pouvons dire que les miels de jujubier ont un profil spécifique en sucres qui pourrait servir pour l'authentification de leur origine botanique. Ceci explique aussi en partie leur comportement physico-chimique.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

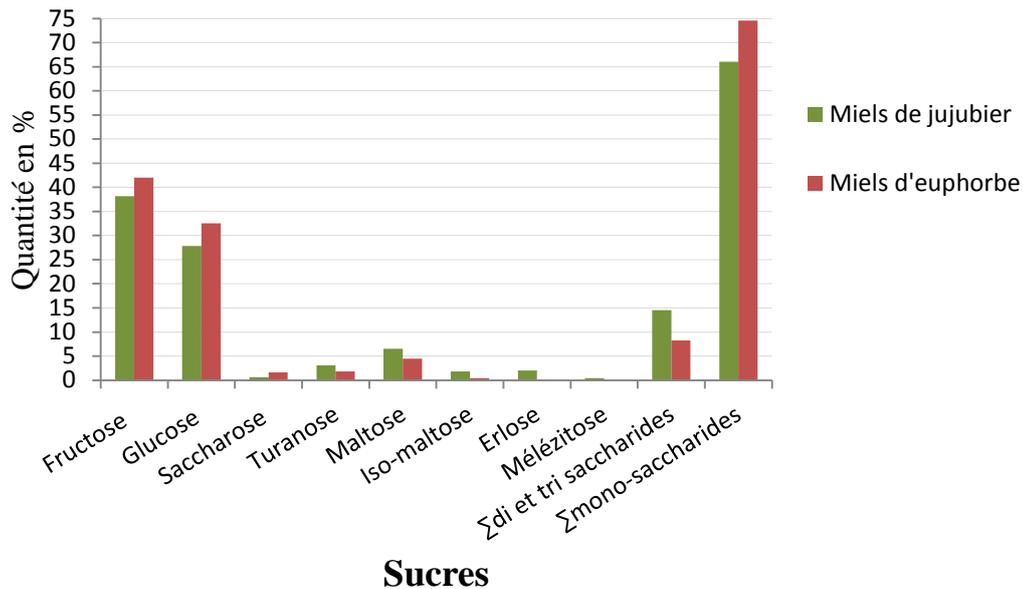


Figure 32 : Profil en sucres des miels de jujubier et d'euphorbe.

Du point de vue couleur, les miels de jujubier sont les plus clairs avec des valeurs moyennes de 99 mm Pfund, viennent ensuite les MF avec 110 mm, les miels d'euphorbe sont les plus foncés avec des valeurs de 125mm en moyenne. Les miels étudiés sont globalement plus foncés que les mêmes miels du Maroc cités par Chakir et al. (2011).

VI.1.4 Composition phénolique globale

La fraction phénolique est responsable d'une grande partie de l'activité antimicrobienne non peroxyde, anti-radicalaire et anti-oxydante des miels, dans laquelle, les acides phénoliques et les flavonoïdes sont les molécules les plus actives (Snowdon and Cliver, 1996). Ces composés sont souvent considérés comme des marqueurs de l'origine botanique du miel (Estevinho et al., 2008). Une quantification préalable du taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de l'activité anti-radicalaire (Tableau 21), dans les trois groupes de miels étudiés, nous a semblé importante avant de procéder à l'identification individuelle des composés, l'aspect quantitatif n'étant pas à négliger.

Le taux de polyphénols totaux pour les miels de jujubier était de $54,51 \pm 16,19$ mg EAG/100 g de miel, valeurs inférieures à celles citées par Al Mamary et al. (2002) pour *Ziziphus spinas christi*. Le taux de flavonoïdes est de $15,60 \pm 4,15$ mg EQ/100 g, représentant près du tiers des polyphénols totaux. Enfin, L'AAR est estimée à

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

6,33±1,56 %. Les miels d'Euphorbe, quant à eux, contiennent des quantités comparables de polyphénols totaux (51,01±7,54 mg EAG/100 g) et légèrement plus élevée de flavonoïdes (20,45±5,70 mg EQ/100 g), ces derniers représentent en moyenne 40 % de la fraction phénolique totale, l'AAR étant de 5,81±0,55 %. Cette corrélation positive entre le taux de polyphénols et l'activité antioxydante a été signalée par Gheldof and Engeseth (2002b), indiquant que ce sont les composés de cette fraction qui assurent la capacité antioxydante du miel. Ces auteurs excluent l'implication de l'acide ascorbique et de la glucose-oxydase.

Nos miels présentent des quantités modestes de polyphénols totaux par rapport aux valeurs données par Meda et al. (2005) pour les multifloraux avec une moyenne de 74,38 mg EAG/100 g, mais une grande richesse en flavonoïdes dépassant de loin la valeur maximale de 8,35 mg EQ/100 g avancée par le même auteur. Ceci indique que l'origine florale et géographique est d'une grande influence dans la composition de cette fraction. Comparés aux monofloraux d'Europe (Amiot et al., 1989; Kefalas et al., 2001; Martos et al., 2000), cette remarque reste valable. La différence est probablement due à l'exposition plus importante des plantes au soleil dans nos régions, ce qui favorise la production de flavonoïdes comme porteurs d'électrons pendant la photosynthèse (Elicoh-Middleton et al., 2000). Ces molécules ont une très grande importance dans l'alimentation humaine car elles jouent le rôle d'antioxydants protecteurs des cellules et constituent une valeur ajoutée au miel (Alan and Miller, 1996).

VI.1.5 Composition de la fraction minérale des miels de jujubier

Dans cette partie de notre étude, la fraction minérale est récupérée et analysée uniquement pour les miels de jujubier ou contenant du jujubier. Les concentrations des différents minéraux analysés sont représentées dans le tableau 22. Deux faits sont à relever : le premier est que les minéraux les plus dominants sont le potassium (K), le calcium (Ca) et le sodium (Na). Le fer (Fe) et le magnésium (Mg) se retrouvent à des pourcentages constants d'environ 1 % et les autres minéraux sont présents sous forme de traces. Les monofloraux de jujubier présentent une dominance de K suivi de Ca puis de Na, alors que les multifloraux étudiés montrent un profil minéral très différent avec une prévalence de Ca, suivi du Na ensuite vient le K en troisième position. Al Khalifa and Al Arify (1999) donnent des valeurs de K et Na plus importantes que celles trouvées, mais parlent de seuils comparables pour les autres minéraux, pour l'espèce de *Ziziphus*

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

saoudienne. Ceci indique que nos échantillons sont pauvres en minéraux. Allant dans le même sens que les résultats de la CE, ces deux paramètres peuvent donc être utilisés pour la confirmation de l'origine botanique et géographique des miels de Rhamnacées. Notons, par ailleurs, que les seuils de cumulation des métaux lourds (Cd et Pb) sont très bas oscillant autour de 10 ppb.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 22 : Composition en minéraux des miels de jujubier ou contenant du jujubier en ppm.

Résumé des résultats de l'analyse du profil minéral (ppm)										
	Cd	Pb	Ni	Mn	Fe	K	Ca	Na	Co	Mg
Echantillon	Multifloraux contenant du jujubier (n = 7)									
Mean	0,0139	0,0163	0,0307	0,077	0,969	20,066	47,486	30,766	0,0266	1,072
±SD	±0,0097 ^b	±0,0188 ^b	±0,0232 ^b	±0,047	±0,625	±15,791 ^a	±32,905 ^b	±33,871 ^b	±0,0149	±1,145
Median	0,0120	0,0105	0,0209	0,0645	0,975	19,470	35,461	23,738	0,0293	0,675
Min	0,0042	0,0025	0,0130	0,0240	0,276	0,970	16,000	1,520	0,0075	0,2498
Max	0,0270	0,0540	0,0743	0,1380	1,940	42,4286	95,000	95,000	0,0422	3,230
	Monofloraux de jujubier (n = 8)									
Mean	0,0107	0,0092	0,0234	0,0685	0,923	40,396	29,510	17,370	0,0315	0,926
±SD	±0,0047 ^a	±0,0033 ^a	±0,0084 ^a	±0,0381	±0,378	±21,051 ^b	±24,999 ^a	±10,543 ^a	±0,0192	±0,4940
Median	0,0096	0,0101	0,0246	0,0690	0,882	39,488	18,821	12,041	0,0319	1,038
Min	0,0066	0,0033	0,0122	0,0255	0,404	13,305	10,916	9,557	0,010	0,3276
Max	0,0190	0,0123	0,0352	0,1245	1,547	71,739	77,500	35,870	0,0570	1,567
Al khalifa et al. (sidir)	Asser	Nd	0,090±0,050	-	0,080±0,001	1,04±0,08	483,0±4,3	-	37,1±2,92	-
	Albaha		0,030±0,110		0,180±0,001	1,64±0,22	93,3±4,9	-	27,5±0,01	-

(a,b) Différentes lettres indiquent les groupes significativement différents (p < 0,05)

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.1.5 Etude des corrélations

De la matrice de corrélation (Tableau 23), nous sortons avec les constats suivants (les chiffres donnés entre parenthèses représentent les coefficients de corrélation) :

- La CE des miels étudiés est très reliée à l'acidité exprimée en pH (+0,841) et elle évolue dans le sens inverse de la couleur (-0,663), ce qui veut dire que la couleur ici ne dépend pas autant de la composition en minéraux qu'il est commun de constater (Gonnet, 1982).

- Le pouvoir rotatoire spécifique est corrélé à la couleur, ce qui signifie que le type de sucres composant le miel a une influence sur sa couleur. Dans notre cas c'est le taux de glucose qui provoque cette différence. La couleur est aussi influencée, d'une façon importante, par le taux de flavonoïdes (+0,527).

Une étude de Frankel et al. (1998) rapporte une corrélation positive de l'activité antioxydante, de miels monofloraux d'amérique avec la couleur et l'humidité, c'est-à-dire que ce sont les miels les plus humides et les plus foncés qui avaient la plus grande capacité antioxydante, ce qui n'est pas le cas pour les miels de jujubier et d'euphorbe où il n'existe aucune corrélation significative au niveau 0,01. Une seule corrélation au niveau 0,05 (0,416) entre AAR et le pouvoir rotatoire est trouvée, mais on peut constater qu'elle reste moyenne pour affirmer l'existence d'une quelconque relation.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 23 : Matrice de corrélation entre les différents paramètres de caractérisation.

	Coefficient Pearson Corrélation											
	pH	AL	CE	Rot	Couleur	Poly.	Flav.	G	F	S	Flav/Poly	AAR
pH	1											
AL	-,171	1										
CE	,841**	,043	1									
Rot	,680**	,196	,703**	1								
Couleur	-,611**	-,214	-,663**	-,596**	1							
Poly.	,058	-,082	,198	,175	,141	1						
Flav.	-,248	-,149	-,318	-,328	,527**	,445*	1					
G	-,435*	,012	-,460*	-,681**	,279	-,293	,248	1				
F	,100	,092	,161	,312	,032	,281	-,025	-	1			
S	,134	,153	,255	,364*	-,127	,232	-,039	-	-	1		
flavo/poly	-,301	-,088	-,482**	-,458*	,458*	-,292	-	,463*	-,207	-,170	1	
AAR	,197	,265	,246	,416*	,158	,169	,079	-,082	-,024	-,033	-,042	1

** . Corrélation significative au niveau 0,01 (1-tailed).

* . Corrélation significative au niveau 0,05 (1-tailed).

G : glucose, F : fructose, S : saccharose, Poly : polyphénols totaux, Flav : flavonoïdes, AL : acidité libre, CE : conductivité électrique, Rot : pouvoir rotatoire spécifique.

AAR : activité antiradicalaire.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.1.6 Conclusion

Cette partie de l'étude, portant sur deux miels des régions semi-arides d'Algérie, nous a permis de définir les caractéristiques d'un miel de jujubier « type ». C'est un miel qui comporte plus de 42 % de pollen de *Z. lotus*, mais du point de vue quantitatif, il appartient à la classe I, c'est un monofloral sous représenté. Son profil pollinique comporte un nombre restreint de taxons ne dépassant pas dix. L'aire de répartition que nous retenons est la région de Laghouat, Djelfa, Aïn Safra et Al Bayadh.

Il se caractérise par un pH élevé par rapport aux miels de nectar, un pouvoir rotatoire plutôt dextrogyre, ressemblant en cela aux miels de miellats. Par contre, sa conductivité électrique et sa couleur le classent bien dans les miels de fleurs. Il est très riche en flavonoïdes qui représentent le tiers de ses polyphénols totaux. La fraction minérale est dominée par le potassium mais elle est relativement pauvre par rapport à celle d'autres miels de rhamnacées d'autres pays. Ce sont des miels qui restent liquides très longtemps (de plusieurs mois à plusieurs années).

Du point de vue qualité, il présente des taux de HMF de départ très bas et des DN très élevée (moyenne de 36,06 Ushade), avec des taux de proline moyens de 328,1 ppm, ce qui est exceptionnel pour un miel de fleur.

Les miels d'euphorbe « type » sont prédominés par le pollen d'*Euphorbia* spp. (> 54 %) avec un nombre de taxons supérieur à 12. Ce sont aussi des miels sous-représentés en pollen. Leur physico-chimie correspond parfaitement aux miels de nectar, mais ils sont assez foncés (ambré foncé) malgré leur pauvreté marquée en minéraux. Cette couleur est apparemment reliée à la fraction flavonoïde qui représente plus de 40 % des polyphénols totaux. Ils sont de cristallisation rapide et fine (quelques jours à quelques semaines). Leur taux de proline est faible (< 180 ppm) et il est de même pour leur DN (14,63 Ushade en moyenne).

Quant aux multif floraux contenant du jujubier, ils semblent être très influencés par le pourcentage du nectar de jujubier, 30 % de pollen de *Ziziphus lotus* dans le spectre pollinique d'un miel suffit pour hisser toutes les caractéristiques physico-chimiques vers celles des monofloraux de jujubier, mais le profil minéral est révélateur du caractère multifloral, avec une prédominance de Ca.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Pour la différenciation de ces types de miel des autres, on pourra se baser surtout sur les paramètres suivant : pH, acidité libre, conductivité électrique et pouvoir rotatoire spécifique.

L'étude de la fraction minérale des miels de jujubier révèle la prédominance du potassium, du calcium et du sodium avec la présence constante de fer et de magnésium. En dernier, l'analyse des corrélations entre les paramètres laisse supposer l'existence d'une relation forte entre la couleur de ces miels et la fraction flavonoïde. Cette dernière est présente en quantités importante (15-30 mgEQ/100 g) par rapport aux taux habituellement rencontrés dans les monofloraux d'Europe (1-6 mg EQ/100 g).

Ces deux miels de la steppe algérienne présentent des particularités importantes par rapport aux autres miels, leur richesse en flavonoïdes et en polyphénols, probablement très typiques des plantes butinées, présente un potentiel « santé » que nous allons aborder dans la dernière partie de ce travail (VI.2).

VI.2. Évaluation in vitro du pouvoir antimicrobien

Depuis longtemps, l'efficacité du miel est bien connue contre les maladies infectieuses provoquées par les microorganismes tels que : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenese* (Brasson and Gobler, 2008; Lin et al., 2009). Il a été signalé comme inhibiteur de plus de 60 espèces de bactéries aérobies et anaérobies, Gram+ et Gram-. Une action antifongique a été également observée pour certaines levures et les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* (Molan, 1992a), ainsi que toutes les dermatophytes communes (Brady et al., 1997).

Plusieurs facteurs participent à cette activité, nous citons : l'osmolarité, l'acidité, la viscosité, le H₂O₂, les inhibines non peroxydes telles que les lysozymes, flavonoïdes, acides phénoliques, acides aromatiques, etc. (Bogdanov and Blumer, 2001). en 1997 Bogdanov suggère que les inhibines non peroxydes dépendent de l'origine botanique mais aussi viennent de l'abeille elle-même (Bogdanov, 1997b). Ces molécules ont été classées en quatre groupes : neutre, acide, basique et volatile. Cependant et selon le même auteur dans une étude de 2008 (Bogdanov et al.), c'est la fraction acide qui avait l'activité la plus marquée pour les miels de fleurs et de miellats étudiés. Cette action dépendrait aussi de son conditionnement et des conditions de stockage (Salomon, 2010).

Plusieurs études ont fait la relation entre cette AAM (activité antimicrobienne) et l'origine florale de certains miels (miellat de conifères, miel de *Castanea sativa*, miel de manuka, etc.). La relation de cette activité avec la couleur foncée a toujours été signalée (Dustman, 1979), mais les variations sont tellement grandes qu'il est très difficile de faire certaines associations, à moins de travailler avec un grand nombre d'échantillons de miel d'origine florale bien établie, sur plusieurs récoltes, de plusieurs années (Molan, 1992b). D'autres auteurs ont corrélé l'AAM avec les polyphénols et surtout les flavonoïdes (Escriche et al., 2014; Je-Ruei et al., 2013) ou avec des substances protéiques issus de bactéries vivants dans le tube digestif des abeilles (Mundo et al., 2004).

La recherche de l'activité antimicrobienne des miels revêt, actuellement, un très grand intérêt car ces derniers sont de plus en plus utilisés dans le domaine médical, là où les médicaments n'arrivent plus à donner les résultats espérés, comme dans le cas des souches

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

pathogènes résistantes aux divers traitements médicamenteux. C'est l'exemple de *S. aureus* et *Helicobacter pylori* isolés d'ulcères gastriques ou de brûlures infectées (Al Somal et al., 1994; Cooper et al., 2002b; Cooper et al., 2001; Majtanova et al., 2013; Willix et al., 1992) ou de *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus acidophilus* incriminés dans l'occurrence de caries dentaires (Jaganathan, 2011; Patel et al., 2011). La médecine moderne redécouvre aujourd'hui les vertus du miel et y cherche des possibilités nouvelles pour contrecarrer les maladies.

L'engouement du consommateur algérien, ces dernières années, pour les miels des régions semi-arides pour des utilisations dans les médecines douces nous, a poussé à faire des investigations quant à l'action que pourrait avoir ces miels sur la santé, loin de l'aspect strictement nutritionnel.

L'objectif de cette partie est de quantifier l'activité antimicrobienne des miels de jujubier (*Ziziphus lotus*) et d'euphorbe (*Euphorbia bupleuroides* L.) vis-à-vis de trois souches bactériennes (*E. coli* /G- ; *S. aureus*/G+ et *P. aeruginosa*/ G-) et d'une souche fongique (*C. albicans*), toutes pathogènes et impliquées dans diverses infections. Le fractionnement de ces miels en quatre parties (volatile, neutre, acide et basique) nous permettra d'examiner la fraction qui contient les molécules les plus actives afin de mieux orienter l'utilisation de ces deux types de miels.

VI.2.1. Description des échantillons et du matériel biologique

L'expérimentation a porté sur 12 échantillons de miel de jujubier et d'euphorbe, en provenance de différentes régions et de différentes années de récolte. Leur origine florale a été confirmée par analyse pollinique. Les souches tests utilisées sont des souches de référence connues pour leur sensibilité au miel : *Escherichia coli* (ATCC/25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC/25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC/9027) et *Candida albicans* (ATCC/10231), procurées au centre de recherche et de développement (SAIDAL).

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.2.2 Confirmation de l'origine florale et analyses physico-chimiques

Le tableau 24 énumère les échantillons étudiés avec leur code et quelques renseignements concernant leur date et région de récolte ainsi que les paramètres généralement reliés à l'effet antimicrobien (Polyphénols totaux, poly., Flavonoïdes, flav., Acidité libre, AL, et Activité diastatique, DN). Après vérification de l'origine botanique par analyse pollinique, les échantillons qui ne correspondent pas aux groupes choisis ou dont la pureté de l'origine botanique n'est pas adéquate, n'ont pas été pris en compte lors du regroupement des résultats pour l'analyse statistique.

Le taux de polyphénols des miels étudiés oscille entre 46 et 90 mg EAG/100 g avec une moyenne de $61,7 \pm 18,2$ pour les miels de jujubier et $55,2 \pm 5,6$ pour les miels d'euphorbe. Les flavonoïdes représentent $13,4 \pm 7,9$ et $21,7 \pm 11,3$ mg EQ/100 g pour le jujubier et l'euphorbe respectivement, ce qui donne, en terme de ratio flav/poly, des chiffres de l'ordre de 22,3 % pour les premiers et 40,9 % pour les seconds. Ceci indique que les miels de jujubier sont pauvres en flavonoïdes malgré leur taux acceptable en polyphénols totaux. Ces composés sont connus pour leurs effets bénéfiques pour la santé et sont souvent utilisés comme bio-marqueurs de l'origine florale.

Les échantillons de jujubier présentent des acidités libres faibles de l'ordre de $12,0 \pm 2,1$ méq/100 g, une qualité qui ne favorise pas un vieillissement rapide, alors que les miels d'euphorbe sont plus acides avec en moyenne $20,8 \pm 5,7$ méq/100 g.

L'activité de la diastase étant un facteur très important dans l'évaluation de la fraîcheur des miels et leur effet sur la santé. Les résultats nous révèlent que les miels de jujubier ont une activité diastatique supérieure et plus homogène que celle de l'euphorbe avec des moyennes respectives de $23,2 \pm 7,4$ et $20,2 \pm 10,8$ Ushade.

Il n'y a pas de différence significative entre ces deux groupes sauf pour l'acidité libre. Remarquons aussi que le groupe des miels de jujubier présente plus d'homogénéité dans tous les résultats en comparaison avec celui de l'euphorbe.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 24 : Identification, caractéristiques physico-chimiques et composition phénolique des échantillons étudiés pour l'activité anti-microbienne.

Code	Origine botanique	Région	Date de récolte	Poly. (mg EGA /100g)	Flav. (mg EQ /100g)	Flav/poly (%)	AL (mécq/100g)	DN (Ushade)
E1	E	El Bayadh	2010	56,65 ± 1,48	31,00 ± 5,65	54,7	17	20,5
E2	E	El Bayadh	2010	52,75 ± 0,07	24,75 ± 5,30	46,9	16	9,20
Z1	Z	El Bayadh	2010	50,40 ± 0,42	15,00 ± 5,65	29,8	15	24,4
Z2	Z	El Bayadh	2010	48,75 ± 0,35	11,25 ± 6,01	23,1	13	25,1
Z3	Z	Ain Safra	2009	89,83 ± 0,10	25,00 ± 0,02	27,8	10	30
E3	E	El Bayadh	2010	47,04 ± 0,01	31,30 ± 0,01	66,5	20	10
E/Z1	MF	El Bayadh	2010	46,40 ± 0,01	21,09 ± 0,01	45,5	13	20
E4	E	El Bayadh	2009	63,92 ± 0,20	5,92 ± 0,10	09,3	20	38,6
E5	E	Aflou	2011	56,72 ± 0,10	9,12 ± 0,10	16,1	32	23,8
Z4	Z	Laghout	2010	70,69 ± 0,30	2,92 ± 0,10	04,1	12	10,5
Z5	Z	El Bayadh	2012	49,00 ± 0,08	13,00 ± 0,10	26,5	10	26
E6	E	Laghout	2012	54,00 ± 0,15	28,00 ± 0,01	51,9	20	19
Analyse globale par groupe								
Ziziphus		Moy Z±SD		61,7±18,2a	13,4±7,9a	22,3±10,4	12,0±2,1a	23,2±7,4a
		Min-Max		48,8-89,8	29,0-25,0	4,1-29,8	10,0-15,0	10,5-30,0
		α (%)		30	59	46	18	32
Euphorbia		Moy E±SD		55,2±5,6 ^a	21,7±11,3 ^a	40,9±22,9	20,8±5,7 ^b	20,2±10,8 ^a
		Min-Max		47,4-63,9	59,0-31,3	9,3-66,5	16,0-32,0	9,2-38,6
		α (%)		10	52	56	27	53

E : Euphorbia, Z : Ziziphus. MF : Multifleur. (a,b) Différentes lettres indiquent les groupes significativement différents (p < 0,05), SD : Ecart type, Poly. : Polyphénols totaux ; Flav : Flavonoïdes totaux, flav/poly : Ratio flavonoïdes/polyphénols, AL : Acidité libre, DN : Nombre diastasique, α (%) : Coefficient d'homogénéité.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.2.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne globale

Les essais sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne globale (Tableau 25), par la méthode des puits, montrent que le *C. albicans* est résistant à l'effet des miels de jujubier et d'euphorbe et ceci à toutes les concentrations et pour tous les échantillons. Ceci concorde avec les résultats obtenus par Zaghoul et al. (2001) sur différents miels d'Egypte. Cette résistance peut être expliquée par la plus grande tolérance des champignons et des levures à l'abaissement de l'activité de l'eau nécessitant ainsi des concentrations beaucoup plus élevées des solutions de miel pour un effet uniquement bactériostatique (Molan, 1992a).

L'origine florale contribue aussi à l'action anti-candidose car des études, comme celle de Khosvari et al. (2008) et de Revathy and Banerji (1980), démontrent la sensibilité de différentes souches de *Candida* spp. aux miels iraniens et indous respectivement, avec des CMI autour de 24 %.

Les autres souches étudiées se montrent plus ou moins sensibles selon les échantillons, mais le constat général est la sensibilité importante d'*E. coli* et de *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition moyens de $21,4 \pm 5,6$ et $21,1 \pm 5,8$ mm respectivement.

Les miels d'euphorbe présentent une AAM modérée à forte pour *S. aureus* suivie d'*E. coli* et enfin de *P. aeruginosa* alors que les miels de jujubier présentent la plus forte activité vis-à-vis d'*E. coli* puis *P. aeruginosa* et *S. aureus* en dernier. Ces résultats corroborent l'étude faite par Halawani and Shohayeb (2011) sur les miels de jujubier saoudiens dont le Shaoka et le Sidr. Ceci nous conduit à supposer que les miels d'euphorbe ont une action contre les Gram+ alors que l'effet du jujubier est plus marqué sur les Gram-.

La comparaison des moyennes des diamètres d'inhibition des deux groupes de miel par le *t* test montre qu'ils ont des effets comparables sur *E. coli* et *S. aureus* mais sont différents pour le *P. aeruginosa* (Tableau 25). Mais en général, l'AAM était plus variable pour l'*E. coli* que pour les deux autres souches.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des miels d'euphorbe oscillent entre 10 et 25 % avec une moyenne de 16 % pour *E. coli*, entre 10 et 25 % pour *S. aureus* avec une moyenne de 20 % et entre 10 et 50 % pour *P. aeruginosa* avec une moyenne de 32 %. Pour le jujubier, la CMI est en moyenne de 16 %, 46 % et 32 % respectivement pour les

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

souches précédemment citées. Ces constatations nous conduisent à dire que les miels d'euphorbe ont de meilleures performances (dose/effet) que les miels de jujubier.

VI.2.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes fractions du miel

L'activité AAM des miels entiers comparés à un miel artificiel (Figure 33) montre que l'effet osmotique peut représenter de 10 à 36 % de l'effet global qui oscille entre 50 et 80 %, dépendant de la sensibilité des souches utilisées, constat déjà fait par Bogdanov (1984). En effet, on ne peut pas négliger la contribution de l'osmolarité car elle fait baisser l'activité de l'eau (a_w) dans les miels jusqu'à 0,562 à 0,620 (Rüegg and Blanc, 1981), ne permettant pas la croissance et la multiplication des bactéries qui ont besoin d'eau (a_w 0,94-0,99). Cooper (2001) estime que la contribution de l'osmolarité dans l'inhibition des pathogènes représente de 1/6 à 1/5 de l'activité totale du miel. Ici, il faut signaler l'exception que représente *S. aureus* dans ce groupe, car selon Molan (1992a) cette bactérie se montre exceptionnellement tolérante aux fortes concentrations jusqu'à des valeurs de a_w de 0,86 correspondant à des concentrations de solutions de miel supérieures à 29 % (v/v). Ce fait explique les résultats que nous avons obtenus pour cette souche (Tableau 25). Dans nos essais, *S. aureus* ne devient sensible qu'à des concentrations en miel en moyenne supérieures à 20 % pour l'euphorbe et à 46 % pour le jujubier.

L'effet antimicrobien au sein d'un même groupe change de profil d'une année à l'autre. Ceci est probablement dû à la participation des différents nectars de plantes, sachant que cette combinaison est unique pour chaque miellée.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 25 : Données brutes et groupées des diamètres d'inhibition en mm des miels de jujubier et d'euphorbe.

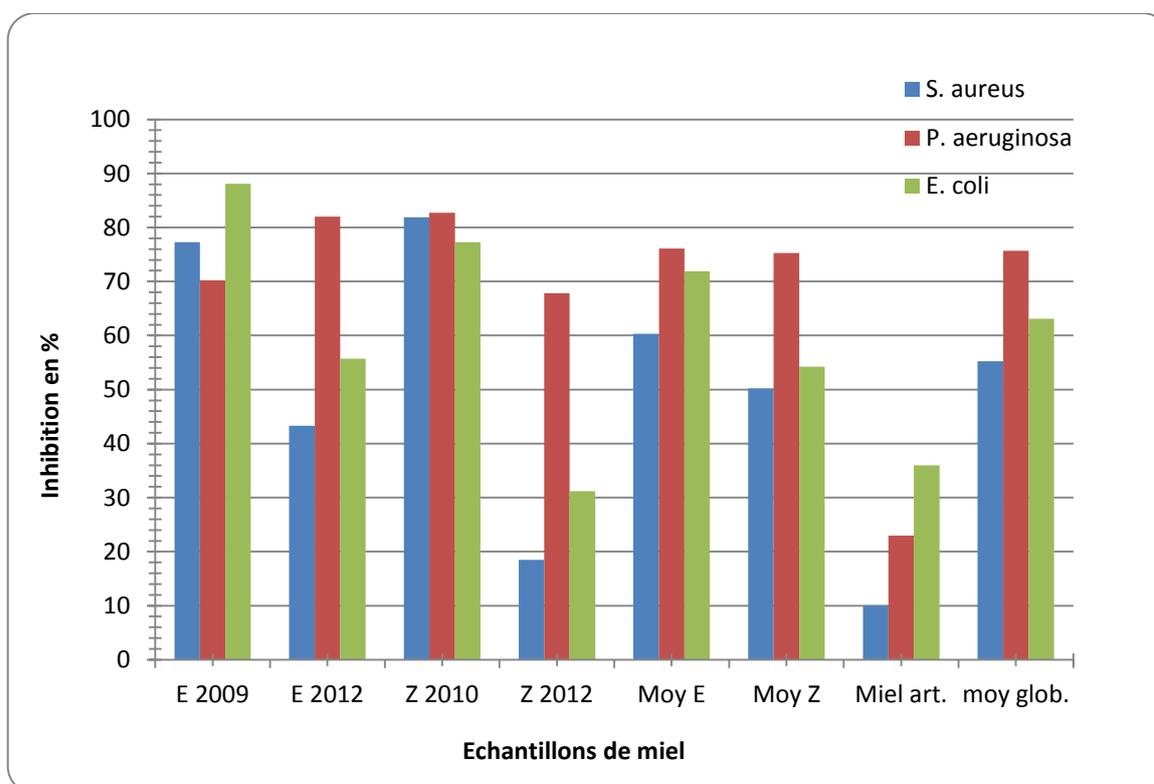
(n = 4)	[C] miel	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
E1	* ¹ 10%	14,0 ± 1,2	-	-	-
	25%	19,0 ± 1,0	-	-	-
	* ³ 50%	27,0 ± 1,0	-	14,7±0,1	-
	75%	32,0 ± 3,0	-	20,7±0,1	-
E2	* ¹ 10%	14,7 ± 1,5	-	-	-
	* ³ 25%	21,0 ± 4,6	-	12,0±0,1	-
	50%	26,0 ± 1,0	-	20,0±0,1	-
	75%	29,0 ± 2,7	-	23,5±0,1	-
Z1	* ^{1,3} 10%	16,5 ± 5,0	-	12,0±0,14	-
	25%	22,5 ± 3,5	-	16,0±0,14	-
	50%	28,0 ± 4,2	-	23,0±0,10	-
	* ² 75%	31,5 ± 5,0	10,5 ± 0,7	28,0±0,14	-
Z2	* ^{1,3} 10%	11,7 ± 2,0	-	13,0±0,14	-
	25%	16,7 ± 4,0	-	17,0±0,14	-
	50%	22,0 ± 6,6	-	24,0±0,10	-
	* ² 75%	27,7 ± 4,0	13,0 ± 4,2	29,0±0,14	-
Z3	* ³ 10%	-	-	11,5±0,14	-
	* ² 25%	-	14,0 ± 0,1	15,0±0,14	-
	* ¹ 50%	20,5 ± 1,9	20,5 ± 0,1	22,0±0,10	-
	75%	23,0 ± 0,8	25,5 ± 1,0	27,0±0,14	-
E3	* ² 10%	-	19,0 ± 0,1	-	-
	* ^{1,3} 25%	11,0 ± 1,4	22,3 ± 2,1	12,0±0,2	-
	50%	18,7 ± 0,6	26,5 ± 0,6	20,0±0,2	-
	75%	22,0 ± 1,4	28,5 ± 0,6	23,5±0,2	-
E/Z1	* ² 10%	-	19,5 ± 0,6	-	-
	25%	-	22,3 ± 0,1	-	-
	* ^{1,3} 50%	19,7 ± 1,5	26,3 ± 0,5	14,7±0,4	-
	75%	22,3 ± 1,0	28,3 ± 0,5	20,7±0,4	-
E4	10%	-	-	-	-
	* ^{1,2} 25%	16,0±0,01	17,3± 0,10	-	-
	* ³ 50%	22,7±0,14	23,3±0,10	14,7±0,14	-
	75%	26,7±0,14	26,7±0,14	20,7±0,14	-

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

E5	* ^{1,3} 10%	12,5±0,01	-	07,0±0,01	-
	* ² 25%	20,0±0,01	13,0±0,01	12,0±0,01	-
	50%	24,5±0,01	24,0±0,01	20,0±0,01	-
	75%	28,5±0,01	29,0±0,01	23,5±0,01	-
Z4	* ^{1,2,3} 10%	15,3±0,10	11,3±0,10	12,7±0,14	-
	25%	18,7±1,40	16,7±0,14	16,7±0,14	-
	50%	21,3±0,10	22,7±0,14	23,3±0,10	-
	75%	24,7±0,14	26,0±0,01	28,7±0,14	-

Analyse globale par groupe					
Moy. Glob.		21,4± 5,6	20,5± 6,0	18,7± 5,9	-
Moy. E		23,8± 3,3 ^b	24,6± 1,7 ^b	17,9± 2,9 ^a	-
Moy. Z		22,9± 3,4 ^b	21,6± 1,6 ^b	23,1± 0,9 ^b	-

CMI : Concentration minimale inhibitrice, ^{a,b} les mêmes lettres signifie qu'il n'existe pas de différence significative à $p < 0,05$; Z : Ziziphus; E : Euphorbia ; - : pas d'inhibition ; * 1 : CMI *E. coli* ; * 2 : CMI *S. aureus* ; * 3 : CMI *P. aeruginosa*.



Miel art. : Miel artificiel, moy. Glob. : Moyenne globale des échantillons

Figure 33 : Pourcentages d'inhibition des miels entiers.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

L'étude de l'effet antimicrobien des différentes fractions (Tableau 26) montre que la plus grande part de l'AAM provient de la fraction volatile (> 51 %) suivie de la fraction acide (> 22 %) et ceci aussi bien pour les miels d'euphorbe que pour les miels de jujubier. Cela vient renforcer les constatations de Toth et al. (1987) pour certains miels hongrois qui parlent de l'action antimicrobienne de la fraction volatile et ceux de Bogdanov (1997b) quant à l'activité importante de la fraction acide pour certains miels de fleurs. Cependant, ce dernier attire l'attention sur le fait que cette activité peut être très variable et qu'elle peut se retrouver dans les autres fractions. Il cite l'exemple du miel de colza (crucifères), où c'est la fraction neutre qui comporte l'AAM, alors que pour les miellats c'est plutôt la fraction basique.

Les souches microbiennes étudiées montrent des différences claires dans leur réaction aux miels. Le *S. aureus* est sensible aux trois fractions (volatile, basique, neutre) et très peu sensible à la fraction acide. Le *P. aeruginosa* est sensible à la fraction volatile et acide uniquement, alors que *E. coli* montre une sensibilité aux fractions volatile et acide, en premier, puis à la fraction neutre, ne réagissant pratiquement pas à la fraction basique.

Tableau 26 : Pourcentage d'inhibition relatif des fractions des échantillons de miel étudiés..

Miels	% Relatif d'inhibition des différentes fractions											
	volatile			Neutre			Basique			Acide		
	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.
E 2009 (n = 2)	2	57	3	90	3	1	1	4	3	7	36	93
E 2012 (n = 2)	86	84	90	3	2	0	6	2	8	14	17	3
Z 2010 (n = 2)	5	34	5	2	3	90	90	3	3	3	60	2
Z 2012 (n = 2)	90	80	74	4	2	2	5	13	2	1	5	22
Analyse globale par groupe												
Moy E (n = 4)	44	71	47	47	3	1	4	3	6	11	27	48
Moy Z (n = 4)	48	57	40	3	3	46	48	8	3	2	33	12
Moy globale	46	64	43	25	3	23	26	6	4	6	30	30

St. : *S. aureus*, **Ps.** : *P. aeruginosa*, **Ec.** : *E. coli*
E : Euphorbe ; Z : Ziziphus

VI.2.5 Corrélation entre AAM et taux de polyphénols, de flavonoïdes, AL et DN

Après avoir constaté que les deux types de miels agissaient sur *E. coli*, qui est une souche fortement sensible aux produits de la ruche, nous avons voulu trouver une relation entre les paramètres pouvant être pertinents pour l'effet antimicrobien.

L'étude de l'existence d'une corrélation globale entre l'activité inhibitrice d'*E. coli* à une concentration des miels de 75 % (Tableau 27), révèle qu'il n'existe aucune relation

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

statistiquement significative entre cette activité et les paramètres étudiés. Cependant, l'étude de chaque groupe de miel à part montre qu'il existe une forte relation entre le taux d'acidité libre et l'activité antimicrobienne des miels de jujubier, prouvant que la fraction acide joue un rôle important dans ces miels, alors que pour les miels d'euphorbe le critère de Pearson montre une légère relation entre le taux de polyphénols totaux et l'AAM.

Tableau 27 : Corrélations entre l'AAM contre *E. coli* et les paramètres de composition des miels de jujubier et d'euphorbe.

	AAM	Polyphenols	flavonoïdes	Ratio	AL	DN
Tous les échantillons	Corrélation	-,087	-,151	-,157	,215	,089
	Pearson	,789	,640	,626	,502	,783
	Sig. (bilatérale)					
Groupe Ziziphus	Corrélation	-0,261	-0,253	-	* 0,809	0,032
	Pearson	0,618	0,629	0,139	0,050	0,952
	Sig. (bilatérale)			0,793		
Groupe Euphorbe	Corrélation	0,509	-0,189	-	0,160	0,151
	Pearson	0,244	0,684	0,301	0,732	0,746
	Sig. (bilatérale)			0,511		

*. La corrélation est significative au niveau 0,05 (bilatéral).

VI.2.6 Contribution de l'osmolarité, du pH, du H₂O₂ dans l'activité antimicrobienne

Dans cette partie de notre travail, l'activité globale des miels est étudiée, sur milieu liquide (test de turbidité), pour identifier la contribution de l'AAM non peroxyde par rapport à l'AAM peroxyde, l'effet de l'osmolarité et du pH du milieu ainsi que la nature de cette activité (bactéricide ou bactériostatique).

D'après les résultats (Tableau 28), on peut classer les souches utilisées, de la plus sensible à la moins sensible comme suit : *E. coli*, *S. aureus* puis *P. aeruginosa*. Les trois souches montrent une sensibilité plus importante à la fraction non peroxyde, malgré que les deux souches *E. coli* et *S. aureus* soient des bactéries à catalase + et sont sensés inhiber le H₂O₂, dont la production est amorcée par la glucose-oxydase dans le miel dilué. Cependant, selon Bogdanov and Blumer (2001), les miels mûrs ne contiennent que de faibles quantités de H₂O₂ inhibant que faiblement la croissance bactérienne et que le mécanisme de sa production est surtout efficace lors de la transformation du nectar en miel par l'abeille.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Malgré que *P. aeruginosa* soit la souche la moins sensible, mais l'action des miels prend une importance capitale quand on sait que plus de 50 souches de *P. aeruginosa* sont incriminées dans des infections de l'oreille, les ulcères des pieds chez les diabétiques et les brûlures cutanées infectées, comme le confirme Mullai and Menon (2005); (Mullai and Menon, 2007) dans des études sur 152 isolats de *Pseudomonas* à partir de patients et Cooper et al. (2002a) dans son étude sur les traitements alternatifs des brûlures infectées.

L'effet de l'osmolarité s'avère important dans la plupart des cas. Pour *E. coli*, il est en moyenne de 29,30 % pour les deux types de miel. Il s'élève à 32,7 % pour le *P. aeruginosa* et 47,6 % pour le *S. aureus*, ce qui n'est pas négligeable. On constate aussi que l'effet antimicrobien est maximal en milieu acide ou basique.

Quant à la comparaison entre les groupes de miel, on note que les miels de jujubier étudiés montrent une action bactéricide pour les trois souches, mais cette activité est très sensible au changement du pH du milieu ; elle est maximale en milieu franchement acide (pH = 3). Les miels d'euphorbe sont bactéricides pour *E. coli* et *P. aeruginosa* (Gram -) mais seulement bactériostatique pour *S. aureus* (Gram +). Son action est partagée entre les deux fractions peroxydes et non peroxydes. La particularité de ces miels est que l'osmolarité y joue un rôle majeur avec une moyenne de 56,64 % pour les trois souches confondues. Le fait que l'activité reste intègre quel que soit le pH du milieu renforce cette hypothèse.

Il faut signaler que, selon une étude bulgare (Khrstov and Mladenov, 1961) sur des miels préparés à 50 % et sur 12 espèces bactériennes, ce sont les Gram + qui sont en premier tués (après 1 h d'exposition) avec une action bactéricide totale entre 3 et 24 h, alors que les Gram - sont plus résistantes et commencent à mourir après 4 à 6 h, avec une létalité complète au bout de 48 h.

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

Tableau 28 : Contribution des différents paramètres dans l'activité antimicrobienne des miels étudiés.

	AAM totale	Effet non peroxyde	Effet peroxyde	Osmolarité	pH 3	pH 7	pH 9	Type d'effet
<i>S. aureus</i>								
Z.	100 ^b	52,05 ^a	47,95 ^b	18,55 ^a	100 ^c	76,29 ^a	98,70 ^b	bactéricide
E.	94,46 ^a	71,35 ^b	23,11 ^a	76,63 ^b	100 ^c	99,70 ^b	100 ^c	bactériostatique
<i>P. aeruginosa</i>								
Z.	92,97 ^a	81,75 ^b	11,22 ^a	13,72 ^a	100 ^c	59,28 ^a	97,66 ^c	bactéricide
E.	100 ^b	35,71 ^a	64,29 ^b	51,69 ^b	91,62 ^b	100 ^b	100 ^c	bactéricide
<i>E. coli</i>								
Z.	100 ^a	66,10 ^a	33,90 ^a	17,00 ^a	100 ^c	56,25 ^a	100 ^c	bactéricide
E.	100 ^a	60,08 ^a	39,92 ^a	41,60 ^b	100 ^c	69,20 ^b	100 ^c	bactéricide

Différentes lettres dans les rangs signifient diverses différences statistiques (p-value < 0,05) d'après le test de Duncan. Z. : Jujubier. E. : Euphorbe

Chapitre VI. CARACTERISATION DES MIELS DE JUJUBIER ET D'EUPHORBE

VI.2.7 Conclusion

L'étude du pouvoir antimicrobien des deux types de miel (*Z. lotus* et *E. bupleuroides*) a révélé un effet inhibiteur sur les souches bactériennes étudiées (*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) mais aucun effet antifongique sur *C. albicans*.

L'origine florale représente un facteur prépondérant quant au comportement des miels vis-à-vis des souches, dans le sens où chaque nectar va contribuer par un certain nombre de molécules spécifiques dans l'activité générale du miel.

Le *Candida albicans* s'est avéré résistant à tous les miels et à toutes les concentrations, alors qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* étaient sensibles, présentant des diamètres d'inhibition de l'ordre de $21,3 \pm 5,7$ mm avec des concentrations minimales inhibitrices entre 10 et 50 %.

Le *t test* ($p < 0,05$), pour la comparaison des moyennes des deux groupes de miel, montre des effets statistiquement comparables du jujubier et de l'euphorbe sur *E. coli* et *S. aureus* mais différents sur *Pseudomonas aeruginosa*. Les miels d'euphorbe se sont montrés plus actifs sur cette souche avec des diamètres d'inhibitions moyens de $23,1 \pm 0,9$ mm.

Le fractionnement des miels a permis de mettre en évidence les fractions les plus actives, à savoir la fraction volatile responsable de plus de 51 % de cet effet et la fraction acide avec plus de 22 % et ceci pour les deux groupes de miel. Ces derniers présentaient des niveaux d'inhibition en milieu liquide entre 50 et 80 % sur miel entier.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le miel est un aliment très apprécié, il est surtout utilisé à des fins thérapeutiques. C'est pour cette raison que sa qualité doit être surveillée de très près. Dans notre pays et suite à l'ouverture du marché, on voit, depuis une vingtaine d'années, sur nos étalages un nombre impressionnant de produits alimentaires issus de l'importation. Ces produits se calent souvent sur les envies du consommateur quant à la présentation, l'utilisation et les prix, lui offrant la diversification qu'il recherche.

Ce travail de thèse a vu le jour pour répondre à des questions pertinentes concernant ce produit ; et qui sont toujours d'actualité, malgré l'évolution de la production, des données des marchés internes et externes et la profusion d'études scientifiques sur cette thématique, la caractérisation des miels reste un impératif; il a abouti aux conclusions suivantes :

Concernant les miels d'importation, mis à part les anomalies d'étiquetage, organoleptiques et des taux d'humidité souvent très élevés, plus de 70 % de ces miels présentaient les signes d'un vieillissement avancé ou d'un historique thermique inadéquat, en plus de certains cas de fraude au sucre invertis, non signalés explicitement.

Il est vrai que notre travail a été réalisé sur 40 miels de 13 pays sur une période de 5 ans, ce qui peut ne pas refléter l'étendue des problèmes que posent ces miels sur le long terme, surtout dans des marchés en continuelle évolution et subissant des stress concurrentiels et normatifs énormes. La seule solution étant le contrôle systématique à l'entrée des marchandises, il y va de la santé du consommateur et de la prospérité de l'apiculture nationale qui doit survivre dans un marché non protégé.

En second lieu, nous avons pu nous rapprocher du consommateur algérien et enregistrer ses perceptions, ses attentes et ses préférences concernant le miel. Les résultats montrent que l'algérien moyen consomme environ 0,200 kg/an/h. Ces niveaux de consommations restent très faibles, donnant au miel une part insignifiante du régime alimentaire comparé à tous les bienfaits qu'il en attend, ce même consommateur considère le miel comme médicament, alors qu'il gagnerait plus à l'utiliser en plus grande quantité comme aliment énergétique et en prophylaxie. Ses préférences se portent sur les miels foncés, liquides, emballés dans du verre, mais il est dans la confusion totale quant à l'organisation du circuit commercial dans lequel évolue ce produit. De

CONCLUSION GENERALE

ce fait, il se tourne vers les circuits informels se basant sur des rapports de confiance. Au cas échéant, il se trouve obligé de se tourner vers les produits d'importation présents dans les commerces, et qui sont comme nous l'avons signalé de mauvaise qualité pour la plupart.

Signalons ici que les comportements alimentaires évoluent, surtout avec la plus grande accessibilité à l'information, le niveau d'instruction et bien évidemment le niveau de vie, et les préférences d'hier peuvent ne pas être celles d'aujourd'hui, le lancement d'une enquête par décennie pourra montrer ces changements dans le temps, surtout que les outils ont évolué, ce qui permet de moderniser les sondages, d'améliorer les questionnaires et de toucher beaucoup plus de monde, en parallèle il faudrait dresser aussi le profil du producteur de miel et sa perception du marché dans lequel il écoule sa production.

Les miels provenant des différentes régions de notre pays sont, quant à eux, nombreux et différents même si leur production n'est pas quantitativement importante; en effet, cette étude étendue sur une dizaine d'années met en exergue l'existence d'un potentiel apicole significatif. Nous citons à titre d'exemple le miel de carotte sauvage, de sulla, d'asphodèle, de tamarix, de bruyère, de thym, de romarin, de lavande, de harmal, de trèfle, de ferule, de menthe, etc. ainsi que de nouveaux miels qui arrivent, de plus en plus, sur le marché, comme les miels de carvi, de coriandre, de bersime, etc., tout ceci grâce au dynamisme de jeunes apiculteurs, qui ont un esprit de conquête et qui explorent des régions lointaines de notre vaste pays notamment le Sud.

Leur caractérisation physico-chimique montre que la plupart des paramètres mesurés ont des valeurs conformes aux normes internationales, avec une richesse particulière en proline et en minéraux. L'Approche chimométrique s'est avérée très utile dans la classification et la discrimination des miels, les deux premières composantes étant liées à l'origine botanique tandis que la troisième à l'âge de miel, les deux facettes indispensables de la qualité.

Les miels de *Ziziphus lotus* et d'*Euphorbia bupleuroides* L. étudiés se sont révélés d'une grande qualité. Le miel de *Z. lotus* a présenté des caractéristiques très différentes des miels de nectars habituellement décrits, alors que le miel d'euphorbe rentre dans le standard des miels de fleurs, avec la particularité d'être naturellement pauvre en proline et des indices diastatiques moyens, le contraire du miel de jujubier.

La richesse de ces miels en composés bioactifs (flavonoïdes) nous a conduit à révéler la présence d'une activité biologique intéressante, sur les 3 souches bactérienne utilisées. Une grande hétérogénéité est observée au sein d'un même groupe de miel, indiquant que l'effet

CONCLUSION GENERALE

antimicrobien d'un miel est tributaire d'un nombre important de facteurs qu'il faudrait prendre en considération (flore visitée, conditions pédoclimatiques, année de récolte, pureté de l'origine florale, etc.).

Globalement, nous pouvons affirmer que ces miels offrent des possibilités intéressantes quant à leur utilisation en médecine douce, et que leur atout majeur est la multiplicité de la source des effets antibactériens, des pistes qu'il serait intéressant de développer dans les futurs travaux.

En dernier, par l'analyse de caractéristiques spécifiques telles que les activités anti-oxydantes ou antimicrobiennes et les caractéristiques organoleptiques on pourra se diriger vers la labellisation et la mise en valeur de notre production par rapport à ce qui circule sur le marché, ainsi quelque miels algériens, tel que le jujubier et l'euphorbe, peuvent assoir leur place dans la toile maghrébine et mondiale.

Devant les enjeux locaux, régionaux et mondiaux de l'apiculture; l'Algérie comme les autres pays se doit de soutenir le secteur apicole, avec tout ce que ça implique comme efforts de tous les acteurs (professionnels, législateurs, organismes de contrôle) où le rôle du scientifique est central comme pourvoyeur de données, pourvu que ses efforts soient correctement orientés. Alors que le miel a suscité l'intérêt de beaucoup de chercheurs ces dernières années, et que beaucoup de travaux ont vu le jour ou sont en cours dans toutes les universités du pays, l'absence de stratégie globale, rend les résultats obtenus, y compris les nôtres, très difficilement exploitables et transposables sur le terrain par les pouvoirs publics.

Malgré la richesse en information et la rigueur qui caractérise les travaux menés; pour que le secteur apicole obtienne des réponses fiables, l'état devrait, selon un plan d'action, initier des enquêtes de consommation et des projets à grande échelle sur la caractérisation et la qualité et pourquoi pas sur d'autres problématiques d'ordre économique.

En dernier, il est à signaler que beaucoup d'efforts sont en train d'être mis en place par la profession, surtout en termes d'organisation et de normalisation de la qualité, mais d'autres problématiques vont se poser très vite, tel que la normalisation des bonnes pratiques et la prise de conscience concernant les polluants de toutes sortes, les contaminations phytosanitaires et les effets des changements climatiques, mettant la profession et les chercheurs face à d'autres défis.

Références bibliographiques

- Aadilly, p. (2006). "Les techniques de sondage," édition technip, paris
- Aboul Ela, M. A., El Sher, N. S., and Ghanem, N. B. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential fixed oils. *Pharmazie* **51**(12), 993-994.
- Adjlane, N., Haddad, N., Laid-Ameur, K., Kesraoui, S., and Moussaoui, D. (2014). Physicochemical and microbiological characterization of some samples of honey produced by beekeepers in Algeria *Acta Technologica Agriculturae* **1**, 1-5.
- AFNOR (1990). NF V 35-001 : Spécifications. (Miels, ed.). AFNOR, France.
- Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Meslem, A., and Benhalima, A. (2012a). Antifungal activity of four honeys of different types from Algeria against pathogenic yeast: *Candida albicans* and *Rhodotorula* sp. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4.
- Ahmed, M., Djebli, N., Sihamoudi, m., Meslem, A., and Aissat, S. (2012b). Antibacterial activity of various honey types of Algeria against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Asian Pac J Trop Med* **5**, 773-6.
- Aida, Y. (2008). Essential composition of honey and methods of analysis of honey. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* **49**, J-9-12.
- Al-Waili, N. S., and Boni, N. S. (2003). Natural honey lowers plasma prostaglandin concentrations in normal individuals. *Journal of Medicinal Food* **6** (2), 129-133.
- Al-Waili, N. S., and Haq, A. (2004). Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. *J Med Food* **7**, 491-4.
- Al Khalifa, A. S., and Al Arify, I. A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honey. *Food chemistry* **67**, 21-25.
- Al Mamary, M., Al Meeri, A., and Al habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition research* **22**, 1041-1047.
- Al Somal, N., Coley, K. E., Molan, P. C., and Hancock, B. M. (1994). Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the antibacterial activity of manuka honey. *Journal of the Royal Society of Medicine* **87**, 9-12.
- Alan, L., and Miller, N. D. (1996). Antioxidant flavonoids: Structure, function and clinical usage. *Alternative Medecine Revue* **1**(2), 103-111.
- Alissandrakis, E. K., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. G., and Harizanis, P. C. (2003). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chemistry* **82**, 575-582.
- Ames, B. N., Shigenaga, M., and Hagen, T. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proction National Academic Science* **90**, 7915-7922.
- Amiot, M. J., Aubert, S., Gonnet, M., and Tacchini, M. (1989). Les composés phénoliques des miels: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par famille. *Apidologie* **20** 115-125.
- Amirouche, R., and Misset, M. T. (2009). Diversité biologique de l'Afrique du Nord. *Cahiers Agriculture* **18** (6), 447- 480.
- Amri, A., and Ladjama, A. (2013). Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *African Journal of Food Science* **7**(7), 168-173.
- Anklam, E. (1998). A review of analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* **63**, 549-562.

BIBLIOGRAPHIE

- Anonyme 1 (2005). World honey market. *American Bee Journal* **145**, 275-278.
- Anonyme 2 (2015). US honey crop and markets. *American Bee Journal* **155**, 243-245.
- AOAC official method (2000). Separation of sugars in honey. Liquid chromatography method 977.20 (H. control, ed.), pp. 5.
- Aronne, G., De Micco, V., and Guarracino, M. R. (2012). Application of support vector machines to melissolalinalogical data for honey classification. In "New technologies for constructing complex agricultural and environmental systems" (Information science Reference, ed.), pp. 144-211. IGI Global, USA.
- Arvanitoyannis, I. S., Chalhoub, C., Gotsiou, P., Lydakis-Simantiris, N., and Kefalas, P. (2005). Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Crit Rev Food Sci Nutr* **45**, 193-203.
- Aubert, S., and Gonnet, M. (1983). Mesure de la couleur des miels. *Apidologie* **14**, 105-118.
- Baba Aissa, F. (1999). "Les plantes médicinales en Algérie," Bouchène et Addiwan, Alger.
- Babacan, S., Pivarnik, L. F., and Rand, A. G. (2002). Honey amylase activity and food starch degradation. *Journal of Food Science and Technology* **67(5)**, 1625-1630.
- Babacan, S., and Rand, A. G. (2007). Characterization of honey amylase. *J Food Sci* **72**, C050-5.
- Baker, H. G., and Baker, I. (1983). A brief historical review of the chemistry of floral nectar. In "The biology of Nectaries" (B. Bentley and T. Elias, eds.), pp. 126-152. Columbia University press, new york.
- Balayiannis, G., and Balayiannis, P. (2008). Bee honey as an environmental bioindicator of pesticides' occurrence in six agricultural areas of Greece. *Arch Environ Contam Toxicol* **55**, 462-70.
- Baroni, M. V., Nores, M. L., Diaz Mdel, P., Chiabrando, G. A., Fassano, J. P., Costa, C., and Wunderlin, D. A. (2006). Determination of volatile organic compound patterns characteristic of five unifloral honey by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry coupled to chemometrics. *J Agric Food Chem* **54**, 7235-41.
- Bastías, J. M., Jambon, P., Muñoz, O., Manquián, N., Bahamonde, P., and Neira, M. (2013). Honey as a bioindicator of arsenic contamination due to volcanic and mining activities in Chile. *Chilean journal of agricultural research* **73**, 18-19.
- Bastos, D. H. M., and Sampaio, G. R. (2013). Antioxidant Capacity of Honey: Health Benefit. In "Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes", pp. 609-619. Elsevier.
- Battaglini, M., and Bosi, G. (1973). Caratterizzazione chimico-fisica dei mieli monoflora Sulla base dello spettro glucidico e del potere rotatorio specific . *Scienza e tecnologia degli alimenti* **3(4)**, 217-221.
- Battesti, M. J., and Goeury, C. (1992). Efficacité de l'analyse melissopalynologique quantitative pour la certification des origines géographiques et botaniques des miels: le modèle des miels corses. *Revue paleobotanique et palynologie* **75**, 77-102.
- Bazeyad, A. Y., Al-Sarar, A. S., Rushdi, A. I., Hassanin, A. S., and Abobakr, Y. (2019). Levels of heavy metals in a multifloral Saudi honey. *Environ Sci Pollut Res Int* **26**, 3946-3953.
- Behidj, K. K., Benmebarek, A., Boulfoul, N., and Yakoubi, Y. (2019). La compétitivité de la filière apicole en Algérie cas de la région agricole de la Mitidja. *Revue Agriculture* **10**, 103-112.
- Benaziza-Bouchema, D., and Schweitzer, P. (2010). Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. *Cahiers Agricultures* **19**, 432-438.

BIBLIOGRAPHIE

- Benetti, C., Piro, R., Binato, G., Angeletti, R., and Biancotto, G. (2006). Simultaneous determination of lincomycin and five macrolide antibiotic residues in honey by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry (LC-MS/MS). *Food Addit Contam* **23**, 1099-108.
- Bera, A., Almada-muradian, L. B., and Sabato, S. F. (2009). effect of gamma radiation on honey quality control. *radiation physics and chemistry* **78**, 2.
- Biri, A. (1986). "Cours d'apiculture," Devacchi, Paris.
- Bogdanov, S. (1984). Characterisation of antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **17**, 74-76.
- Bogdanov, S. (1995). "Miel - Documentation destinée aux contrôleurs de miel - Formation de base," FAM Publikation, Allemagne.
- Bogdanov, S. (1997a). Harmonized methods of the international honey commission. *Apidologie special issue*, 25.
- Bogdanov, S. (1997b). Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *LWT - Food Science and Technology* **30**, 748-753.
- Bogdanov, S. (2009). Chapter 5: Composition of honey. In "Book of Honey" (www.bee-hexagon.net, ed.).
- Bogdanov, S. (2010). Nutritional and functional properties of honey. *Vopr Pitan* **79**, 4-13.
- Bogdanov, S. (2011). Honey as Nutrient and Functional Food: A Review. (Bee Product Science, ed.). www.bee-hexagon.net.
- Bogdanov, S., and al. (21 members of IHC) (1999). Honey quality, methods of analysis and international regulatory Standards: review of the work of the international honey commission. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **90**, 108-125.
- Bogdanov, S., and Blumer, P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue suisse de recherches apicoles* **98(3)**, 107-114.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., and Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *J Am Coll Nutr* **27**, 677-89.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., and Persano Oddo, L. (2004). Physicochemical, methods for the characterization of unifloral honeys, a review. *Apidologie* **35**, S 4-S 17.
- Bohm, D. A., Stachel, C. S., and Gowik, P. (2012). Validation of a multi-residue method for the determination of several antibiotic groups in honey by LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem* **403**, 2943-53.
- Brady, N. F., Molan, P. C., and Harfoot, C. G. (1997). The sensivity of dermatophytes to the antimicrobial activity of Manuka honey and other honey. *Pharm. Sci.* **2**, 1-3.
- Brasson, N. J., and Gobler, S. R. (2008). Antimicrobial activity of two South African Honeys produced from indigenous *Leucospermum Cordifolium* and *Erica* species on selected microorganisms. *BMC Complement Altern. Med.* **15**, 8-41.
- Briand, P. (2007). Guide de fixation de LMR pour le miel. Vol. N° 2007-SA-0209, pp. 44. AFSSA, UE.
- Bruneau, E. (2018). "L'adultération des miels et son impact sur l'apiculture." CARI asbl Namur-Belgique.
- Butler, G. D., Loper, G. M., McGregor, S. E., Webster, J. L., and Margolis, H. (1972). Amounts and kinds of sugars in the nectars of cotton (*Gossypium spp.*) and the time of their secretion. *Agronomic Journal* **64**, 364-368.
- Carnwath, R., Graham, E. M., Reynolds, K., and Pollock, P. J. (2014). The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates. *Vet J* **199**, 110-4.
- Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G. L., and Ferrazzi, P. (2011). Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco *Arabian Journal of Chemistry*.

BIBLIOGRAPHIE

- Chefrour, A., Battesti, M.-J., Ait Kaki, Y., Bennadja, S., and Tahar, A. (2007). Melissopalynologic and Physicochemical Analysis of Some North-East Algerian Honeys *European Journal of Scientific Research* **18** (3), 389-401.
- Chenane, N. (2000). Situation de la filière apicole. (D. a. à l. production, ed.). Document du ministère de l'agriculture, ITELV, baba ali.
- Chirife, J., Zamora, M. C., and Motto, A. (2006). The correlation between water activity and water content in honey, fundamental aspects and application to argentine honey. *Journal of food engineering* **72**, 287-292.
- Chouaki, A. (2006). Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. (INRA, ed.). FAO:, Algérie.
- Ciuli, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., and Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta* **83**, 924-929.
- Codex Alimentarius* (1993). Standard for honey. In "Honey quality". FAO-WHO, Rome.
- Codex Alimentarius* (2001). Codex standard 12, Revised Codex Standard for honey, Standards and standard Methods. Vol. 11, www.codexalimentarius.net.
- Cometto, P. M., Faye, P. F., Caccavari, M., Baroni, M. V., and Aldao, M. A. (2006). Relationship between interannual variation of amino acid profile and pollen content in honey from a small Argentinian region. *J Agric Food Chem* **54**, 9458-64.
- Consonni, R., Cagliani, L. R., and Cogliati, C. (2013). Geographical discrimination of honeys by saccharides analysis. *Food Control* **32**, 543-548.
- Conti, M. E., and Botré, F. (2001). Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment* **69**, 267-282.
- Cooper, R. (2001). How do honey heal wounds. In "Honey and healing" (P. M. a. R. Jones, ed.). International bee research association, cardiff, UK.
- Cooper, R. A., Halas, E., and Molan, P. C. (2002a). The efficacy of honey in inhibiting strains of *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. *J Burn Care Rehabil* **23**, 366-70.
- Cooper, R. A., Molan, P. C., and Harding, K. G. (2002b). The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *Journal of Applied Microbiology* **93**, 857-863.
- Cooper, R. A., Molan, P. C., Krishnamoorthy, L., and Harding, K. G. (2001). Manuka honey used to heal a recalcitrant surgical wound. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **20**, 758-759.
- Corbet, S. A. (2003). Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie* **34**, 1-10.
- Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., and Grenier-Loustalot, M. F. (2004a). Chromatographic analysis of sugars applied to the characterisation of monofloral honey. *Anal Bioanal Chem* **380**, 698-705.
- Cotte, J. F., Casabianca, H., Giroud, B., Albert, M., Lheritier, J., and Grenier-Loustalot, M. F. (2004b). Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity. *Anal Bioanal Chem* **378**, 1342-50.
- Crane, E. (1975). "Honey: A Comprehensive Survey," Heinemann, London, U.K.
- Crane, E. (1990). " Bees and beekeeping," Oxford,.
- Crane, E. (1999). "The World History of Beekeeping and Honey Hunting," Duckworth, London, UK.
- Crane, E., Walker, P., and Day, R. (1984). "Directory of important world honey sources," International Bee Research Association London.

BIBLIOGRAPHIE

- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C., and Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem* **196**, 309-23.
- Damblon, F. (1988). Caractérisation botanique, écologique et géographique des miels du Maroc. *Trav. sec. sci. techn.* **25** 309-329.
- Davodpour, R., Sobhanardakani, S., Cheraghi, M., Abdi, N., and Lorestani, B. (2019). Honeybees (*Apis mellifera* L.) as a Potential Bioindicator for Detection of Toxic and Essential Elements in the Environment (Case Study: Markazi Province, Iran). *Arch Environ Contam Toxicol* **77**, 344-358.
- De Bodt, G., and Vlayen, P. (1994). Miel et botulisme. *Les Carnets du CARI Abeilles et Cie*, 14-16.
- Debbagh, S. (1988). Relation entre spectres polliniques de quelques miels et groupements phytosociologiques du Sud marocain. *Trav. sec. sci. techn.* **25** 331-343.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (2000). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Umschau, Braus Frankfurt am Main.
- Dinkov, D. H. (2014). Quality Parameters of Bulgarian Kinds of Bee Honey. *Macedonian Veterinary Review* **37**, 35-41.
- Djemaaten, A. (2008). Prix de vente du miel à boumerdes. In "Document interne de la coopérative apicole des isser".
- Donadieu, Y. (1984). "Le miel, thérapeutique naturelle," Maloine, Paris.
- Doner, L. W. (1991). The enzymes of honey. In "Food enzymology" (P. F. Fox, ed.), Vol. 2, pp. 143-161. Elsevier, London, UK.
- Draiaia, R., Rezki, A., Ben nacer, K., and Chefrour, E. (2014). Quality of Some Algerian Honey: Study of Botanical and Some Physicochemical Parameters. *Middle-East Journal of Scientific Research (IDOSI publications)* **22(9)**, 1363-1371.
- Dustman, J. H. (1979). Antibacterial effect of honey. *Apiacta* **14(1)**, 7-11.
- Dustmann, J. H. (1993). How bees make honey. *American Bee Journal*.
- Elicoh-Middleton, J., Chithan, K., and Theoharis, C. (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental Therapeutics* **4(52)**, 673-751.
- Enrich, C., Boeykens, S., Caracciolo, N., Custo, G., and Vázquez, C. (2007). Honey characterization by total reflection x-ray fluorescence: evaluation of environmental quality and risk for the human health. *X-Ray Spectrometry* **36**, 215-220.
- Escriche, I., Kadar, M., Juan-Borras, M., and Domenech, E. (2014). Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chem* **142**, 135-43.
- Escriche, I., Visquert, M., Juan-Borrás, M., and Fito, P. (2009a). Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry* **112**, 329-338.
- Escriche, I., Visquert, M., Juan-Borràs, M., and Fito, P. (2009b). Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food chemistry* **112**, 329-338.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., and Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and chemical toxicology* **46**, 3774-9.
- EUROPEAN COMMISSION (2002a). Concil Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. L10. pp. 47-52, Official Journal of European Community.
- EUROPEAN COMMISSION (2002b). Honey and microbiological hazards. (Report European Commission of Health & Consumer Protection Directorate-General, ed.), pp. 1-40.

BIBLIOGRAPHIE

- Fakhimzadeh, K., and Lodenius, M. (2000). Honey, pollen and bees as indicator of metal pollution *Acta Universitatis Carolinae Environmentalica*, 13-20.
- FAOSTAT (2007). In "FAO Statistics division". <http://faostat.fao.org/default.aspx>.
- Fermo, P., Beretta, G., Maffei Facino, R., Gelmini, F., and Piazzalunga, A. (2013). Ionic profile of honey as a potential indicator of botanical origin and global environmental pollution. *Environmental Pollution* **178**, 173-181.
- Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Tomas-Lorente, F., and Tomas-Barberan, F. A. (1993). Hesperetin: A marker of the floral origin of citrus honeys. *Journal of science and food Agriculture* **61**, 121-123.
- Frankel, S., Robinson, G. E., and berenbaum, M. R. (1998). Antioxydant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of apicultural research* **31(1)**, 27-31.
- Gallina, A., Stocco, N., and Mutinelli, F. (2010). Karl Fischer Titration to determine moisture in honey: A new simplified approach. *Food Control* **21**, 942-944.
- Gerhardt, K. E., Lampi, M. A., and Greenberg, B. M. (2008). The effects of far-red light on plant growth and flavonoid accumulation in Brassica napus in the presence of ultraviolet B radiation. *Photochem Photobiol* **84**, 1445-54.
- Gheldof, N., and Engeseth, N. J. (2002a). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of agricultural and food chemistry* **50**, 3050-3055.
- Gheldof, N., and Engeseth, N. J. (2002b). Antioxydant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxydation in human serum samples. *Journal of Agricultural & Food chemistry* **50(10)**, 3050-3055.
- Gonnet, M. (1982). "Le miel : composition, propriétés, conservation," Edition OPIDA.
- Gonnet, M. (1993). Les principaux critères de qualité du miel. *Revue française d'apiculture* **30**, 269-271.
- Gonnet, M., Lavie, P., and Nogueira-Neto, P. (1964). Study of Some Characteristics of Honeys Gathered by Certain Brazilian Meliponinae. *C R Hebd Seances Acad Sci* **258**, 3107-9.
- Gonnet, M., and Vache, G. (1985). "L'analyse sensorielle et les applications diverses d'une méthode d'évaluation de la qualité des miels," Paris.
- Halawani, M., and Shohayeb, M. (2011). Shaoka and sidr honeys surpass in their antibacterial activity local and imported honeys available in Saudi markets against pathogenic and food spoilage bacteria. *Australian journal of basic and applied sciences* **5 (4)**, 187-191.
- Hayashi, T., Takamatsu, N., Nakashima, T., and Arita, T. (2011). Immunological characterization of honey proteins and identification of MRJP 1 as an IgE-binding protein. *Biosci Biotechnol Biochem* **75**, 556-60.
- Heitkamp, K. (1984). Pro und kontra Honig - Sind Aussagen zur Wirkung des Honigs "wissenschaftlich hinreichend gesichert"? . *Schriften zur Oecotrophologie*, 1-60.
- Homrani, M., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M. S., Fatiha, D., Mohammed, B., Homrani, A., and Seijo, M. C. (2020). Botanical Origin, Pollen Profile, and Physicochemical Properties of Algerian Honey from Different Bioclimatic Areas. *Foods* **9**, 938.
- Israili, Z. H. (2013). Antimicrobial Properties of Honey. *Am J Ther*, 15.
- Jacque, G. (2009). "Étude de perception et de consommation du miel au Québec et intérêt d'une marque assurant l'authenticité du miel produit au Québec," Table filière apicole.

BIBLIOGRAPHIE

- Jaganathan, S. K. (2011). Can flavonoids from honey alter multidrug resistance? *Med Hypotheses* **76**, 535-7.
- Je-Ruei, L., Yi-Ling, Y., Ting-Yu, L., Yun-Wen, W., and Chi-Chung, P. (2013). Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry* **139**, 938-943.
- Jean Prost, P., and Le Conte, Y. (2005). "Apiculture: connaître l'abeille- conduire le rucher," Tec et doc, Lavoisier.
- Jeanne, F. (1983). Elaboration du miel par les abeilles. *Bulletin des Techniques Apicoles* **10**, 41-44.
- Jeanne, F. (1993). Le miel, stockage et conservation. *Bul. Techn. Apic.* **18 (4)**, 221-224.
- Jerkovic, I., Kus, P. M., Tuberoso, C. I., and Sarolic, M. (2014). Phytochemical and physical-chemical analysis of Polish willow (*Salix* spp.) honey: identification of the marker compounds. *Food Chem* **145**, 8-14.
- Johnson, R. M., Dahlgren, L., Siegfried, B. D., and Ellis, M. D. (2013). Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS One* **8**, e54092.
- JORA (9 novembre 2013). article 7 sur l'étiquetage des produits alimentaires (D. d. c. à l'information, ed.). JORA, Algérie.
- Joshi, S. R., Pechhacker, H., William, A., and Von der Ohe, W. (2000). Physico-chemical characterization of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from chitwan district central Nepal. *Apidologie* **31**, 367-375.
- Kaufmann, A., Roth, S., Ryser, B., Widmer, M., and Guggisberg, D. (2002). Quantitative LC/MS-MS determination of sulfonamides and some other antibiotics in honey. *J AOAC Int* **85**, 853-60.
- Kefalas, P., Gotsiou, P., and Chougoui, N. (2001). Contribution to the identification of Greek honey. In "International Honey commission". IHC, Athens meeting.
- Kelly, J. F., Downey, G., and Fouratier, V. (2004). Initial study of honey adulteration by sugar solutions using midinfrared (MIR) spectroscopy and chemometrics. *J Agric Food Chem* **52**, 33-9.
- Kenjeric, D., Mandic, M. L., Primorac, L., Bubalo, D., and Perl, A. (2007). Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chemistry*
- Khosvari, A., Hojjatollah, S., and Farzad, K. (2008). Fungicidal potential of different Iranian honeys against some pathogenic *Candida* species. *Journal of apicultural research and bee world* **47 (4)**, 256-260.
- Khristov, G., and Mladenov, S. (1961). Propriétés antibactériennes du miel. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des sciences* **14(3)**, 303-306.
- Lachman, J., Koliňová, D., Kosáta, J., Titěra, D., and Kult, k. (2007). Analysis of minority components, possible use of the evaluation of honey quality. *Food chemistry* **101**, 973-979.
- Lambert, O., Veyrand, B., Durand, S., Marchand, P., Bizec, B. L., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Delbac, F., and Pouliquen, H. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons: Bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. *Chemosphere* **86**, 98-104.
- Le houèrou (1995). "végétation steppique."
- LeBlanc, B. W., Eggleston, G., Sammataro, D., Cornett, C., Dufault, R., Deeby, T., and St Cyr, E. (2009). Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). *J Agric Food Chem* **57**, 7369-76.

BIBLIOGRAPHIE

- Leclerc, H., Izaerd, D., Huddon, M., Walter, P., and Jakube, E. (1993). Préparation des suspensions microbiennes. In "Microbiologie générale" (Dunod, ed.), pp. 12-23, Paris.
- Li, S., Shan, Y., Zhu, X., Zhang, X., and Ling, G. (2012). Detection of honey adulteration by high fructose corn syrup and maltose syrup using Raman spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis* **28**, 69-74.
- Lieux, M. H. (1980). Acetolysis applied to microscopical honey analysis. *Grana* **19**, 57-61.
- Lin, S. M., Molan, P. C., and Cursons, R. T. (2009). The in vivo susceptibility of campylobacter Spp. To the antibacterial effect of manuka honey. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **28**, 339-344.
- Lobreau-Callen, D., and Cervera, M. S. (1997). Pollen exine ultrastructure of the apetalous Crotonoideae (Euphorbiaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* **98**, 257-291.
- Louveaux, J., and Abed, L. (1984). Les miels d'Afrique du Nord et leur spectre pollinique. *Apidologie* **2**, 145-170.
- Louveaux, J., Maurizio, A., and Vorwhol, G. (1978). Methods of melissopalynology *International Bee Research Association, Bee World* **59** (4), 139-157.
- Low, N. H., Nelson, D. L., and Sporns, P. (1988). Carbohydrate analysis of Western Canadian honeys and their nectar sources to determine the origin of honey oligosaccharides. *Journal of Apicultural research* **27**, 245-251.
- Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. d., Sancho, M. T., and Pascual-Maté, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research* **57**, 5-37.
- Madejczyk, M., and Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Anal Chim Acta* **617**, 11-7.
- MADR (2019). Situation de la filière apicole. (DSV/DSCSHA, ed.), pp. 3. MADR, Algérie.
- Mahattanatawee, K., Ruiz Pérez-Cacho, P., Galán Soldevilla, H., and Rouseff, R. L. (2014). Investigation of Four Tropical Unifloral Honey Aromas using Sensory and GC-Olfactometer Analyses. 257-261.
- Majtanova, N., Cernak, M., Nekorancova, J., Cernak, A., and Majtan, J. (2013). The potential use of honey in ophthalmology. *Cesk Slov Oftalmol* **69**, 128-32.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli D'albore, G., Choukri, A., and Samar, R. (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie* **41**, 509-521.
- Makhloufi, C., Schweitzer, P., Azouzi, B., Persano Oddo, L., Choukri, A., Laaredj, H., and Riccardelli D'albore, C. (2007). Some properties of Algerian honey. *ApiActa* **42**, 73-80.
- Manyi-Loh, C. E., Ndip, R. N., and Clarke, A. M. (2011). Volatile compounds in honey: a review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *Int J Mol Sci* **12**, 9514-32.
- Marghitas, L. A. I., Dezmirean, D., Adela, M., Otilia, B., Laslo, L., and Bogdanov, S. (2009). Physic-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry* **112**, 863-867.
- Marouf, A. (2000). "Dictionnaire de Botanique," Dunod, Paris.
- Marshall, T., and Williams, K. M. (1987). Electrophoresis of honey: characterization of trace proteins from a complex biological matrix by silver staining. *Analytical Biochemistry* **167**, 301-303.

BIBLIOGRAPHIE

- Martos, I., Ferreres, F., and Tomas-Barberan, F. A. (2000). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *J Agric Food Chem* **48**, 1498-502.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., and Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry* **91**, 571-577.
- Meena, M. R., and Sethi, V. (1994). Antimicrobial activity of essential oils from spices. *Journal of food science and technology* **31**, 68-70.
- Mekious, S., Houmani, Z., Bruneau, É., Masseaux, C., Guillet, A., and Hance, T. (2015). Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *BASE (Biotechnological and Agronomic Society and Environnement)* **19(3)**, 221-231.
- Meslem, A., Ahmed, M., Djebli, N., and Aissat, S. (2012). Antibacterial activity of honey alone and in combination with *Nigella sativa* seeds against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3.
- Ministère de l'agriculture du Maroc (2012). Apiculture au Maroc. http://huilemiels.com/apiculture_au_Maroc.html.
- Ministère de l'agriculture de Tunisie (2010). Apiculture en Tunisie. <http://www.apia.com.tn/pdf/miel.pdf>.
- Ministère de l'agriculture Maroc (2012). Développement de l'apiculture au Maroc. Rapport du ministère de l'agriculture.
- Ministère de l'agriculture Tunisie (2010). Apiculture en Tunisie. <http://www.apia.com.tn/pdf/miel.pdf>.
- Molan, P. C. (1992a). The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world* **73(1)**, 5-28.
- Molan, P. C. (1992b). The antibacterial activity of honey. 2. Variation of the potency of the antibacterial activity. *Bee world* **73(2)**, 59-76.
- Mullai, V., and Menon, T. (2005). Antibacterial activity of honey against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian journal of pharmacology* **37(6)**, 403-405.
- Mullai, V., and Menon, T. (2007). Bactericidal activity of different types of honey against clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Altern Complement Med* **13**, 439-41.
- Mundo, M. A., Padilla-Zakour, O. I., and Worobo, R. W. (2004). Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology* **97**, 1-8.
- Nair, S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens Thèse de doctorat, Université d'Oran.
- Nair, S., Meddah, B., and Aoues, A. (2013). Melissopalynological Characterization of North Algerian Honeys *Foods* **2**, 83-89.
- Nicolson, S. W., and Thornburg, R. W. (2007). Nectaries and Nectar. In "Nectar Chemistry" (S. Nicolson et al. editions, ed.), pp. 215-264. Springer.
- Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., and Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci* **7**, 159-65.
- ONS (2011). Données sur la répartition de la population Algérienne par wilaya. (statistiques, ed.). Office nationale des statistiques, Algérie.
- Ouchmoukh, S., Louaileche, H., and Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Journal Food Control* **18**, 52-58.

BIBLIOGRAPHIE

- Ouchmoukh, S., Schweitzer, P., Bachir Bey, M., Djoudad-Kadji, H., and Louaileche, H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food Chemistry* **2**, 561-568.
- Ough, C. (1969). Rapid determination of proline in grapes and wines. *Journal of Food Science* **34**, 228-230.
- Panseri, S., Catalano, A., Giorgi, A., Arioli, F., Procopio, A., Britti, D., and Chiesa, L. M. (2014). Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. *Food Control* **38**, 150-156.
- Paradkar, M. M., and Irudayaraj, J. (2001). Discrimination and classification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy. *Food chemistry* **76**, 231-239.
- Parker, J. (2005). Strong competition drives down prices for US honey imports in 2004. *American Bee Journal* **145**, 279-281.
- Patel, R. V., Thaker, V. T., and Patel, V. K. (2011). Antimicrobial activity of ginger and honey on isolates of extracted carious teeth during orthodontic treatment. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S58-S61.
- Patinet, S., Vandembroucq, D., and Roux, S. (2013). Quantitative prediction of effective toughness at random heterogeneous interfaces. *Physical Review Letters* **april 110**, 7.
- Pereira, V., Pontes, M., Camara, J. S., and Marques, J. C. (2008). Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. *J Chromatogr A* **1189**, 435-43.
- Persano Oddo, L., Bladi, E., and Accorti, M. (1990). Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie* **21**, 17-24.
- Persano Oddo, L., Bladi, E., and Piazza, M. G. (1986). Acidità e pH nei principali mieli uniflorali Italiani. *Apicoltura* **2**, 145-154.
- Persano Oddo, L., Piazza, M. G., and Pulcini, P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie* **30**, 57-65.
- Persano Oddo, L., Piazza, M. G., Sabatini, A. G., and Accorti, M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie, Springer Verlag (Germany)* **26 (6)**, 453-465.
- Persano Oddo, L., and Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys, descriptive sheets. *Apidologie* **35**, S 38-S 81.
- Phipps, R. (2015). International honey market: anticipating the international honey market in the 21st century. *American Bee Journal* **155**.
- Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., and Guyot Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie* **35**, S26-S37.
- Piazza, M. G., and Persano Oddo, L. (2004). Bibliographical review of the main European unifloral honeys *Apidologie* **35**, S 94-S 111.
- Ponikvar, M., Šnajder, J., and Sedej, B. (2005). Honey as a bioindicator for environmental pollution with SO₂. *Apidologie* **36**, 403-409.
- Pontoh, J., and Low, N. H. (2002). Purification and characterization of beta-glucosidase from honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochem Mol Biol* **32**, 679-90.
- Popa, M., Bostan, R., and Popa, D. (2013). Honey - marker of environmental pollution. Case study - the Transylvania Region, Romania. *Journal of Environmental Protection and Ecology* **14**, 273-280.
- Pritchard, A. (2003). "Introduction to the Euphorbiaceae," Cactus & Co. Libri.
- Quezel, P., and Médail, F. (2003). *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. pp. 30. Elsevier, Paris.
- Quezel, P., and Santa (1962). "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales," Centre National De La Recherche, Paris.

BIBLIOGRAPHIE

- Rashed, M. N., El-Haty, M. T. A., and Mohamed, S. M. (2009). Bee honey as environmental indicator for pollution with heavy metals. *Toxicological & Environmental Chemistry* **91**, 389-403.
- Revathy, V., and Banerji, S. A. (1980). A preliminary study of antibacterial properties of indian honey. *Indian journal of biochemistry and biophysics* **17** (supplement n° 242), 62.
- Riccardelli d'albore, G. (1997). "Text book of Mediterranean melissopalynology," Università degli Studi di Perugia.
- Ricciardelli D'albore, G. (1987). Il Miele D.O.C. *Ape Nostra Amica IX* **3**, 25-27.
- Riches, H. R. C. (2000). "Medical Aspects of Beekeeping," HR Books, Northwood, U.K.
- Rivero-Urgell, M., and Santamaria-Orleans, A. (2001). Oligosaccharides: application in infant food (review). *Early Human Development* **65**, 43-52.
- Rodriguez Garcia, J. C., Barciela Garcia, J., Herrero Latorre, C., Garcia Martin, S., and Pena Crecente, R. M. (2005). Direct and combined methods for the determination of chromium, copper, and nickel in honey by electrothermal atomic absorption spectroscopy. *J Agric Food Chem* **53**, 6616-23.
- Rodriguez Garcia, J. C., Iglesias Rodriguez, R., Pena Crecente, R. M., Barciela Garcia, J., Garcia Martin, S., and Herrero Latorre, C. (2006). Preliminary chemometric study on the use of honey as an environmental marker in Galicia (northwestern Spain). *J Agric Food Chem* **54**, 7206-12.
- Rüegg, M., and Blanc, B. (1981). the water activity of honey and its solutions. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **14**, 1-6.
- Ruoff, K., Luginbuhl, W., Kunzli, R., Iglesias, M. T., Bogdanov, S., Bosset, J. O., von der Ohe, K., von der Ohe, W., and Amado, R. (2006). Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy. *J Agric Food Chem* **18**, 6873-80.
- Sabatini, A. G., persano Oddo, L., Piazza, M. G., accorti, M., and manetti, A. (1989). Glucide spectrum in the main Italian unifloral honeys. I- Fructose and Glucose. *Apicoltura* **5**, 35-46.
- Sahli, M. (2014). Journée sur l'apiculture. (ENSA, ed.). non published, Alger.
- Salomon, D. (2010). Le miel : de Noé aux soins de plaies. *Rev. Med. Suisse* **6**, 871-874.
- Sanchez, V., Baeza, R., Ciappini, C., Zamora, M. C., and Chirife, J. (2010). Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of water content in honey. *Food Control* **21**, 339-341.
- Sawyer, R. (1988). "Honey identification," Cardiff Academic press, Great Britain.
- Schneider, M., Coyle, S., Warnock, M., Gow, I., and Fyfe, L. (2013). Anti-microbial activity and composition of manuka and portobello honey. *Phytother Res* **27**, 1162-8.
- Schweitzer, P. (2001). La couleur des miels. In "Abeille de France", pp. 1-7. Apimondia, www.Beekeeping.com/abeille-de-france/articles/couleur_miels.htm.
- Schweizer, p. (1997). Un miel unique. *Abeille de France CETAAM*, 2.
- Sergent, T. (2002). A la recherche du miel le plus cher du monde. In "Abeille de France", pp. 3. CETAAM, France.
- Serrano, S., Villarejo, M., Espejo, R., and Jodral, M. (2004). Chemical and physical parameters of Andalusian honey, classification of citrus and eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chemistry* **87**, 619-625.
- Shenoy, V. P., Ballal, M., Shivananda, P., and Bairy, I. (2012). Honey as an antimicrobial agent against pseudomonas aeruginosa isolated from infected wounds. *J Glob Infect Dis* **4**, 102-5.

BIBLIOGRAPHIE

- Shuel, R. W. (1992). The production of nectar and pollen. *In* "The hive and the honey bee" (J. M. Graham, ed.), pp. 401-436. Dadant & Sons, Hamilton.
- Snowdon, J. A., and Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *Int J Food Microbiol* **31**, 1-26.
- Spano, N., Piras, I., Ciulu, M., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., and Sanna, G. (2009). Reversed-phase liquid chromatographic profile of free amino acids in strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *J AOAC Int* **92**, 1145-52.
- Sporns, P., Plhak, L., and Friedrich, J. (1992). Alberta honey composition. *Food Research International* **25**, 93-100.
- Swiss food manual (1995). Honey. *In* "Swiss food manual" (Eidgenössische Druck und Materialzentrale, ed.), Bern.
- Tabouret, T. (1979). Rôle de l'activité de l'eau dans la cristallisation du miel *Apidologie* **10** (4) 341-358.
- Tanzi, M. G., and Gabay, M. P. (2002). Association between honey consumption and infant botulism. *Pharmacotherapy* **22**, 1479-83.
- Tariba Lovakovic, B., Lazarus, M., Brcic Karaconji, I., Jurica, K., Zivkovic Semren, T., Lusic, D., Brajenovic, N., Pelacic, Z., and Pizent, A. (2018). Multi-elemental composition and antioxidant properties of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey from the coastal region of Croatia: Risk-benefit analysis. *J Trace Elem Med Biol* **45**, 85-92.
- Techniques de l'ingénieur (2000). Les miels. *In* "Traité agroalimentaire" (Techniques de l'ingénieur, ed.), Vol. F 7000.
- Terrab, A., Diez, M. J., and Heredia, F. J. (2003a). Palynological, physicochemical, and color characterization of Moroccan honeys, 1, River and gum (*eucalyptus camaldulensis* dehn) honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 379-386.
- Terrab, A., Gustavo González, A., Diez, M. J., and Heredia, F. J. (2003b). Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. *Journal of the science of food and agriculture* **83**, 637-643.
- Terrab, A., Vega-Perez, J. M., Diez, M. J., and Heredia, F. J. (2001). Characterization of northwest Moroccan honeys by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of their sugar components. *Journal of food science and agriculture* **82**, 179-185.
- The National Honey Board (2004). Honey-Health and Therapeutic Qualities. pp. 1-28. www.nhb.com, Longmont, CO 80501-6045.
- Timmroth, R., Speer, K., BECKH, G., and LÜLLMANN, C. (2005). Comparison of European honeys to tropical honeys - effects of yeast cell numbers on the concentration of especially selected components *In* "Apimondia International Apicultural Congress", pp. 110. Apimondia abstracts, Dublin- Ireland.
- Tomas-barberan, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., and Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**, 485-496.
- Toth, G., Lemberkovics, E., and Kutasi-Szabo, J. (1987). The volatile components of some Hungarian honeys and their anti-microbial effects. *american bee journal* **127**(7), 496-497.
- Trémolières, J. (1973). "Nutrition, physiologie, comportement alimentaire," Dunod, France.
- Truzzi, C., Annibaldi, A., Illuminati, S., Finale, C., and Scarponi, G. (2014). Determination of proline in honey: comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chem* **150**, 477-81.

BIBLIOGRAPHIE

- Tuberoso, C. I., Jerkovic, I., Sarais, G., Congiu, F., Marijanovic, Z., and Kus, P. M. (2014). Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE L**a*b**h*(ab) degrees chromaticity coordinates. *Food Chem* **145**, 284-91.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S., and Sedat Velioglu, Y. (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and color of honey. *Food Chemistry* **95**, 653-657.
- Ustunol, Z. (2000). "The effect of honey on the growth of bifidobacteria."
- Vaissière, B. (2002). Abeilles et pollinisation. *Le Courrier de la Nature*, 24-27.
- Vandeginste, B. (2013). Chapter 7: Chemometrics in studies of food origin. pp. 117-145. Woodhead Publishing Limited, VICIM, The Netherlands.
- Venis, B. (2005). L'apiculture algérienne et les moyens envisagés pour son amélioration avant 1948. In "Série économique". [http: miels et apicultures/52_apiculture.htm](http://miels-et-apicultures/52_apiculture.htm).
- Volatier, J. L. (2000). "Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)," Paris/Ed.
- Von-der-Ohe, W., Dustmann, J. H., and Von Der Ohe, K. (1991). Prolin als kriterium der reife des honigs. *Dtsch. Lebensm. Rundsch* **87**, 383-386.
- Von der Ohe, W. (1994). Unifloral honeys: chemical conversion and pollen reduction. *Grana* **33**, 292-294.
- Von der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M., and Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* **35**, S 18-S 25.
- Von der Ohe, W., Von der Ohe, K., Raude-Roberg, L., and Dustman, J. H. (1999). Vergleich der Methoden zur Bestimmung der Saccharase-Aktivität im Honig. *Apidologie* **30**, 412-413.
- Wang, J., and Li, Q. X. (2011). Chemical composition, characterization, and differentiation of honey botanical and geographical origins. *Adv Food Nutr Res* **62**, 89-137.
- Wang, J., and Qing, X. L. (2011). Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins. In "Advances in Food and Nutrition Research" (E. Inc, ed.), Vol. 62. Elsevier Inc.
- Wang, X. H., Andrae, L., and Engeseth, N. J. (2002). Antimutagenic effect of various honeys and sugars against Trp-p-1 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (23), 6923-6928.
- White, J. W., Jr., Kushnir, I., and Doner, L. W. (1979). Charcoal column/thin layer chromatographic method for high fructose corn sirup and spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey: collaborative studies. *Journal Association Of Analytical Chemistry* **62**, 921-927.
- White, J. W., Riethof, M. L., Subers, M. H., and Kushnir, I. (1962). Composition of american honeys. (U. S. d. o. agriculture, ed.), Vol. 1261, pp. 56-124. technical bulletin, washington
- White, J. W. J. (1992). In "The hive and the honey Bee" (J. M. Graham, ed.). Dadant & Sons, Hamilton, IL.
- Willix, D. J., Molan, P. C., and Harfoot, C. G. (1992). A comparison of the sensitivity of wound infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *Journal of Applied Bacteriology* **73**, 388-394.
- Yo, T., Adanguidi, J., and Aoudji, a. (2017). "Analyse de la performance des chaînes de valeur Miel au Bénin." FAO, Cotonou.
- Zaghloul, A. A., el-Shattawy, H. H., Kassem, A. A., Ibrahim, E. A., Reddy, I. K., and Khan, M. A. (2001). Honey, a prospective antibiotic: extraction, formulation, and stability. *Pharmazie* **56**, 643-7.

BIBLIOGRAPHIE

- Zerrouk, S., Boughediri, L., Seijo, M. c., Fallico, B., Atena, E., and Ballistreri, G. (2013). Pollen spectrum and physicochemical attributes of sulla (*Hedysarum coronarium*) honeys of Médéa region (Algeria) *Albanian journal of agricultural science* **12(3)**, 511-517.
- Zerrouk, S., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M. S., and Seijo, M. C. (2020). Palynological characterisation of sedra honeys (*Ziziphus lotus*) produced in Algeria. *Grana*, 1-12.
- Zhou, J., Suo, Z., Zhao, P., Cheng, N., Gao, H., Zhao, J., and Cao, W. (2013). Jujube honey from China: physicochemical characteristics and mineral contents. *J Food Sci* **78**, C387-94.
- Zhou, J., Yao, L., Li, Y., Chen, L., Wu, L., and Zhao, J. (2014). Floral classification of honey using liquid chromatography-diode array detection-tandem mass spectrometry and chemometric analysis. *Food Chem* **145**, 941-9.

ANNEXE I : Questionnaire sur la consommation du miel en Algérie

Age
 Sexe
 Fonction
 Région

Consommez-vous du miel ? Oui Non

Combien en consommez-vous par an ? Kg

Pourquoi en consommez-vous ? Pour le goût Pour vous soigner

Que préférez-vous ?

Les miels clairs Les miels foncés

Que préférez-vous ?

Les miels liquides Les miels cristallisés

Que préférez-vous ?

Les miels conditionnés dans du verre ou dans du plastique

Comment jugez-vous la qualité d'un miel ? (sur quel critère)

Aspect

Goût

Couleur

Odeur

Prix

Autres pratiques décrivez la méthode ?

.....

D'où achetez-vous vos miels ?

Un proche

Un apiculteur

Un magasin

Vendeurs porte à porte

Association apicole

Marché

Supermarché

ANNEXE II : Pondération de la population des wilayat (données 1998, ONS)

Wilaya	Population totale	Coefficient de pondération
ALGER	2562428	8,81
SETIF	1311413	4,51
ORAN	1213839	4,17
TIZI OUZOU	1108708	3,81
BATNA	962623	3,31
CHLEF	858695	2,95
BEJAIA	856840	2,94
TLEMCEEN	842053	2,89
CONSTANTINE	810914	2,79
M SILA	805519	2,77
MEDEA	802078	2,76
DJELFA	797706	2,74
BLIDA	784283	2,70
SKIKDA	786154	2,70
TIARET	725853	2,49
MASCARA	676192	2,32
MILA	674480	2,32
AIN DEFLA	660342	2,27
BOUMERDES	647389	2,22
RELIZANE	642205	2,21
MOSTAGANEM	631057	2,17
BOUIRA	629560	2,16
BISKRA	575858	1,98
JIJEL	573208	1,97
ANNABA	557818	1,92
B.B.ARRERIDJ	555402	1,91
TEBESSA	549066	1,89
SIDI BEL ABBES	525632	1,81
OUM EL BOUAGHI	519170	1,78
TIPAZA	506053	1,74
EL OUED	504401	1,73
OUARGLA	445619	1,53
GUELMA	430000	1,48
SOUK AHRAS	367455	1,26
EL TARF	352588	1,21
KHENCHELA	327917	1,13
AIN TEMOUCHEM	327331	1,12
LAGHOUAT	317125	1,09
ADRAR	311615	1,07
GHARDAIA	300516	1,03
SAIDA	279526	0,96
TISSEMSILT	264240	0,91
BECHAR	225546	0,78
EL BAYADH	168789	0,58
TAMANRASSET	137175	0,47
NAAMA	127314	0,44
ILLIZI	34108	0,12
TINDOUF	27060	0,09
Total (1998)	29100867	
Total (2008)	34800000	
Total (2011)	36300000	

Remarque : en rouge les wilayas concernées par le questionnaire. (ONS, office nationale des statistiques)

Annexe III : Table de Chataway / Table de correspondance IR – teneur en eau.

Pourcentage d'eau (g/100g)	Indice de réfraction à 20°C	Pourcentage d'eau (g/100g)	Indice de réfraction à 20°C	Pourcentage d'eau (g/100g)	Indice de réfraction à 20°C
13,0	1,5044	17,0	1,4940	21,0	1,4840
13,2	1,5038	17,2	1,4935	21,2	1,4835
13,4	1,5033	17,4	1,4930	21,4	1,4830
13,6	1,5028	17,6	1,4925	21,6	1,4825
13,8	1,5023	17,8	1,4920	21,8	1,4820
14,0	1,5018	18,0	1,4915	22,0	1,4815
14,2	1,5012	18,2	1,4910	22,2	1,4810
14,4	1,5007	18,4	1,4905	22,4	1,4805
14,6	1,5002	18,6	1,4900	22,6	1,4800
14,8	1,4997	18,8	1,4895	22,8	1,4795
15,0	1,4992	19,0	1,4890	23,0	1,4790
15,2	1,4987	19,2	1,4885	23,2	1,4785
15,4	1,4982	19,4	1,4880	23,4	1,4780
15,6	1,4976	19,6	1,4875	23,6	1,4775
15,8	1,4971	19,8	1,4870	23,8	1,4770
16,0	1,4966	20,0	1,4865	24,0	1,4765
16,2	1,4961	20,2	1,4860	24,2	1,4760
16,4	1,4956	20,4	1,4855	24,4	1,4755
16,6	1,4951	20,6	1,4850	24,6	1,4750
16,8	1,4946	20,8	1,4845	24,8	1,4745
				25,0	1,4740

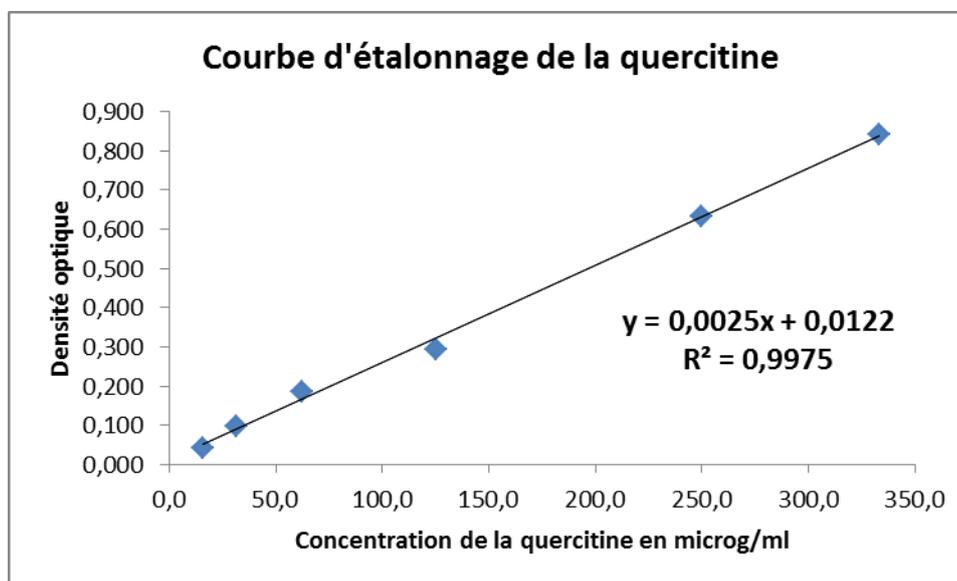
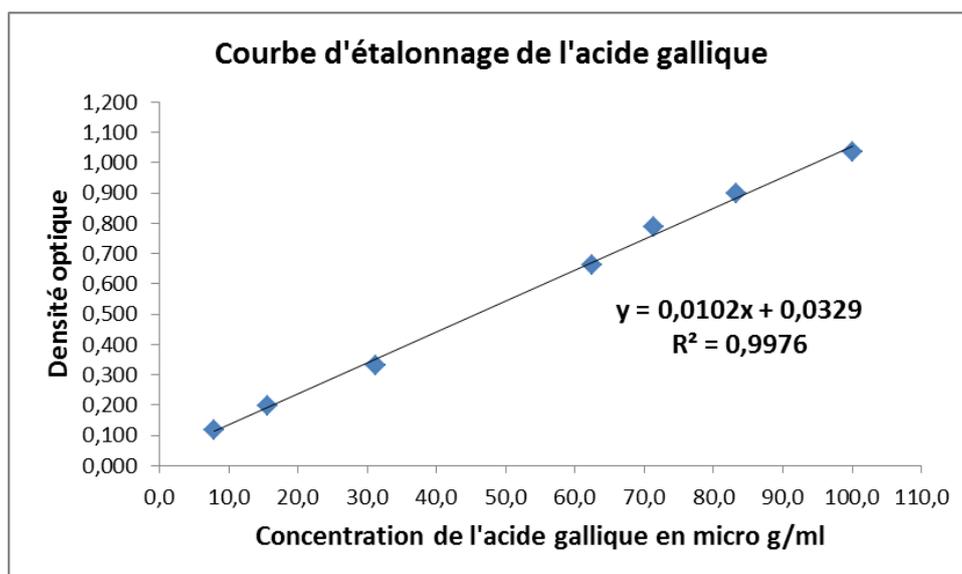
Annexe IV : Tableau de correspondance de la couleur Loviband/ Pfund

Valeurs Loviband	mm Pfund
30	11
40	18
50	27
60	35
70	41
80	46
90	51
100	55
120	62
150	71
200	83
250	92
300	99
400	110
500	119
650	130
850	140

Qualificatifs de couleur utilisés dans le commerce du miel

Couleur (anglais)	Couleur (français)	Valeur en mm Pfund
Water white	blanc d'eau	0-8
Extra light	extra blanc	8-16,5
Light	blanc	16,5-34
Extra light amber	ambré extra clair	34-50
Light amber	ambré clair	50-85
Amber	ambré	85-114
Dark	foncé	>114

ANNEXE V : Courbes d'étalonnage acide gallique et quercitine



$\mu\text{g/ml}$ est équivalent au $\text{mg}/100\text{g}$ de miel.

ANNEXE VI : Tables de l'analyse one way ANOVA des facteurs origine, région et saison

Tableau 1.a

ANOVA origine

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
HUMIDITÉ	Inter-groupes	24,204	4	6,051	4,969	,002
	Intra-groupes	76,718	63	1,218		
	Total	100,923	67			
PH	Inter-groupes	5,502	4	1,375	4,898	,002
	Intra-groupes	17,689	63	,281		
	Total	23,191	67			
AL	Inter-groupes	1684,907	4	421,227	6,798	,000
	Intra-groupes	3903,759	63	61,964		
	Total	5588,665	67			
CE	Inter-groupes	683029,987	4	170757,497	8,634	,000
	Intra-groupes	1245948,5	63	19776,961		
	Total	1928978,5	67			
ROTATION	Inter-groupes	924,353	4	231,088	5,154	,001
	Intra-groupes	2824,600	63	44,835		
	Total	3748,952	67			
COULEUR	Inter-groupes	14789,758	4	3697,440	5,483	,001
	Intra-groupes	41811,436	62	674,378		
	Total	56601,194	66			
HMF	Inter-groupes	1143,141	4	285,785	,973	,428
	Intra-groupes	18496,637	63	293,597		
	Total	19639,778	67			
PROLINE	Inter-groupes	1670563,3	4	417640,830	4,992	,001
	Intra-groupes	5270489,2	63	83658,558		
	Total	6941052,5	67			

Tableau 2.a

ANOVA région

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
HUMIDITÉ	Inter-groupes	12,508	2	6,254	4,458	,016
	Intra-groupes	84,180	60	1,403		
	Total	96,689	62			
PH	Inter-groupes	7,372	2	3,686	14,415	,000
	Intra-groupes	15,343	60	,256		
	Total	22,715	62			
AL	Inter-groupes	453,794	2	226,897	2,729	,073
	Intra-groupes	4988,432	60	83,141		
	Total	5442,226	62			
CE	Inter-groupes	142489,394	2	71244,697	2,514	,089
	Intra-groupes	1700245,6	60	28337,427		
	Total	1842735,0	62			
ROTATION	Inter-groupes	929,538	2	464,769	10,111	,000
	Intra-groupes	2758,005	60	45,967		
	Total	3687,543	62			
COULEUR	Inter-groupes	2327,864	2	1163,932	1,335	,271
	Intra-groupes	51423,619	59	871,587		
	Total	53751,484	61			
HMF	Inter-groupes	364,684	2	182,342	,577	,565
	Intra-groupes	18971,454	60	316,191		
	Total	19336,137	62			
PROLINE	Inter-groupes	85699,144	2	42849,572	,384	,683
	Intra-groupes	6689645,8	60	111494,097		
	Total	6775345,0	62			

Tableau 3.a

saison

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
HUMIDITÉ	Inter-groupes	10,140	2	5,070	3,630	,032
	Intra-groupes	90,783	65	1,397		
	Total	100,923	67			
PH	Inter-groupes	1,777	2	,889	2,697	,075
	Intra-groupes	21,414	65	,329		
	Total	23,191	67			
AL	Inter-groupes	139,757	2	69,879	,834	,439
	Intra-groupes	5448,908	65	83,829		
	Total	5588,665	67			
CE	Inter-groupes	234010,612	2	117005,306	4,487	,015
	Intra-groupes	1694967,9	65	26076,429		
	Total	1928978,5	67			
ROTATION	Inter-groupes	103,943	2	51,972	,927	,401
	Intra-groupes	3645,009	65	56,077		
	Total	3748,952	67			
COULEUR	Inter-groupes	10802,470	2	5401,235	7,548	,001
	Intra-groupes	45798,724	64	715,605		
	Total	56601,194	66			
HMF	Inter-groupes	52,233	2	26,116	,087	,917
	Intra-groupes	19587,545	65	301,347		
	Total	19639,778	67			
PROLINE	Inter-groupes	153551,468	2	76775,734	,735	,483
	Intra-groupes	6787501,0	65	104423,092		
	Total	6941052,5	67			

Annexe VII : Tests de l'activité antimicrobienne des miels

Test de Turbidité

Préparer le milieu liquide (A)

10 g/l de peptone, 1 g/l de lab-lemco (ajuster le pH 6,5-7 avec une solution tampon phosphate) et 1 g/l de glucose.

- préparer une suspension bactérienne avec une absorbance de 0,2 à 520 nm. Celle-ci est utilisée pour le test de croissance.

- un spectrophotomètre est utilisé pour la mesure de la turbidité à 520 nm. Les tubes de 1 cm de diamètre sont directement placés sur le trajet optique

- préparation d'une solution de miel (20 g/100 ml) dans le tampon.

- préparation d'un miel artificiel comme suit pour (100 g)

40 g fructose

35,8 g glucose

7 g maltose

0,2 g KCl

17,8 g d'eau

Mode opératoire

On prend 20 g de miel artificiel qu'on dilue dans 10 ml de tampon phosphate. Les échantillons de miel et de miel artificiel (10 ml) seront mélangés à 10 ml de milieu de culture(A) et l'absorbance est lue à 520 nm (DO_1). Ces tubes sont inoculés par 1 goutte de suspension bactérienne, mixés sur vortex puis mis dans un bain marie avec agitation (24h pour *Staphylocoque* et *Esherichia coli*). A la fin de l'incubation les DO sont lues (DO_2).

On chauffe les miels à 70°C pendant 1h pour détruire le système enzymatique (surtout la glucose oxydase responsable de la production du H_2O_2). La solution de miel doit être préparée juste avant incubation. Ces précautions sont prises pour éviter les erreurs d'estimation de l'AAM non peroxyde.

1/ Fractionnement du miel

Le fractionnement se fera sur des colonnes chromatographiques basse pression avec des phases stationnaires spécifiques pour chaque fraction.

1.1/fraction volatile :

- on prépare une solution de miel à 50 g/100 ml et noter le pH de la solution (20 g/100 ml)

- mesurer l'AAM de cette solution

- peser le ballon dans lequel l'échantillon de miel sera mis.

- chauffer à 60°C dans un Rotavapor pendant 2 h (ou le temps nécessaire pour récupérer le maximum d'eau)

- après évaporation, calculer la masse du résidu et calculer le volume d'eau nécessaire pour avoir une concentration de 20g/100 ml (Selon Bongdanov 1997, le chauffage n'affecte pas l'AAM)
- ajustement du pH (au pHi) et tester l'AAM de la nouvelle solution de miel débarrassée de la fraction volatile.

1.2/fraction neutre non volatile :

- récupérer la solution de miel précédemment préparée
- conditionner la colonne C8 avec 3 ml d'éthanol suivi de 3 ml d'eau.
- faire passer la solution de miel à travers la colonne
- récupérer le filtrat et mesurer son pH (ajuster le pH si nécessaire) puis tester son AAM

1.3/fraction basique :

- le filtrat de l'étape précédente est utilisé sur une colonne échangeuse de cations conditionnée avec 2 ml de HCl 2 mol/l puis lavée avec de l'eau jusqu'à ce que le filtrat devienne neutre.
- la solution de miel est éluée
- on récupère le filtrat (AAM + ajustement du pH si nécessaire)

1.4/fraction acide :

- utiliser une colonne échangeuse d'anions que l'on conditionne avec 2 ml d'une solution de NaOH 2 mol/l
- on fait des lavages avec H₂O jusqu'à neutralité du filtrat
- ajuster le pH de la solution de miel jusqu'à pH=11.
- Faire passer sur la colonne
- le filtrat est récupéré et réajuster au pHi puis on mesure son AAM.

I. Effet peroxyde et non peroxyde :

Préparation de la suspension bactérienne :

Préparer des tubes stériles contenant du bouillon nutritif. Prélever quelques colonies de bactéries et les additionner à ce bouillon pour réaliser une suspension bactérienne et bien agiter les tubes. A l'aide de spectrophotomètre, réaliser une lecture de la densité des suspensions bactériennes à une longueur d'onde de 520nm.

Nb : l'absorbance doit être comprise entre 0,22 et 0,30 ces deux densités correspondent à une concentration de $10^7 - 10^8$ germes/ml.

Préparation de miel pour l'activité peroxyde :

Pour chaque miel :

Une dilution de 50%(W/W) de miel (15 g de miel dans 15 g d'eau distillée).

Mesurer les pH

Incuber la solution à 37°C pendant 1 h pour favoriser la formation de H₂O₂.

Pour chaque souche / phase A

- Mettre 5 ml de miel dans 5 ml de bouillon nutritif.
- Ajouter une goutte de la suspension bactérienne.
- Sceller, mélanger et lire les DO₀ avant incubation.
- Incuber les tubes à 37°C pendant 24 h pour les bactéries gram positif et 48h pour les grams négatifs.
- Agiter puis lire les DO après incubation.

Préparation du miel pour l'activité non peroxyde :

Pour chaque miel :

- Chauffer 15 g de miel à 70°C pendant 1 h.
- Préparer les dilutions en ajoutant 15 g d'eau et chauffer le mélange à 70°C pendant 1h pour détruire le système enzymatique.
- Refaire la phase A.

Contribution du pH :

Pour chaque miel :

- Préparer une solution dans un tampon pH 7 (5 g de miel dans 5 g de tampon).
- Préparer une solution dans un tampon pH 9 (5 g de miel dans 5 g de tampon).
- Refaire la phase A

Effet bactéricide et bactériostatique :

Dans cet essai on utilise les tubes utilisés dans l'essai de l'activité peroxyde.

- Prélever 0,5 ml de la solution du miel (après incubation) pour être utilisée en tant que suspension bactérienne.
- Ajouter 4,5 ml de sérum physiologique.
- Lire la densité optique avant incubation
- Incuber pendant 24 h pour les Gram+ et 48 h pour les Gram-.
- Lire densité optique après incubation.

Osmolarité :

- Préparer pour chaque miel, un miel artificiel dont le pouvoir rotatoire est identique ou proche.
- Préparer des solutions à 50 % de miels artificiels.

- Refaire la phase A avec ces derniers.

a) Expression des résultats :

$\Delta DO = DO_2 - DO_1$ (DO_2 après incubation).

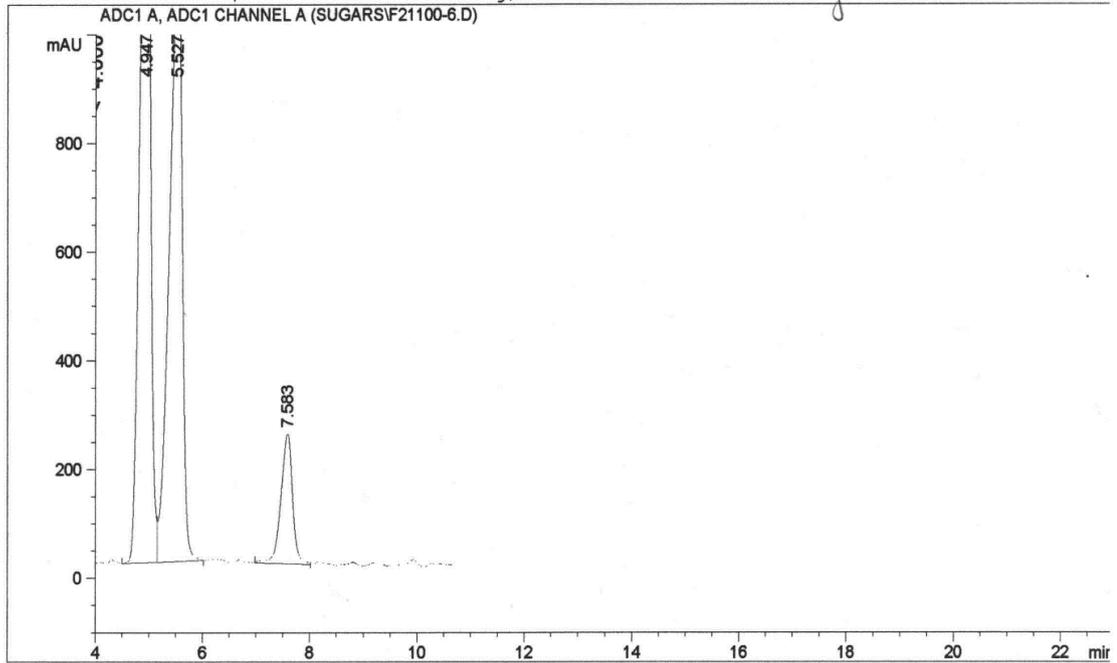
$$\text{Pourcentage de croissance} = \frac{\Delta DO \times 100}{DO_2}$$

Pourcentage d'inhibition = 100% - pourcentage de la croissance.

ANNEXE VIII : Chromatogramme des sucres standards

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SUGARS.M
 Last changed : 22/10/2010 12:43:16 µµ by yiota
 (modified after loading)

mélange de sucres standa



=====
 Area Percent Report
 =====

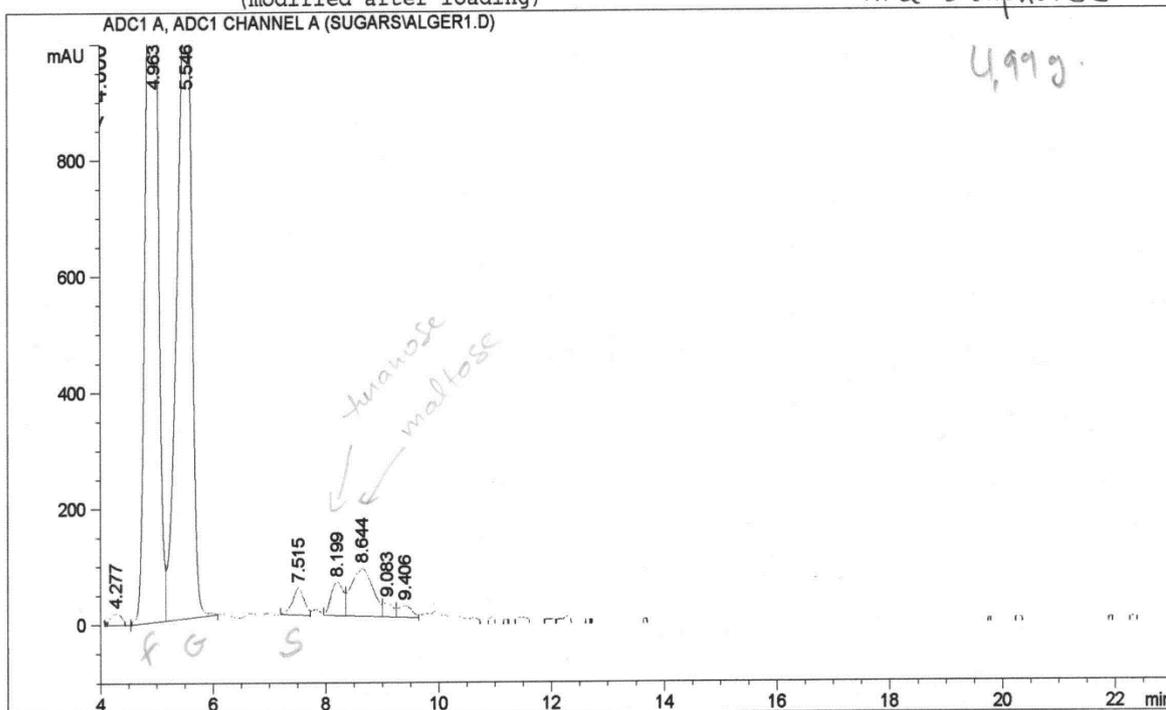
Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: ADC1 A, ADC1 CHANNEL A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %		Weight
1	4.947	VV	0.1957	2.18387e4	1749.28674	49.7870	Fructose	1,8978 g
2	5.527	VP	0.2530	1.83928e4	1123.50549	41.9312	glucose	1,4978 g
3	7.583	BB	0.2287	3632.74561	241.26567	8.2818	Saccharose	0,2999
Totals :				4.38642e4	3114.05791			

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SUGARS.M
 Last changed : 22/10/2010 12:43:16 µ by yiota
 (modified after loading)

miel d'euphorbe



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

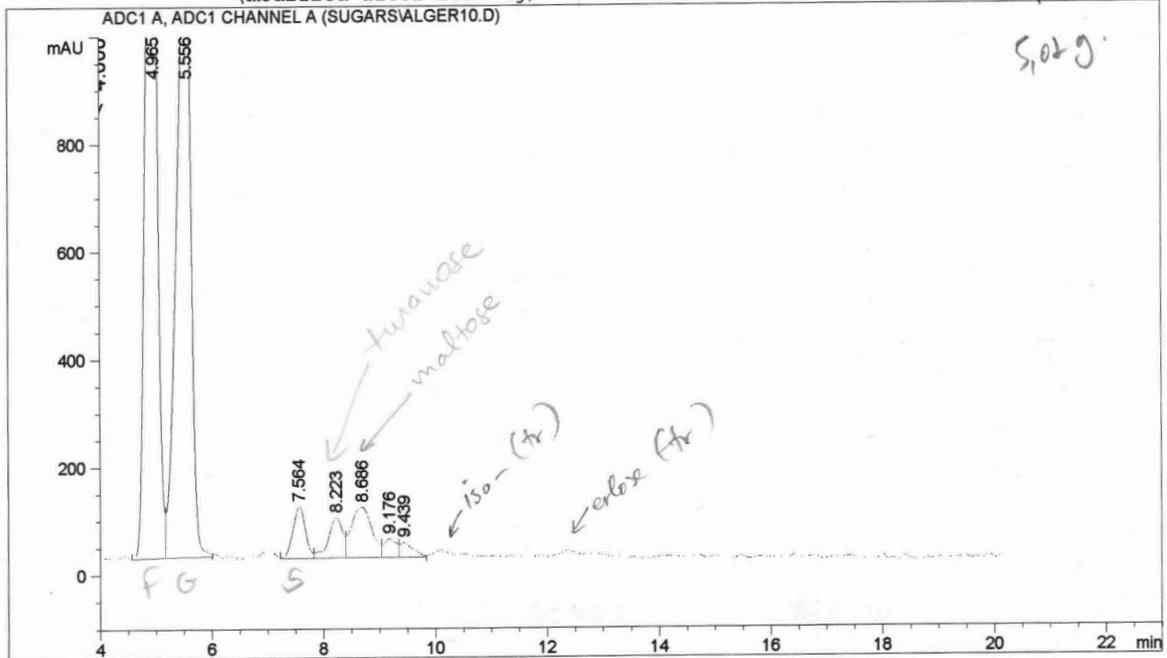
Signal 1: ADC1 A, ADC1 CHANNEL A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.277	PP	0.2271	279.99329	19.90953	0.5751
2	4.963	VV	0.2037	2.38308e4	1844.95813	48.9460
3	5.546	VB	0.2603	2.01495e4	1197.63184	41.3851
4	7.515	BV	0.2149	685.54382	46.79895	1.4080
5	8.199	VV	0.2371	880.18872	57.97595	1.8078
6	8.644	VV	0.4068	2219.36621	82.24619	4.5584
7	9.083	VV	0.1690	302.65952	25.40257	0.6216
8	9.406	VV	0.2495	339.78278	20.17297	0.6979

Totals : 4.86878e4 3295.09614

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SUGARS.M
 Last changed : 22/10/2010 12:43:16 µµ by yiota
 (modified after loading)

miel d'euphorbe.
S029



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

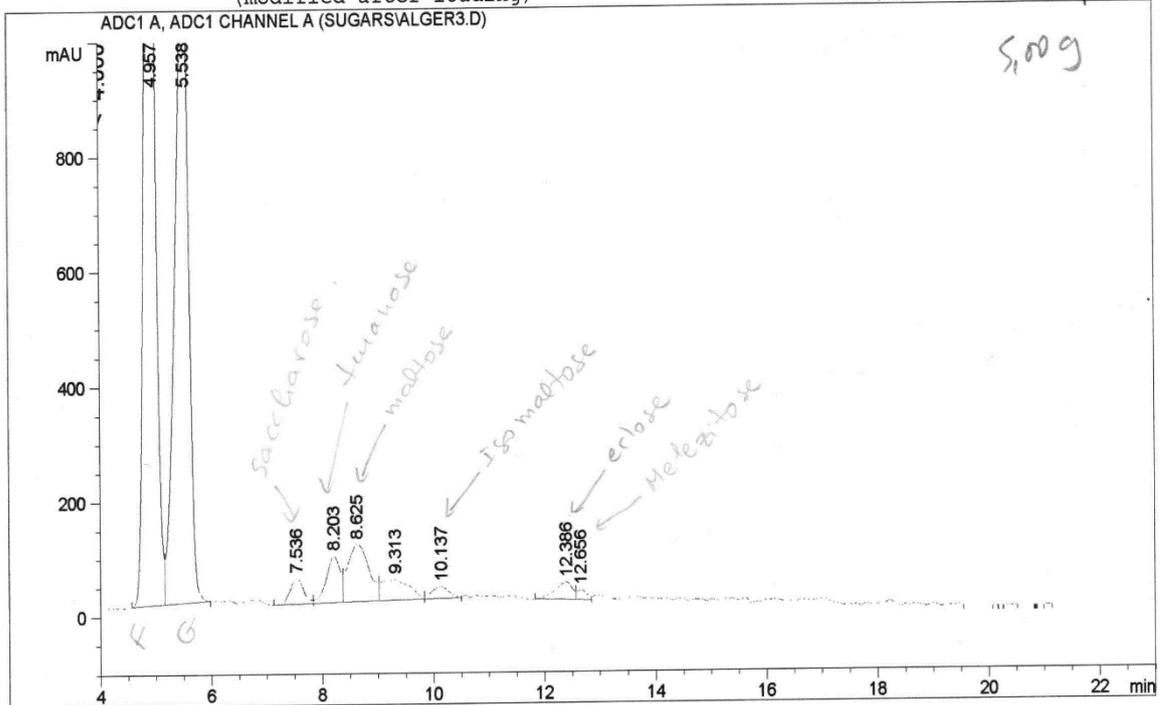
Signal 1: ADC1 A, ADC1 CHANNEL A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %	
1	4.965	VV	0.2054	2.36030e4	1830.55701	46.6536	F
2	5.556	VB	0.2598	2.07869e4	1232.17505	41.0873	S
3	7.564	VV	0.2390	1472.29102	95.43774	2.9101	S
4	8.223	VV	0.2729	1331.13757	74.69153	2.6311	Tux.
5	8.686	VV	0.3951	2410.02295	93.39577	4.7636	maltose
6	9.176	VV	0.2228	539.47150	34.24152	1.0663	
7	9.439	VV	0.2231	449.18253	27.42366	0.8879	

Totals : 5.05920e4 3387.92228

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SUGARS.M
 Last changed : 22/10/2010 12:43:16 µµ by yiota
 (modified after loading)

miel de Ziziphus



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

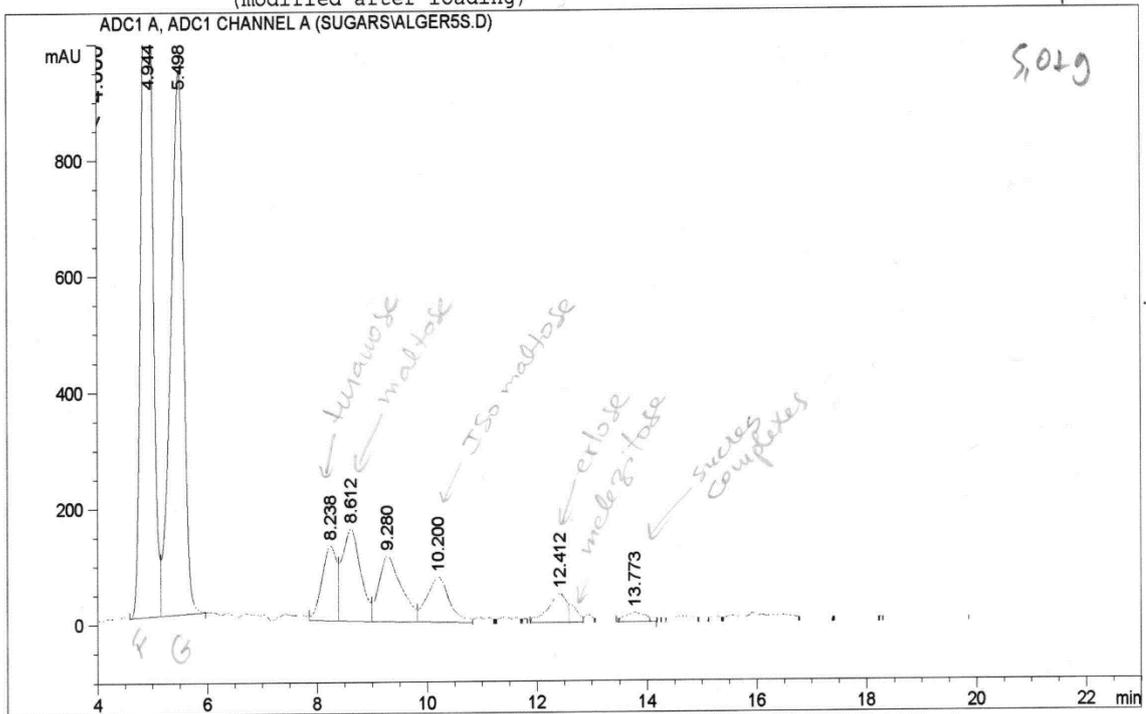
Signal 1: ADC1 A, ADC1 CHANNEL A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %	
1	4.957	PV	0.2000	2.29816e4	1812.13098	46.4385	F
2	5.538	VB	0.2545	1.90034e4	1145.55762	38.3998	G
3	7.536	VV	0.2551	744.70233	44.53477	1.5048	S
4	8.203	VV	0.2535	1409.10913	81.60361	2.8474	Turanose
5	8.625	VV	0.4259	2700.43481	99.72842	5.4567	maltose
6	9.313	VV	0.4338	1265.76855	36.57108	2.5577	
7	10.137	VV	0.3238	457.71808	21.12490	0.9249	isomaltose
8	12.386	BV	0.3318	699.32916	31.05091	1.4131	erbose
9	12.656	VV	0.1809	226.23668	17.96246	0.4572	melenitose

Totals : 4.94883e4 3290.26475

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SUGARS.M
 Last changed : 22/10/2010 12:43:16 µµ by yiota
 (modified after loading)

miel de Ziziphus



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: ADC1 A, ADC1 CHANNEL A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %	
1	4.944	VV	0.1944	2.07855e4	1679.63403	42.0072	F
2	5.498	VB	0.2456	1.51733e4	938.45288	30.6651	G
3	8.238	VV	0.2854	2461.40527	129.68526	4.9745	Tur
4	8.612	VV	0.3371	3691.58374	158.87286	7.4606	Maltose
5	9.280	VV	0.4113	3228.49854	113.67500	6.5248	
6	10.200	VV	0.4151	2234.36597	77.78618	4.5156	Isonnets
7	12.412	VV	0.3993	1500.75244	50.12277	3.0330	erlose (+ melozits)
8	13.773	PP	0.3241	405.31842	16.70248	0.8191	

Totals : 4.94808e4 3164.93146

Valorisation

La partie A contenant les préalables à l'étude (chapitre IV) traite de l'analyse de la qualité de 40 miels provenant de 13 pays, collectés dans les commerces entre 2004 et 2011. Les résultats ont fait l'objet d'un article national (revue de l'université d'El Oued) qui a été publié sous le titre :

Quality of imported honeys marketed in Algeria.

Haderbache L., Mohammedi A., Journal of Fundamental and Applied Sciences, 7 (1) : 139-149, 2015.

La partie B des préalables (Chapitre IV) a tenté de dresser un portrait, dans le contexte actuel de la filière apicole, de la perception du miel par le consommateur algérien, de ses attentes et de ses préférences. Les résultats ont fait l'objet de la publication nationale suivante :

Comportement de consommation du miel en Algérie.

Haderbache L., Mohammedi A., Revue Agriculture de L'Université Ferhat Abbas Sétif 1, 09 : 19-24, 2015.

En outre, les résultats de ces deux parties ont été présentés sous forme d'affiches durant la première journée sur l'huile d'Olive et le Miel, organisée par le Laboratoire de Recherche en Technologie Alimentaire (LRTA), le 10 juin 2015 à la Faculté des Sciences de L'ingénieur (FSI), de l'Université M'hamed Bougara, Boumerdes (UMBB).

Le Chapitre IV aborde la caractérisation physico-chimique de 82 miels algériens, recueillies entre 2005 et 2010 et contrôlés pour leur teneur en eau, pH, acidité libre (AL), conductivité électrique (CE), teneur en cendres, hydroxyméthylfurfuraldéhyde (HMF), teneur en proline, pouvoir rotatoire spécifique et couleur. Les résultats ont donné lieu à une publication internationale intitulée :

Characterization and chemometrics based-approach to classify some Algerian Blossom honeys.

Haderbache L., Mohammedi A., Journal of Agricultural Science and Technology A , 4 (7) : 576-584, 2014.

Le Chapitre V est dédié à la caractérisation de deux types de miels des régions semi-arides d'Algérie, à savoir *Ziziphus lotus* et *d'Euphorbia bupleuroides L.* et a donné lieu à une publication internationale intitulée :

Ziziphus Lotus and *Euphorbia bupleuroides* Algerian honeys.

Haderbache L., Bousdira M., Mohammedi A. World Applied Science Journal, 24 (11) : 1536-1543, 2013.

Dans le cadre de l'approfondissement de nos connaissances sur les deux types de miel précités, 12 échantillons de miel ont été testés pour leur activité antimicrobienne vis-à-vis de 3 souches bactériennes et d'une souche fongique. Le chapitre VI portant sur les essais réalisés fait l'objet d'un article accepté en avril 2020 et paru en juin dans Journal of microbiology, Biotechnology and food sciences (Vol 9, N° 6) sous l'intitulé "ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF ZIZIPHUS AND EUPHORBIA HONEYS HARVESTED IN SEMI-ARID REGION OF ALGERIA AND THEIR POSSIBLE USE IN SOFT MEDICINE".
Haderbache Latifa, Annou Saada, Mohammedi Arezki.

L'essentiel de cette partie a aussi été présentée préalablement sous forme d'affiche au Vth EuCheMS Chemistry Congress, Istanbul, Turkey; 08/2014 :

Antimicrobial Activity of two algerian semi-arid region honeys (Ziziphus lotus and Euphorbia bupleuroides).

Latifa Haderbache, Saada Annou, Arezki Mohammedi, 2014.

Ce travail de recherche a donné lieu à un projet de recherche **PRU** (N° F00320100020 : Analyse et caractérisation des miels d'Algérie) et a permis un échange de connaissances entre scientifiques et professionnels sous forme de diverses communications dont :

Avril 2006 : Communication orale au Salon Oléicole et Apicole. Tizi Ouzou, intitulée "Caractérisation des miels Algériens".

Décembre 2007 : Communication orale au Salon Oléicole et Apicole. Alger, les pins maritimes, intitulé "Qualité globale des miels algériens".

Octobre 2008 : Communication orale à la rencontre des professionnels de l'Apiculture à Blida, intitulée "Etat des lieux des connaissances sur les miels algériens".

16 Avril 2010 : Communication sur la qualité des miels algériens, FSI, UMBB.

16 Avril 2013 : Communication sur les analyses de qualité appliquées aux miels, FSI, UMBB.

Septembre 2014 : Communication sur la qualité des miels locaux, rencontre des professionnels de l'apiculture à l'APW de Tizi Ouzou.

Septembre 2014 : Journée sur la recherche et le développement de l'Apiculture (ENSA, El-Harrach), organisée par le Département de Production Animale avec le concours de l'Association Nationale des Apiculteurs Algériens.

Novembre 2014 : Rencontre sur l'économie verte, communication sur l'importance de l'apiculture dans la préservation de la biodiversité, wilaya de Nâama, avec le concours de l'Association de Protection de l'Environnement Naturel et Urbain (M'sila).

Février 2015 : Conférence nationale sur la réflexion, l'étude et l'exportation des miels algériens (ALGEX, El-Harrach).

Juin 2015 : Présidence de la section miel et produit de la ruche lors d'une journée nationale sur le miel et l'huile d'olive. FSI, UMBB.

Le travail sur les miels et leur qualité nous a poussé à proposer deux normes algériennes. La première, portant sur les critères de qualité des miels, a été définitivement adoptée en octobre 2016 par les membres du Comité Technique National **CTN 49 « Productions Animales, Aliments des Animaux et Zootechnie »**, sous le numéro NA 15304, suivie en janvier 2018 par l'adoption de la deuxième sur les méthodes d'analyse, à savoir Norme NA 19410 « Miel : Méthodes d'échantillonnage et d'analyse ».

Enfin, nos efforts en collaboration avec l'INRA Berraki, le CRAPC Bousmail et la Cassa de blida, ont été gratifiés par la mise en place de laboratoires et de sections dédiés au soutien de la filière apicole par l'analyse de contrôle et de caractérisation des miels, et d'un projet en cours pour la coopérative apicole des Issers.

En parallèle, beaucoup de mémoires de fin d'étude ont pu être réalisés au sein de ces institutions assurant une collaboration intense de l'UMBB et des échanges pertinents sur les produits de la ruche.



JMBFS

Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences

International peer-reviewed scientific online journal



Published by
Faculty of
Biotechnology and
Food Sciences

ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF ZIZIPHUS AND EUPHORBIA HONEYS HARVESTED IN SEMI-ARID REGION OF ALGERIA AND THEIR POSSIBLE USE IN SOFT MEDICINE

Haderbache Latifa^{1*}, Annou Saada¹, Mohammedi Arezki²

Address(es):

¹ Research laboratory in food technology (LRTA), M'hamed Bougara University, Avenue de l'indépendance, Boumerdes 35000, Algeria.

² Research laboratory in conservation and valorization of biological resources (VALCORE), M'hamed Bougara University, Avenue de l'indépendance, Boumerdes 35000, Algeria.

*Corresponding author: l.haderbache@univ-boumerdes.dz

doi: 10.15414/jmbfs.2020.9.6.1114-1118

ARTICLE INFO

Received 24. 4. 2019
Revised 21. 1. 2020
Accepted 4. 2. 2020
Published 1. 6. 2020

Regular article

OPEN ACCESS

ABSTRACT

Two different botanical origin honey types (*Ziziphus lotus* and *Euphorbia bupleuroides*) from semi-arid regions in Algeria consisting of twelve samples were tested for their antimicrobial efficiency. Global assessment of antimicrobial activity was made by wells method on integer samples and by turbidity test to locate fraction responsible of this activity. Honeys have been tested against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. Fungal strain was resistant to all honeys at all concentrations, whereas *E. coli* and *S. aureus* were sensitive presenting minimum inhibition concentrations (MIC) between 10 and 50%. *Euphorbia* honeys appeared to be more active. The fractionation shows that volatile fraction can have great antimicrobial effect, followed by the acidic one. Correlations reveal good relation between inhibitory effect, free acidity and polyphenols. These facts show large possibilities for honey use in soft medicine against some bacterial infections.

Keywords: Honey; *Ziziphus lotus*; *Euphorbia bupleuroides*; Antimicrobial activity; soft medicine; Algeria

INTRODUCTION

The honey efficiency is well known, since long centuries, against the infectious illnesses provoked by several strains such as: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* (Brasson and Gobler, 2008, Lin *et al.*, 2009, Zahoor *et al.*, 2014). It has been signaled to be active on more than 60 bacteria species (aerobes and anaerobes, Gram positive and Gram negative), a fungicidal effect has also been signaled on some yeast and *Aspergillus* and *Penicillium* species (Molan, 1992a), as well as on all common dermatophytes (Brady *et al.*, 1997).

Several intrinsic factors participate to this anti-microbial activity; as osmolarity, acidity, viscosity, H₂O₂, non-peroxides inhibitors as lysozymes, flavonoides, acidic phenols, and aromatic acids (Bogdanov and Blumer, 2001). Bogdanov (Bogdanov, 1997b) suggests that non-peroxide inhibitors depend on the botanical origin of honey, but can come from the bee herself, these molecules have been classified in four groups: neutral, acidic, basic and volatile (Bogdanov, 1997b); however, it is the acidic fraction that had the most marked activity for studied blossom and honeydew honeys (Bogdanov *et al.*, 2008). This activity depends as well on conditioning methods and storage conditions (Salomon, 2010).

Several studies made relation between this AMA (anti-microbial activity) and the floral origin of some honeys (Conifers honeydew, *Castanea sativa* and Manuka honeys, etc.). The relation of this activity with the dark color has always been signaled (Dustman, 1979), but the variations are so big that it is very difficult to make some associations, unless a large number of honey samples are investigated with established floral origin, on several harvests, of several years (Molan, 1992b, Moniruzzaman *et al.*, 2013). Other authors correlated AMA with phenolic compounds and especially flavonoids (Je-Ruei *et al.*, 2013, Escriche *et al.*, 2014) or with proteins present in the digestive tube of bees (Mundo *et al.*, 2004).

Researches about antimicrobial activity of honeys, currently have a very big interest because they are becoming used more frequently in the medical domain where medicines do not manage to achieve hoped results, as in the case of the pathogenic strains resistance to various medicinal treatments, we give for example the case of *S. aureus* and *Helicobacter pylori* isolated from gastric ulcers or infected burns (Al Somal *et al.*, 1994, Cooper, 2001, Cooper *et al.*, 2002b, Willix *et al.*, 1992, Majtan *et al.*, 2013), or *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* incriminated in the occurrence of tooth decays (Patel *et al.*, 2011, Jaganathan, 2011).

The new interest of Algerian consumer in honeys from semi-arid regions and for soft medicines is pushing scientist to make more investigations on this scope.

Ziziphus lotus is Rhamnaceae shrub called "Sedra, N'beg, or Azar Djerjer", it is widespread in our arid and semi-arid regions, akin to "sidr" in Middle East countries (Baba Aissa, 1999, Al Khalifa and Al Arify, 1999, Mekious *et al.*, 2015, Zerrouk *et al.*, 2017). Honey from this species was found to be different of common blossom honeys, with a very large shelf life and with particular richness in enzymes, polyphenols and antiradical activity (Haderbache *et al.*, 2013). Whereas *Euphorbia bupleuroides* L. is an euphorbiaceae species called "Lebayna, Helayba, Halib elDiba, or tanahout", it is one of native Algerian plants, the most visited by bees among 51 euphorbia species known as toxic plants (Quezel and Médail, 2003). Its honey contains very high amount of flavonoids (Haderbache *et al.*, 2013). The same interest was showed for these two botanical families in morocco (Chakir *et al.*, 2011).

The aim of this work is to quantify their antimicrobial activity against three bacterial strains (*E. coli* / G⁻; *S. aureus*/G⁺ and *P. aeruginosa* /G⁻) and one fungal strain (*C. albicans*), often incriminated in human pathologies. Honeys fractionation in four groups (volatile, neutral, acidic and basic) will enable to identify the nature of active molecules. Until this day no work has been done on the antimicrobial activity of such kinds of honeys, although they are widely used in Maghreb traditional therapy (Sedative and immune-modulatory virtues; Light laxative effect; Hypotensive and anti-diabetic potential; Anti-inflammatory; Emollient and bechic).

MATERIAL AND METHODS

Botanical and biological material

The experimentation involved twelve samples of honey from two botanical origins namely *Ziziphus lotus* and *Euphorbia bupleuroides*, provided by professional apiarists. Samples were harvested in different regions (El Bayadh, Aflou, Laghouat, Ain safra) and on different years (2009 to 2012); The chosen acceptance criteria were: Fresh harvested honeys, known harvesting area, *Ziziphus lotus* and *Euphorbia bupleuroides* supposed honey kind, organoleptic properties reminding the mentioned floral source, sufficient quantity for all analysis and the use of virgin honey combs just before harvest to avoid residue transfer if any. Chosen strains are generally used in testing antimicrobial honey effects: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923),

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027) and *Candida albicans* (ATCC 10231) were reference strains, procured from research center & development of SAIDAL (Algerian pharmaceutical laboratory).

Pollinic and physico-chemical analyzes

The floral origin has been confirmed by pollinic analysis based on harmonized methods of melissopolynology (Von der Ohe et al., 2004). Since Ziziphus and Euphorbia honeys are normally represented in pollens, the inclusion criteria was a percentage of the main pollen above 45 % based on 1000-1200 counted and identified pollens. Total phenols and flavonoids have been achieved according to method described by Meda, Lamien (Meda et al., 2005). For polyphenols, the quantification is based on the reduction of phosphotungstic and green color phosphomolibdic mixture in molybdenum tungsten oxide of blue color, tests are made on 10% honey solution and coloration intensity is measured at 760 nm. Lectures are reported on Gallic acid standard curve, and results expressed in Gallic acid Equivalent by kg of honey (mg EGA/kg). Whereas, flavonoids measurement is based on their complexation by aluminum trichlorure. The absorbance is read at 510 nm and the quantification made with Quercitine standard curve, results are expressed in Quercitine Equivalent by kg of honey (mg EQ/kg). Free acidity (FA) is measured by titration until pH 8.3 and diastase activity (DN) by following-up the deterioration of the soluble starch through time (Official methods of the IHC)(Bogdanov, 1997a, Kumar et al., 2018).

Global antimicrobial activity

Global assessment of antimicrobial activity was made by wells method: it has been achieved by gelose diffusion technique (Marghitas et al., 2009). Honeys solutions were prepared in normal saline water (0.85% of salt), in different concentrations: 10%, 25%, 50% and 75%. The sensitivity profile is determined by inhibition diameters measurements and MIC (Minimum inhibition concentration) is determined for each honey type. The sensitivity approach is inspired from the works of Meena and sethi (Meena and sethi, 1994) and Aboul Ela, El sher (Aboul Ela et al., 1996), who qualify a strain as: Non inhibitory so Ø < 7mm, Slightly inhibitory if 7mm < Ø < 13mm, Moderately inhibitory if 13mm < Ø < 25mm and Greatly inhibitory so Ø > 25mm.

Initially, before the antimicrobial test, strains are revived by stripes dispersion on gelose surface, previously melted then cooled (nourishing gelose for bacteria and Sabouraud or OGA for fungous strains), followed by an incubation of 37°C/24 h for bacteria and 25°C/48 h to 5 days for yeasts. Strains purity is verified by microscopic test (Gram, shape, gathering and mobility) and standard microbial suspensions are prepared in sterile physiological water to get absorbance (at 520 nm) between 0.22 and 0.32 for bacteria and between 2 and 3.8 for yeasts that correspond to a cell concentration of 10⁶ -10⁸ CFU/ml (Leclerc et al., 1993).

Evaluation of antimicrobial activity of volatile, neutral, basic and acidic fractions

Honeys are first heated at 70°C during 1h (Bogdanov and Blumer, 2001) to destroy glucose-oxydase responsible of peroxide production, this precaution is taken to avoid mistakes in non-peroxide AMA evaluation. Fractionation and turbidity test are achieved according to the method described by Bogdanov (1997b); the volatile fraction is separated by rotavapory on 20% phosphate buffered honey solution, the neutral fraction by passage on a meadow full activated C8 column, the basic fraction by passage on a strong HCl activated cation exchange resin and finally the acidic fraction on a strong NaOH activated exchange resin, to avoid the influence of concentration and acidity, we readjust

the fractions to initial Brix by adding or removing water (under vacuum) and pH to the initial value pH_i. A SHIMADZU UV-1800 spectrophotometer is used for measuring the absorbance (A) at 520 nm. The sealed glass tubes of 1cm of diameter are used and placed directly on the optic ride of the device after incubation and correct mixing.

The relative inhibition percentage of a fraction is not directly measured but deduced from remaining fractions after each step and calculated by these formulas:

$$\Delta A = A2 - A1 \quad (\text{Eq. 1})$$

$$G[\%] = 100 * \Delta A / A2 \quad (\text{Eq. 2})$$

$$I[\%] = 100 - G \quad (\text{Eq. 3})$$

$$If = If(n+1) - If(n-1) \quad (\text{Eq. 4})$$

Where: A is the absorbance, A2 the absorbance after incubation, A1 absorbance before incubation, G growth rate, I inhibition rate, If inhibition rate of a fraction, If (n+1) inhibition rate in the step after, If(n-1) inhibition rate in the step before.

Evaluation of osmolarity, pH and H₂O₂ contribution in antimicrobial activity

To evaluate osmolarity effect, artificial honeys are prepared based on global sugar composition and rotatory characteristics of each type of honey by mixing different proportions of fructose, glucose, maltose, KCl and water. There AMA is measured by turbidity test (in liquid medium).

The peroxide effect is estimated by comparing heated (70°C/1h) and non-heated honey treated the same in a solution incubated at 37°C for 1h. Buffered honey solutions (pH7, pH9 and pH3) where compared to water treated honey to show pH influence. For all experiences the solution concentration was the same (50%) to avoid concentration effect.

Bactericidal and bacteriostatic effect

This test is based on a comparison between the absorbance of a yet inoculated and incubated 50% honey solution like used in total AMA and the same solution added by physiological serum and re-incubated for 24h (G+) or 48h (G-) at 37°C. Bactericidal effect is noted when there are no significant changes in A (<2%) and bacteriostatic one when there is an increase of bacterial growth (>30%). The Concentration is preserved.

Statistical analyzes

The comparison between groups averages has been achieved by the t test (coefficient of Pearson to p < 0.05) by statistical software SPSS17.0.

RESULTS AND DISCUSSION

Total polyphenols content of studied samples oscillates between 474 and 898 mg EGA/kg, while Flavonoids ranged between 29 and 3213 mg EQ/kg. Flavonoids/polyphenols ratio indicates that Ziziphus honeys are poorer in flavonoids but richer in total phenols than Euphorbia ones.

Ziziphus samples show weak free acidities of 120±21 meq/kg, an important quality that encourage a slow ageing, whereas euphorbia honeys are more acidic with an average of 208±57 meq/kg. Diastase activity, being very important in the assessment of honeys health effects and freshness, reveals that Ziziphus honeys have more homogeneous DN values. There were no statistical differences between Ziziphus and Euphorbia groups for all parameters except for free acidity.

Table 1 summarize studied parameters generally related to antimicrobial effect (Total polyphenols, poly.; flavonoids, flav. ; free acidity, FA.; and Diastase activity, DN).

Table 1 Polyphenols, flavonoids, free acidity and diastase number results, sorted by botanical origin.

Botanical origin group	Statistic	Poly. [mgEGA·kg ⁻¹]	Flav. [mg EQ·kg ⁻¹]	Flav/poly [%]	FA [meq·kg ⁻¹]	DN [U shade]
Euphorbia Honeys (n=6)	Mean± SD	552 ± 56 ^a	217 ± 113 ^a	409±229	208 ± 57 ^b	20.2± 10.8 ^a
	Min -max	474- 639	59- 313	93- 665	160-320	9.2- 38.6
	α (%)	10	52	56	27	53
Ziziphus Honeys (n=5)	Mean± SD	617 ± 182 ^a	134±79 ^a	223±104	120± 21 ^a	23.2± 7.4 ^a
	Min - Max	488- 898	29-250	41- 298	100- 150	10.5- 30
	α (%)	30	59	46	18	32

a,b same letters indicate that there is no significant differences at p<0.05 (mean comparison test), SD: standard deviation, poly: total polyphenols, Flav: total flavonoids, flav/poly: flavonoids polyphenols ratio, FA: free acidity, DN: diastase number, α (%): homogeneity coefficient.

Global antimicrobial activity

The study of global antimicrobial activities (table 2), show that *C. albicans* is resistant to Ziziphus and Euphorbia honeys at all concentrations for all samples. This result is in accordance with Zaghoul et al. (2001) who worked on Egyptian honeys. This fact it is not directly related to floral origin but probably due to the

greatest tolerance of yeasts and fungal strains to concentrated medium which act only as bacteriostatic (Molan, 1992b), but it does not mean that it is true for all *Candida* strains and all honeys, many other authors demonstrated the sensitivity of different strains of *Candida* to Iranian and Indian honeys respectively with MIC about 24 % (Revathy and Banerji, 1980, Khosvari et al., 2008).

Table 2 Inhibition Diameters [mm] of Ziziphus and Euphorbia honeys (based on solution of 50%).

n=10	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Glob Mean.	21.4± 5.6	20.5± 6.0	18.7± 5.9	0.00
Mean. E (n=5)	23.8± 3.3 ^b	24.6± 1.7 ^b	17.9± 2.9 ^a	Total Mean E: 22.1± 3.7
Mean. Z (n=5)	22.9± 3.4 ^b	21.6± 1.6 ^b	23.1± 0.9 ^b	Total Mean Z: 21.9± 1.1

a,b same letters indicate that there is no significant differences at p<0.05; Z: Ziziphus; E: Euphorbia.

In parallel bacterial strains shows different sensitivity levels according to samples, but in general there were important inhibition of *E. coli* and *S. aureus* with average inhibition diameters of 21.4±5.6 and 20.5±6.0 mm respectively. Euphorbia honeys shows moderate to strong AMA on *S. aureus* followed by *E. coli* and *P. aeruginosa*, whereas, Ziziphus honeys was the strongest against *P. aeruginosa* first, *E. coli*, then *S. aureus*; these results corroborate with investigations made Halawani and Shohayeb (2011) on Saudi Ziziphus "Shaoka and Sidr" honeys. It drives us to suppose that Euphorbia honeys are more efficient against Gram positive while Ziziphus against Gram negative strains. Averages comparison, between both honey groups, by the t test, shows that they have comparable effects on *E. coli* and *S. aureus* but different for *P. aeruginosa* (Table 2). Generally, the AMA was more variable for *E. coli* than for the other strains.

The MIC for Euphorbia honeys oscillate between 10 and 25 % with an average of 16 % for *E. coli*, between 10 and 25 % for *S. aureus* with an average of 20 % and

between 10 and 50 % for *P. aeruginosa* with an average of 32 %. For Ziziphus the MIC averages are respectively of 16 %, 46 % and 32 % for cited strains in this order. These observations drive us to say that Euphorbia honeys have better performances (dose/effect) against *S. aureus*.

Antimicrobial activity of honey fractions

The results of the fractionation test are represented in table 3. The AMA of whole honeys compared to an artificial one show that the osmotic effect can represent 10 to 36% of the global antimicrobial effect, with a range between 50 and 80%, depending on strains sensitivity to medium concentration, a fact already reported by Bogdanov (1984). The antimicrobial effect within the same group changes from one year to another, it is probably due to the contribution of different plants nectars, knowing that every harvest honey is considered to be unique.

Table 3 Relative Inhibition Percentage of the Fractionated Honey Samples.

Honeys	Relative inhibition of different fractions [%]											
	Volatil			Neutral			Basic			Acidic		
	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.	St.	Ps.	Ec.
E2009 (n=2)	2	57	3	90	3	1	1	4	3	7	36	93
E2012 (n=2)	86	84	90	3	2	0	6	2	8	14	17	3
Z2010 (n=2)	5	34	5	2	3	90	90	3	3	3	60	2
Z2012 (n=2)	90	80	74	4	2	2	5	13	2	1	5	22
Mean E (n=4)	44	71	47	47	3	1	4	3	6	11	27	48
Mean Z (n=4)	48	57	40	3	3	46	48	8	3	2	33	12

St. : *S. aureus* ; Ps. : *P. aeruginosa* ; Ec. : *E. coli* ; E : Euphorbia honey ; Z : Ziziphus honey

The global antimicrobial effect survey of the different fractions show that the biggest part of AMA comes from the volatile fraction (> 51 %) ; followed by the acidic one (>22 %) for euphorbia as well as for Ziziphus honeys. It comes to reinforce the observations of Bogdanov (1997b) who signaled important activity of the acidic fraction in some blossom honeys but he also affirms that it is very variable and can also be located in other fractions, for colza honey, it is the neutral fraction, whereas for honeydews it is rather in the basic fraction. The studied microbial strains show clear differences in their reaction to honeys, *S. aureus* was sensitive to all fractions (volatile, basic and neutral) and slightly sensitive to the acidic one; *P. aeruginosa* was especially sensitive to volatile and acidic fractions, *E. coli* showed a comparable sensitivity for volatile and acidic, followed by neutral fraction but had no reaction to the basic one.

Interrelationship between AMA and the Rates of Polyphenols, Flavonoids, FA and DN

Since we noticed that the two types of honey have comparable effects on *E. coli*, which is a highly sensitive strain to bee products, we made this test to better identify the nature of active molecules. The survey of the existence of a global interrelationship between the AMA of *E. coli* on a honey solution of 75 % (table 4), reveal that no statistically meaningful relation exists between this activity and the studied parameters, but the survey of honey groups apart shows that a strong relation exists between FA and AMA in Ziziphus honeys, proving that the active antimicrobial molecules are free acids but not polyphenols or flavonoids, whereas, for Euphorbia honeys Pearson criterion shows a slight relation with total polyphenols proving the role of phenolic acids but not of the flavonoids in Euphorbia honeys.

Table 4 Interrelationships between the AMA and Composition Parameters.

	AMA	Poly.	Flav.	Flav./poly.	FA	DN
All samples	Cor.	-.087	-.151	-.157	.215	.089
	P. Sig.	.789	.640	.626	.502	.783
E.	Cor.	.509	-0.189	-0.301	.160	.151
	P. Sig.	.244	.684	.511	.732	.746
Z.	Cor.	-0.261	-0.253	-0.139	* .809	.032
	P. Sig.	.618	.629	.793	.050	.952

*. The correlation is significant at p0.05 level (bilateral).

AMA: antimicrobial activity; Poly: polyphenols; Flav. Flavonoids; FA: free acidity; DN: diastase number. Flav./Poly.: ratio.P. Sig. :Pearson significance; Cor.: Correlation coefficient. E: euphorbia; z: ziziphus.

Contribution of osmolarity, pH, H₂O₂ in antimicrobial activity

In this section, the global activity of the studied honeys is made with a turbidity test, to identify the peroxide, osmolarity and pH contribution in total honey AMA, as well as its nature (bactericidal or bacteriostatic).

According to the results shown in table 5, we can classify used strains from the most sensitive to least sensitive as follows: *E. coli*, *S. aureus* then *P. aeruginosa*. All strains show the greatest sensitivity to non-peroxide fraction, even if we know that *E. coli* and *S. aureus* are "catalase +" and are capable to inhibit the H₂O₂ produced in diluted honey by glucose oxidase enzyme, but according to

Bogdanov and Blumer (2001), mature honeys only contain weak quantities of peroxide, weakly inhibiting bacterial growth and affirm that the mechanism of its production is especially efficient in nectar transformation step into honey.

Table 5 pH, peroxide, non peroxide and osmolarity Contribution in antimicrobial activity of Ziziphus and Euphorbia honeys.

Relative inhibition [%]	Total AMA	Non peroxide effect	Peroxide effect	Osmolarity	pH 3	pH 7	pH 9	Bactericidal or bacteriostatic effect
<i>S. aureus</i>								
Z.	100 ^b	52.05 ^a	47.95 ^b	18.55 ^a	100 ^c	76.29 ^a	98.70 ^b	bactericidal
E.	94.46 ^a	71.35 ^b	23.11 ^a	76.63 ^b	100 ^c	99.70 ^b	100 ^c	bacteriostatic
<i>P. aeruginosa</i>								
Z.	92.97 ^a	81.75 ^b	11.22 ^a	13.72 ^a	100 ^c	59.28 ^a	97.66 ^c	bactericidal
E.	100 ^b	35.71 ^a	64.29 ^b	51.69 ^b	91.62 ^b	100 ^b	100 ^c	bactericidal
<i>E. coli</i>								
Z.	100 ^a	66.10 ^a	33.90 ^a	17.00 ^a	100 ^c	56.25 ^a	100 ^c	bactericidal
E.	100 ^a	60.08 ^a	39.92 ^a	41.60 ^b	100 ^c	69.20 ^b	100 ^c	bactericidal

a,b,c Different letters mean statistical significant differences (p<0.05) with Duncan test. Z. : ziziphus ; E. : euphorbia (classification by botanical origin)

Although *P. aeruginosa* is the least sensitive strain, but honeys action takes a fundamental importance when we know that more of 50 *P. aeruginosa* strains are incriminated in ear infections, diabetic foot ulcers and infected cutaneous burns, as confirmed by Mullai and Menon (2005), (Mullai and Menon, 2007) in their work on 152 Pseudomonas isolates from hospitalized patients; and Cooper et al. (2002a) in their survey on alternative treatments of the infected burns. Osmolarity effect proves to be important in most cases, for *E. coli* it represents about 29.3% of the total AMA, this last rises to 32.7% for *P. aeruginosa* and 47.6% for *S. aureus*, which is not negligible. The antimicrobial effect appears to be maximal in acidic or basic environment. We notice that Ziziphus honeys show a bactericidal action for all studied strains, but this activity is very sensitive to pH changes, it is maximal mainly in an acidic environment (pH 3). Euphorbia honeys are bactericidal for *E. coli* and *P. aeruginosa* (Gram -) but only bacteriostatic for *S. aureus* (Gram +), its action is divided between peroxides and non-peroxide fractions. The particularity of these honeys is that the osmolarity plays a major role with an average of 56.6% of total AMA, but remains unchanged at different medium pH. It is necessary to signal that strain behaviors are complex, according to a Bulgarian survey (Khrystov and Mladenov, 1961) working on 50% honeys solutions and 12 bacterial species, it was Gram+ strains that are first killed (after 1h exhibition) with a complete bactericidal action between 3 and 24h, whereas Gram - species are more resistant and begin to die after 4 to 6h, with a complete extermination in approximately 48h.

CONCLUSION

The study of the antimicrobial potentialities of both honey types (*Z. lotus* and *E. bupleuroides*) revealed good inhibitory effect on the studied bacterial strains (*E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*) but no antifungal effect tested on *C. albicans*; Leading to weak uses in Candida fungal diseases. Euphorbia honeys presented better performances (dose/effect), but remain especially active thanks to its osmolarity and phenolic acids and show only bacteriostatic effect on *S. aureus* (Gram positive). Ziziphus honeys show total bactericidal effect at pH 3 especially against G- strains. A big heterogeneity was observed within the same honey group, indicating that the antimicrobial effect of a honey is tributary of an important number of factors (visited flora, pedoclimatic conditions, harvest year, etc.). Finally, we can affirm today that these special honeys present interesting possibilities for use in soft medicine against these bacterial infections and can advantageously be used in some human pathologies.

Acknowledgments: The authors thank the staff of CRD-SAIDAL, the fraud repression laboratory (Al Harrach), the pedagogic laboratories of department of food technology (DTA) and the all the staff of food research laboratory (LRTA). This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

ABOUL ELA, M. A., EL SHER, N. S., GHANEM, N. B. 1996. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential fixed oils. *Pharmazie*, 51(12), 993-994

AL KHALIFA, A. S., AL ARIFY, I. A. 1999. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honey. *Food chemistry*, 67, 21-25. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00096-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00096-5)

AL SOMAL, N., COLEY, K. E., MOLAN, P. C., HANCOCK, B. M. 1994. Susceptibility of Helicobacter pylori to the antibacterial activity of manuka honey. *Journal of the Royal Society of Medicine* 87, 9-12

BABA AISSA, F. 1999. *Les plantes médicinales en Algérie*, Alger, Bouchène et Addiwan.

BOGDANOV, S. 1984. Characterisation of antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 17, 74-76

BOGDANOV, S. 1997a. Harmonized methods of the international honey commission. *Apidologie*, special issue, 25

BOGDANOV, S. 1997b. Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *LWT - Food Science and Technology*, 30, 748-753

BOGDANOV, S., BLUMER, P. 2001. Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue suisse de recherches apicoles*, 98(3), 107-114

BOGDANOV, S., JURENDIC, T., SIEBER, R., GALLMANN, P. 2008. Honey for nutrition and health: a review. *J Am Coll Nutr*, 27, 677-89. <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>

BRADY, N. F., MOLAN, P. C., HARFOOT, C. G. 1997. The sensivity of dermatophytes to the antimicrobial activity of Manuka honey and other honey. *Pharm. Sci*, 2, 1-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.1996.tb00540.x>

BRASSON, N. J., GOBLER, S. R. 2008. Antimicrobial activity of two South African Honeys produced from indigenous Leucospermum Cordifolium and Erica species on selected microorganisms. *BMC Complement Altern. Med.*, 15, 8-41. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-8-41>

CHAKIR, A., ROMANE, A., MARCAZZAN, G. L., FERRAZZI, P. 2011. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.10.013>

COOPER, R. 2001. How do honey heal wounds. In: JONES, P. M. A. R. (ed.) *Honey and healing*. Cardiff, UK: International bee research association.

COOPER, R. A., MOLAN, P. C., HARDING, K. G. 2002a. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J Appl Microbiol*, 93, 857-63. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01761.x>

COOPER, R. A., MOLAN, P. C., HARDING, K. G. 2002b. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *Journal of Applied Microbiology* 93, 857-863. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01761.x>

DUSTMAN, J. H. 1979. Antibacterial effect of honey. *Apiacta* 14(1), 7-11

ESCRICHE, I., KADAR, M., JUAN-BORRAS, M., DOMENECH, E. 2014. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chem*, 142, 135-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.033>

HADERBACHE, L., BOUSDIRA, M., MOHAMMEDI, A. 2013. Ziziphus Lotus and Euphorbia bupleuroides Algerian Honeys. *World Applied Sciences Journal* 1536-1543. <http://dx.doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.24.11.7525>

HALAWANI, M., SHOHAYEB, M. 2011. Shaoka and sidr honeys surpass in their antibacterial activity local and imported honeys available in Saudi markets against pathogenic and food spoilage bacteria. *Australian journal of basic and applied sciences*, 5 (4), 187-191

JAGANATHAN, S. K. 2011. Can flavonoids from honey alter multidrug resistance? *Med Hypotheses*, 76, 535-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2010.12.011>

JE-RUEI, L., YI-LING, Y., TING-YU, L., YUN-WEN, W., CHI-CHUNG, P. 2013. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, 139, 938-943. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.015>

KHOSVARI, A., HOJJATOLLAH, S., FARZAD, K. 2008. Fungicidal potential of different Iranian honeys against some pathogenic Candida species. *Journal of apicultural research and bee world*, 47 (4), 256-260. <https://dx.doi.org/10.1080/00218839.2008.11101471>

KHRISTOV, G., MLADENOV, S. 1961. Propriétés antibactériennes du miel. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des sciences*, 14(3), 303-306

- KUMAR, A., GILLA, J. P. S., BEDIA, J. S., MANAVB, M., ANSARIC, M. J. and WALIAD, G. S. 2018. Sensorial and physicochemical analysis of Indian honeys for assessment of quality and floral origins. *Food Research International*, 108, 571-583. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.005>
- LECLERC, H., IZAERD, D., HUDDON, M., WALTER, P., JAKUBE, E. 1993. Préparation des suspensions microbiennes. In: DUNOD (ed.) *Microbiologie générale*. Paris.
- LIN, S. M., MOLAN, P. C., CURSONS, R. T. 2009. The in vivo susceptibility of campylobacter Spp. To the antibacterial effect of manuka honey. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 28, 339-344. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-008-0630-3>
- MAJTAN, J., BOHOVA, J., GARCIA-VILLALBA, R., TOMAS-BARBERAN, F. A., MADAKOVA, Z., MAJTAN, T., MAJTAN, V., KLAUDINY, J. 2013. Fir honeydew honey flavonoids inhibit TNF-alpha-induced MMP-9 expression in human keratinocytes: a new action of honey in wound healing. *Arch Dermatol Res*, 305, 619-27. <http://dx.doi.org/10.1007/s00403-013-1385-y>
- MARGHITAS, L. A. L., DEZMIREAN, D., ADELA, M., OTILIA, B., LASLO, L., BOGDANOV, S. 2009. Physic-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112, 863-867. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.055>
- MEDA, A., LAMIEN, C. E., ROMITO, M., MILLOGO, J., NACOULMA, O. G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91, 571-577. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- MEENA, M. R., SETHI, V. 1994. Antimicrobial activity of essential oils from spices. *Journal of food science and technology*, 31, 68-70
- MEKIOUS, S., HOUMANI, Z., BRUNEAU, É., MASSEAU, C., GUILLET, A., HANCE, T. 2015. Caractérisation des miels produits dans la région steppe de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 19(3) , 221-231
- MOLAN, P. C. 1992a. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(1), 5-28.
- MOLAN, P. C. 1992b. The antibacterial activity of honey. 2. Variation of the potency of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(2), 59-76
- MONRUZZAMAN, M., SULAIMAN, S. A., AZLAN, S. A., GAN, S. H. 2013. Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. *Molecules*, 18, 14694-710. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules181214694>
- MULLAI, V., MENON, T. 2005. Antibacterial activity of honey against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian journal of pharmacology*, 37(6), 403-405. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7613.19082>
- MULLAI, V., MENON, T. 2007. Bactericidal activity of different types of honey against clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Altern Complement Med*, 13, 439-41. <http://dx.doi.org/10.1089/acm.2007.6366>
- MUNDO, M. A., PADILLA-ZAKOUR, O. L., WOROBO, R. W. 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.025>
- PATEL, R. V., THAKER, V. T., PATEL, V. K. 2011. Antimicrobial activity of ginger and honey on isolates of extracted carious teeth during orthodontic treatment. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S58-S61. [https://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60124-X](https://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60124-X)
- QUEZEL, P., MÉDAIL, F. 2003. Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Collection environnement. Paris: Lavoisier.
- REVATHY, V., BANERJI, S. A. 1980. A preliminary study of antibacterial properties of indian honey. *Indian journal of biochemistry and biophysics*, 17 (supplement n° 242), 62
- SALOMON, D. 2010. Le miel : de Noé aux soins de plaies. *Rev. Med. Suisse*, 6, 871-874
- VON DER OHE, W., PERSANO ODDO, L., PIANA, M. L., MORLOT, M., MARTIN, P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, S 18-S 25. <https://dx.doi.org/10.1051/apido:2004050>
- WILLIX, D. J., MOLAN, P. C., HARFOOT, C. G. 1992. A comparison of the sensitivity of wound infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 388-394. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb04993.x>
- ZAGHLOUL, A. A., EL-SHATTAWY, H. H., KASSEM, A. A., IBRAHIM, E. A., REDDY, I. K., KHAN, M. A. 2001. Honey, a prospective antibiotic: extraction, formulation, and stability. *Pharmazie*, 56, 643-7
- ZAHOR, M., NAZ, S., SANGEEN, M. 2014. Antibacterial, antifungal and antioxidant activities of honey collected from Timergara (Dir, Pakistan). *Pak J Pharm Sci*, 27, 45-50
- ZERROUK, S., SEJO, M. C., ESCUREDO, O., RODRÍGUEZ-FLORES, M. S. 2017. Characterization of *Ziziphus lotus* (jujube) honey produced in Algeria. *Journal of Apicultural Research*, 57, 166-174. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2017.1399663>

RESUME

Notre contribution à la caractérisation des miels algériens révèle que le consommateur algérien préfère les miels liquides et foncés, emballés dans du verre, mais sa consommation est plus à des fins thérapeutiques que nutritionnelles. En parallèle le marché lui offre des miels de plus de 13 pays qui pour la plupart ne sont pas bon pour la consommation à cause de leur HMF. Les 82 échantillons étudiés de miel algérien (20 wilaya) se sont avéré de meilleure qualité globalement. Les caractéristiques physico-chimiques ainsi que les spectres polliniques ont montré la prévalence de l'influence de l'origine florale dans la classification; La chimiométrie s'est avéré un outil intéressant pour la discrimination entre les miels, il nous a permis de dégager deux familles particulières, à savoir les miels de jujubier et ceux d'euphorbe qui peuvent être labellisés grâce à leurs particularités et leurs propriétés anti-microbiennes.

Mots clés : Miel, Algérie, Caractérisation, Discrimination, physico-chimie, pollinique, activité anti-microbienne.

ABSTRACT

Our contribution to the characterization of Algerian honeys reveals that the Algerian consumer prefers liquid and dark honeys, packaged in glass, but its consumption is more focused on therapeutic purposes than for nutritional ones. At the same time, the market offers him honeys from more than 13 countries, most of which are not good for consumption because of their HMF. The 82 studied Algerian honey samples (20 wilaya) proved to be of better quality overall. The physicochemical characteristics as well as the pollen spectra showed the prevalence of the influence of floral origin in the classification; Chemometrics turned out to be an interesting tool for discriminating between honeys, it allowed us to identify two particular families, namely jujube honeys and spurge honeys which can be labeled thanks to their particularities and their anti- microbial benefits.

Keywords: Honey, Algeria, Characterization, Discrimination, physico-chemistry, pollen, anti-microbial activity.

ملخص

تكشف مساهمتنا في توصيف العسل الجزائري أن المستهلك الجزائري يفضل العسل السائل والداكن المعبأ في الزجاج ، لكن استهلاكه يركز أكثر على الإستعمال العلاجي منه علي الغذائي. في الوقت نفسه، يقدم له السوق عسلاً من أكثر من 13 دولة، معظمها غير صالح للاستهلاك بسبب HMF. أثبتت عينات العسل الجزائرية المدروسة و عددها 82 (20 ولاية) أنها أفضل جودة بشكل عام. حيث أظهرت الخصائص الفيزيائية والكيميائية وكذلك أطيف حبوب اللقاح كبر تأثير أصل الأزهار في التصنيف ؛ تبين أن القياسات الكيمومترية هي أداة مثيرة للاهتمام للتمييز بين العسل ، فقد سمحت لنا بتحديد عائلتين مهمتين ، وهما عسل السدر وعسل اللبينة التي يمكن تصنيفهما بفضل خصائصهما وفوائدهما المضادة للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: العسل ، الجزائر ، التوصيف ، التمييز ، الكيمياء الفيزيائية ، حبوب اللقاح ، النشاط المضاد للميكروبات.