



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique*
جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي
Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED
كلية العلوم الطبيعية والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

*En vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Biodiversité et Environnement*

THEME

VALORISATION DE QUELQUES PRODUITS NATURALIS RECOLTES DANS LA REGION DE BLIDA

Présenté par les étudiantes:

- GHEDEIR AHMED Houda
- SEGUENI AL Kaima

Devant le jury composé de :

Promotrice : Dr. BEN AMOR Safia Ecole Supérieure d'Agriculture Saharienne d'El Oued

Co-Promotrice : Dr. MEKHADMI Nour Elhouda Université d'El Oued

Présidente : Dr. ALAYAT Moufida Saoucen Université d'El Oued

Examinatrice : Dr. MOUANE Aicha Université d'El Oued

Soutenu le :06/06/2024

Année universitaire :2023/2024

RESUME

VALORISATION DE QUELQUES PRODUITS NATURELS RECOLTES DANS LA REGION DE BLIDA

L'apiculture ; en Algérie a connu ces dernières années un grand essor. En effet, elle est actuellement considérée comme filière à part entière.

Les analyses physicochimiques montrent que l'échantillon du miel étudié est d'une bonne qualité et correspondent aux normes internationales. La couleur du miel est foncée.

La teneur totale en phénols et la teneur en flavonoïdes varient considérablement entre les différents échantillons étudiés. Les niveaux d'antioxydants des échantillons testés varient entre 130.83 ± 1.293 à 35.83 ± 1.293 mg EAG/100 g pour les polyphénols totaux et allant de 61.33 ± 0.91 mg EQ/100 g à 18.166 ± 0.42 mg EQ/100g pour les flavonoïdes. Le pouvoir antioxydant par le test de DPPH est comprise entre 3.24 ± 0.08 à 12.08 ± 0.2 mg/mL, et de 0.967 ± 0.003 à 9.45 ± 0.005 mg/mL pour le test β . Carotène ; dont le meilleur pouvoir antioxydant a été enregistré chez l'échantillon du miel et le pollen et la propolis. L'étude de l'activité anti-inflammatoire montre des bons résultats chez tous les produits testés.

Les données de l'activité antibactérienne montrent une sensibilité assez importante de la souche *Staphylococcus aureus* Contre tous les échantillons testés.

Mots clés : Miel, Pollen, Propolis, Caractéristiques physicochimiques, Activité antioxydante, Activité anti-inflammatoire, Activité antibactérienne.

ABSTRACT

VALORIZATION OF SOME NATURAL PRODUCTS HARVESTED IN THE BLIDA REGION

Beekeeping; in Algeria, has enjoyed a boom in recent years. In fact, it is now considered a sector in its own right.

Physicochemical analyses show that the honey sample studied is of good quality and meets international standards. The color of the honey is dark.

Total phenol content and flavonoid content varied considerably between the different samples studied. Antioxidant levels in the samples tested ranged from 130.83 ± 1.293 to 35.83 ± 1.293 mg EAG/100g for total polyphenols, and from 61.33 ± 0.91 mg EQ/100g to 18.166 ± 0.42 mg EQ/100g for flavonoids. The antioxidant power of the DPPH test ranged from 3.24 ± 0.08 to 12.08 ± 0.2 mg/mL, and from 0.967 ± 0.003 to 9.45 ± 0.005 mg/mL for the β test. Carotene; the best antioxidant power was recorded in the honey, the pollen and propolis sample. The study of anti-inflammatory activity showed good results in all the products tested.

Antibacterial activity data showed a fairly high sensitivity of the *Staphylococcus aureus* strain against all the samples tested.

Key words: Honey, Pollen, Propolis, Physicochemical characteristics, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Antibacterial activity

ملخص

تثمين بعض المنتوجات الطبيعية المحصودة بمنطقة البلدية

شهدت تربية النحل في الجزائر قفزة كبيرة في السنوات الأخيرة. في الواقع، يعتبر الآن قطاعاً قائماً بذاته. أظهرت التحاليل الفيزيائية والكيميائية أن عينة العسل التي تمت دراستها ذات نوعية جيدة ومطابقة للمعايير الدولية. لون العسل داكن اللون.

وتباين المحتوى الكلي للفينول ومحتوى الفلافونويد بشكل كبير بين العينات المختلفة التي خضعت للدراسة. وتراوحت مستويات مضادات الأكسدة في العينات المختبرة من 1.293 ± 130.83 إلى 1.293 ± 35.83 ملغم من الفينول/ 100 ملغم بالنسبة للبوليفينول الكلي ومن 0.91 ± 61.33 ملغم من المعادل/ 100 غ إلى 0.42 ± 18.166 ملغم من المعادل/ 100 غ بالنسبة للفلافونويد. وتراوحت قوة مضادات الأكسدة في اختبار DPPH من 0.08 ± 3.24 إلى 0.2 ± 12.08 ملغم/مل، ومن 0.967 ± 0.003 إلى 0.005 ± 9.45 ملغم/مل لاختبار بيتا. كاروتين؛ تم تسجيل أفضل قوة مضادة للأكسدة في عينة العسل وحبوب اللقاح والعكبر. أظهرت دراسة النشاط المضاد للالتهابات نتائج جيدة في جميع المنتجات التي تم اختبارها.

أظهرت البيانات المتعلقة بالنشاط المضاد للبكتيريا حساسية عالية إلى حد ما لسلسلة *Staphylococcus aureus*

ضد جميع العينات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: العسل، وحبوب اللقاح، والعكبر، والخصائص الفيزيائية الكيميائية، والنشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المضاد للالتهابات، والنشاط المضاد للبكتيريا.

REMERCIEMENTS

Ce travail de mémoire a été réalisé au Laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à EL Oued. D'autres parties des travaux ont été réalisées au niveau de l'hôpital du cancer à El Oued.

Les objectifs fixés par cette étude ont été atteints grâce à l'aide et l'encouragement de nombreux collaborateurs dont les mots ne suffisent pas pour les remercier.

*Nos vifs remerciements s'adressent à ma directrice de mémoire Mme **BEN AMOR Safia** pour tout le temps qu'elle a consacré à notre travail et pour nous avoir fait confiance tout au long de ce parcours. Madame, vos conseils et orientations nous ont permis de mener à bien cette passionnante étude à vos côtés. Nous voudrions que vous acceptiez nos remerciements les plus sincères que nous voudrions formuler à votre endroit.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche , au professeur qui **ALAYAT MOUFIDA Saoucen** nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury , ainsi qu'au professeur **MOUANE Aicha** pour avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions .*

Nous remercions également :

*On a le plaisir de remercier également tout le staff de l'hôpital **REZGHI Bachir** du cancer par leur aide.*

*On désire aussi remercier les professeurs et le cadre administratif et les ingénieurs de laboratoires y compris **SANA** (responsable des laboratoires) **Bouchra, Salma, Omar, Afaf, Mouna, Sultane**, et **Latifa** de l'université Echahid Hamma Lakhadar El oued, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.*

On tient à remercier vivement toutes les personnes qui ont participé au succès de notre stage et qui nous ont apportée lors de la rédaction de ce mémoire.

Enfin, on remercie tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Sommaire

LISTE DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
ملخص	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION GENERALE	1

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre.I. Généralité sur l’abeille	3
1. Apis mellifera.....	3
2.Intérêt économique et écologique	3
2.1. Pollinisation des plantes et des cultures	3
2.2. Les produits de la ruche	4
2.2.1. Le pollen	4
2.2.2. La gelée royale	4
2.2.3. La propolis	5
2.2.4. La cire	6
2.2.5. Le venin	6
2.2.6. Le miel	7
Chapitre II : Les produits de la ruche testés	8
1.Définition	8
1.1. Miel	8

1.2. Le pollen	8
1.3. La propolis	8
2. Composition chimique	9
2.1. Le miel	9
2.2. Le pollen	10
2.3. La propolis	10
3. Propriétés physico-chimiques	11
3.1. Acidité et pH	11
3.2. Teneur en eau	11
3.3. Conductivité électrique	11
3.4. Pouvoir rotatoire	11
3.5. Viscosité	11
3.6. Densité.....	12
3.7. Hygroscopicité.....	12
4. Les activités biologiques des produits testés	12
4.1. Activité antioxydante	12
4.1.1. Le miel	12
4.1.2. Le pollen	13
4.1.3. La propolis	13
4.2. Activité anti-inflammatoire	13
4.2.1. Le miel	14
4.2.2. Le pollen	14
4.2.3. La propolis	15
4.3. Activité antimicrobienne	15
4.3.1. Le miel	16
4.3.2. Le pollen	16
4.3.3. La propolis	17

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

1.Objectif du travail	18
2. Matériels utilisés	18
2.1. Matériel biologique	18
2.2.1. Les échantillons testés	18
2.2.2. Les souches bactériennes	18
2.3. Matériel non biologique	19
3. Méthodes	19
Chapitre 1. Les analyses physico-chimiques	19
3.1.1. Le pH	19
3.1.2. Le taux de cendre	19
3.1.3. La Teneur en eau	20
3.1.4. La conductivité électrique	20
3.1.5. Détermination de la couleur	21
Chapitre Partie 2 : Dosage des antioxydants	21
3.2.1. Dosage des polyphénols totaux	21
3.2.1.1. Le miel	22
3.2.1.2. Le pollen	22
3.2.1.3. La propolis	23
3.2.2. Dosage des flavonoïdes	23
3.2.2.1. Le miel	23
3.2.2.2. Le pollen	23
3.2.2.3. La propolis	24
Chapitre 3 : Les activités biologiques	24
3.3.1. Activité antioxydante	24
3.3.1.1. Test de DPPH	24
3.3.1.2. β .carotène	24
3.3.2. Activité anti-inflammatoire in vitro	25

3.3.3. Activité antibactérienne	26
4. Analyses statistiques	27

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre I. Analyse physico-chimique	28
1.1. Teneur en eau	28
1.2. pH	29
1.3. Conductivité électrique	29
1.4. Taux de cendre	29
1.5. Intensité de la couleur	30
Chapitre II. Dosage des antioxydants	30
2.1. Teneur en polyphénols	30
2.2. Teneur en flavonoïdes	31
Chapitre III : Propriétés biologiques	33
3.1. Activité antioxydante	33
3.1.1. DPPH	33
3.1.2. β . carotène	34
3.1.3. Corrélation entre la teneur des antioxydants et leurs activités biologiques.....	35
3.2. Activité anti-inflammatoire	36
3.3. Activité antibactérienne	37
CONCLUSION	40

TABLEAU DES FIGURES

Figure	Titre	page
Figure II.1	Photo des produits testés ; propolis, pollen et miel	18
Figure III.1	Teneur en polyphénols des produits testés	31
Figure III.2	Teneur en flavonoïdes des produits testés	32
Figure III.3	Valeurs de IC50 des produits testés en comparant avec l'acide ascorbique	34
Figure III.4	Valeurs de IC50 de test b. carotene des produits testés	35
Figure III.5	EC50 de l'activité anti-inflammatoire des produits testés	37
Figure III.6	Activité antibactérienne des produits testés contre S.aureus	38
Figure III.7	Activité antibactérienne des produits testés contre B.subtilus	39
Figure III.8	Activité antibactérienne des produits testés contre E.coli	39
Figure III.9	Activité antibactérienne des produits testés contre S.aureus	39

TABLEAU DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau II.1	Echelle (mm Pfund) établie par l'USDA, pour la détermination de la couleur	21
Tableau III.1	Résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon du miel testé	28
Tableau.III.2	Matrice des corrélations entre les antioxydants et les échantillons étudiés	36

LISTE DES ABREVIATIONS

°C	Degré Celsius
DPPH	1,1- diphényl-2-picrylhydrazyle
IHC	International Honey Commission
MgCl₂	Chlorure de magnésium
mS /cm	Millisiemens /centimètre
mL	Millilitre
pH	Potentiel Hydrogène
ppm	Partie par million
UE	Union Européenne
UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultra Violé
µg	Microgramme
HMF	Hydroxyméthylfurfural
ATCC	American Type Culture Collection
TCA	Acide trichloracétique

Introduction

Apis mellifera est considérée comme l'un des pollinisateurs économiques les plus importants des cultures à travers le monde. Elle doit être protégée par la pollinisation des grandes plantes qui nécessitent une pollinisation obligatoire pour être fécondées (Ben Amor et *al.* 2022). De plus, sa valeur réside dans sa capacité à collecter du pollen et de la propolis, ainsi que à fabriquer de la gelée royale, de la cire et du miel (Mekious et *al.* 2015).

Plus de 180 substances sont présentes dans le miel, le pollen et la propolis, telles que les acides aminés, les enzymes, les protéines, les vitamines, les minéraux, les cendres, les acides organiques et les composés phénoliques (Boussaid et *al.* 2018; Mayda et *al.* 2020). La composition de cette composition dépend de la source florale utilisée par les abeilles, de la période de récolte et des conditions géo-climatiques des régions intéressées (Bucekova et *al.* 2018).

Le miel est une source naturelle de sucre simple, qui est facilement assimilable. Cela assure la satisfaction des besoins énergétiques de l'organisme dans les conditions idéales. Il est donc inclus dans le régime alimentaire des bébés, des jeunes enfants en pleine croissance, tout comme il est conseillé pour les athlètes et les personnes âgées (Ouchemoukh et *al.* 2010).

De nos jours, avec l'émergence des médecines naturelles, les produits de l'abeille semblent gagner en popularité en raison de l'image qu'ils véhiculent comme un produit sain, diététique et curatif. Plusieurs études ont été menées sur l'utilisation des produits de la ruche, tels que le miel, le pollen et la propolis, dans le domaine médical. Ces derniers temps, ils ont été identifiés pour leur rôle dans le traitement des brûlures, des problèmes gastro-intestinaux, des plaies infectées et chroniques, des ulcères de la peau et des maladies oculaires (Miguel et *al.* 2007; Anand et *al.* 2019).

Grâce à leurs multiples composés actifs (peroxyde d'hydrogène, lysozyme, pH, acides phénoliques, flavonoïdes, etc.), ces produits de la ruche présentent différentes propriétés biologiques, dont les plus significatives sont l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique, gastro-hépatoprotectrice (Meda et *al.* 2005; Anand et *al.* 2019).

L'apiculture est une activité écologique, bénéfique pour développer l'économie locale dans les régions où l'eau est rare et pour faciliter les services de pollinisation dans des

écosystèmes très prisés (la phrase est ambiguë, est-ce qu'il serait possible d'ajouter un complément pour la clarifier). Comme dans beaucoup d'autres régions du monde, en Algérie, les individus privilégient l'apiculture locale et les consommateurs choisissent d'acheter leur produit directement auprès des apiculteurs, en leur accordant leur confiance quant à la qualité et à l'origine botanique du miel (Ben Amor et *al.* 2022).

Dans ce sens, nous nous sommes assignés différents objectifs dans cette étude.

i) Le premier objectif a concerné la caractérisation de notre échantillon du miel polyfloral récolté dans la région de Blida ; nord d'Algérie y compris la teneur en eau, le pH, la conductivité électrique, le taux de cendre et l'intensité de la couleur

ii) Le deuxième objectif est l'extraction des composés phénoliques des échantillons de pollen et de la propolis, et les analyser quantitativement par les techniques standards

iii) Enfin le troisième objectif s'est focalisé sur la valorisation des échantillons testés en évaluant leurs propriétés biologiques ; activité antioxydante, anti-inflammatoire, et antibactérienne contre des souches pathogènes. D'autre part, une étude de corrélation a été établie entre les antioxydants et leurs activité antioxydante.

Cette mémoire de fin d'étude est présentée sous forme de chapitres. Elle est composée d'une introduction générale suivie par trois chapitres et terminée par une conclusion générale.

Le premier chapitre est consacré à la revue bibliographique qui comporte deux parties afin d'avoir une vue générale sur le monde d'abeille mellifère et leurs importances, dans la deuxième partie une synthèse des travaux effectués sur les trois produits étudiés, leurs classifications, compositions et des propriétés physicochimiques, biologiques et palynologiques.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude expérimentale qui comporte les objectifs de notre projet de thèse, une présentation générale des sites d'étude et traite du matériel et des méthodes utilisés lors de cette étude, et le troisième présente les résultats et leur discussion en rapport avec des données bibliographiques en Algérie et à travers le monde.

Chapitre.I. Généralité sur l'abeille

1. *Apis mellifera*

Apis mellifera, une espèce de pollinisateurs, est répandue à travers le monde et joue un rôle essentiel dans les écosystèmes terrestres. Cet insecte social appartenant à la famille des Apidés habite des colonies où le travail est divisé et spécialisé, et où il peut y avoir jusqu'à 50 000 individus. Avec d'autres pollinisateurs, l'abeille participerait à plus de 80% des services de pollinisation de l'agriculture mondiale (Carreck et Williams 1998; Breeze et *al.* 2011). Elle joue un rôle crucial dans la pollinisation pour l'agriculture : en 2005, un tiers de la nourriture consommée dans le monde était dépendante de cette activité (Breeze et *al.* 2011; Techer et *al.* 2017). La présence d'abeilles dans les cultures fruitières permettrait d'améliorer les rendements par rapport à la pollinisation par le vent, qui est beaucoup moins efficace (Klatt et *al.* 2014).

L'abeille mellifère, également appelée abeille « domestique », est utilisée par l'homme dans le domaine de l'apiculture depuis environ 7000 ans (Crane 1990; Techer 2015). L'abeille mellifère est également très intéressante pour l'homme car elle peut produire du miel, de la gelée royale, de la cire, ainsi que récolter du pollen et de la propolis, le miel est produit par deux espèces d'abeilles utilisées par l'homme dans des ruches modernes à cadres mobiles : l'abeille domestique *Apis mellifera* et l'abeille orientale *Apis cerana* (Crane 1999).

2.Intérêt économique et écologique

2.1. Pollinisation des plantes et des cultures

Les abeilles, et plus largement les insectes pollinisateurs, jouent un rôle écologique important en assurant la reproduction des plantes entomophiles et en préservant leur diversité. (Ashman et *al.* 2004).

La pollinisation des plantes par l'abeille joue un rôle économique crucial car 35% de la production agricole repose sur les pollinisateurs, ce qui entraîne une augmentation des rendements agricoles (Klein et *al.* 2007). Les premières études de l'Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2009 montrent que la pollinisation génère un chiffre d'affaires d'environ deux milliards d'euros, soit dix fois plus que la production apicole. Il y aurait donc un

impact important sur l'alimentation humaine, car 74% de la production mondiale de lipides provient de plantes pollinisées et 98% des vitamines solubles proviennent de fruits et de plantes pollinisées. (Eilers et *al.* 2011).

2.2. Les produits de la ruche

L'activité de la ruche ne se limite pas à la production de miel. D'autres produits extrêmement captivants sont proposés par elle, tels que la cire, le pollen, la propolis, la gelée royale et même le venin des exploitantes (Aymé 2014).

2.2.1. Le pollen

La seule source naturelle de matière azotée de la ruche est le pollen. Le gamète mâle des végétaux à fleurs est responsable de la fécondation des ovules présents dans les ovaires de la plante. Contrairement aux cellules, un grain de pollen est constitué de deux noyaux : un noyau végétatif et un noyau reproducteur. Le pollen est constitué de petites graines contenues dans les anthères des étamines (Chefrour et *al.* 2009).

Les abeilles collectent le pollen pendant pratiquement toute l'année [45]. Une partie de la récolte des abeilles (environ 10%) est perdue et tombe dans un terroir où l'apiculteur la récupère. Le pollen est conservé dans les alvéoles de la ruche, tout comme le miel, et il ne subit pas de transformations, bien qu'il soit souvent mélangé au miel dans les mêmes alvéoles pour former ce que l'on appelle le pain d'abeille (Goût et Jardel 1998).

On le considère comme un aliment naturel à base d'énergie et de composants fonctionnels pour la consommation humaine (Silva et *al.* 2009). Il possède de nombreuses propriétés thérapeutiques, telles qu'un antimicrobien (Morais et *al.* 2011) un antifongique, un antioxydant (Aličić et *al.* 2014), un hépatoprotecteur, des activités chimioprotecteurs et/ou chimiopréventives et des propriétés anti-inflammatoires (Pascoal et *al.* 2014).

2.2.2. La gelée royale

L'aspect de la gelée royale est gélatineux, blanchâtre, acide, produit par les jeunes abeilles nourricières. De l'éclosion jusqu'au stade nymphale, ces abeilles produisent et distribuent la gelée

royale dans la ruche (Jean-Prost, Médori, et Le Conte 2005). La gelée royale est produite par des glandes spécifiques situées à droite et à gauche de la tête (Daniele et Casabianca 2012).

Il y a peu de études scientifiques qui ont démontré les avantages de la gelée royale pour la santé humaine. Les effets physiologiques et pharmacologiques ont été observés chez les mammifères lors de quelques expérimentations *in vitro* et *in vivo*, tels que les activités vasodilatatrices, hypotensives, antihypercholestérolémiques et anti-inflammatoires (Fujii 1995; Daniele et Casabianca 2012). On a montré que la gelée royale a un effet positif sur la production d'oestrogènes chez les femmes ménopausées (Suzuki et *al.* 2008). Son action sur les ostéoblastes favorise également l'amélioration du métabolisme osseux en régulant positivement l'expression génétique du procollagène de type I. Dans cette situation, elle peut servir de complément alimentaire comme une nouvelle option pour prévenir l'ostéoporose (Kushima 1973; Narita et *al.* 2006).

2.2.3. La propolis

Propolis est un mot grec qui signifie « devant la ville » (Ravazzi, Breffort, et Vielfaure 2003). La propolis est une substance résineuse dérivée des bourgeons et des exsudats des arbres et des plantes par les abeilles mellifères. Par la suite, on mélange cette substance avec du pollen et des enzymes produites par les abeilles (Lu, Chen, et Chou 2005).

La propolis varie de couleur en fonction de la source florale et de l'âge de la colonie. Sa couleur peut varier entre verte, rouge ou brune foncée (Marcucci 1995; SFORCIN et *al.* 2001). Elle joue un rôle polyvalent dans la ruche en tant que matériau de construction, d'entretien et de défense. (Burdock 1998).

La propolis possède de nombreuses propriétés biologiques et pharmacologiques qui ont fait l'objet d'une étude approfondie dans des expériences cellulaires et animales, ce qui en fait un médicament de la ruche (Münstedt et Bogdanov 2009) . La Propolis possède une activité antibiotique puissante. La présence de molécules aromatiques et de flavonoïdes lui confère une action bactériostatique, bactéricide, fongicide et antivirale (Cedikova et *al.* 2014). La propolis est employée en tant que cicatrisant et anesthésiant local, dans le traitement des rhumes et des maux

de gorge, ainsi qu'en dentisterie (application locale d'aphtes, prévention des caries et des gingivites...).

Depuis une dizaine d'années, les scientifiques se sont penchés sur l'étude de la propolis et de son impact sur le cancer. L'acide caféique, l'acide caféique phénéthyl ester (CAPE), l'acide 3,5-diprénilylique-4-hydroxycinnamique (artepillin C), et d'autres composants de la propolis sont souvent évoqués dans la littérature comme des substances antitumorales et des agents immunomodulateurs (Watanabe et *al.* 2011; Chan, Cheung, et Sze 2013).

2.2.4. La cire

La cire est le gras produit par les glandes cirières des ouvrières jeunes. Elle est constituée de 71% d'esters, 40% d'acides libres, 12% de surs, 3% d'eau et de divers autres éléments. (Kameda et Tamada 2009).

Sa résistance à l'hydrolyse et à l'oxydation naturelle est remarquable et elle est complètement insoluble dans l'eau. Elle ne peut pas être détruite par les acides et les sucs digestifs des animaux (Muller et Hepburn 1994).

La cire est largement utilisée dans le domaine de la cosmétologie, car elle purifie l'épiderme, le nourrit et le lisse. Spécialisée dans le traitement des brûlures, crevasses, plaies et vergetures, elle possède des propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires, ce qui favorise le transit intestinal. On l'utilise également dans les rhumatismales en tant qu'emplâtre et en dentisterie pour les empreintes et les moulages dentaires. Son utilisation est extrêmement bénéfique pour la création de suppositoires et confère une apparence lisse et brillante à certains comprimés (Fournier 2009).

2.2.5. Le venin

C'est un produit mineur de la ruche. En effet, il faut environ 10 000 abeilles pour récolter 1 gramme de venin (Bradbear 2010). Il est produit au niveau de la glande acide de l'appareil vulnérant (Perumal Samy et *al.* 2006). La glande alcaline ou glande de Dufour jouerait un rôle dans la production de venin (Jean-Prost et *al.* 2005). Pour rappel, les faux-bourdons ne sont pas munis de dard.

Le venin d'abeille est majoritairement constitué d'eau (85% environ). Il contient de nombreux autres composés dont certains sont volatils (phéromone d'alarme). Une piqûre d'abeille entraîne en général une atteinte locale : douleur, démangeaison, œdème local, et peut être à l'origine d'une toxicité générale, quelques heures à quelques mois après la piqûre. C'est donc une substance potentiellement dangereuse, notamment en cas de réaction allergique. Il est aussi utilisé dans le traitement des rhumatismes, des arthrites et pour la désensibilisation des personnes allergiques aux piqûres d'abeilles, il possède aussi une action antitumorale et antimicrobienne (Perumal Samy et *al.* 2006).

2.2.6. Le miel

Le miel tel qu'il est défini par le Codex Alimentarius (Codex Alimentarius 2001) est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes, ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes, ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs. Ces substances naturelles sucrées sont butinées par les abeilles mellifères puis transformées en les combinant avec des matières spécifiques propres. Elles sont ensuite déposées déshydratées, entreposées puis laissées mûrir dans les rayons de la ruche (Buba 2013). Le mot « miel » ne peut être utilisé pour désigner des produits obtenus en nourrissant les abeilles avec du sucre industriel, pas plus qu'on ne peut en faire usage pour désigner des produits sucrés provenant d'insectes autres que l'abeille mellifère (Marchenay 1988; Blanc 2010).

Les miels produits par des espèces proches de l'abeille domestique telles qu'*Apis cerana* et *Apis dorsata*, ou encore par les abeilles mélipones ou par les bourdons, seront obligatoirement identifiés autrement, leur composition en sucres étant très différente (Joshi et *al.* 2000).

Le miel est donc un produit 100% naturel. L'homme n'intervient absolument pas dans sa fabrication. Le travail de l'apiculteur consiste à fournir aux abeilles des conditions favorables, puis à récolter le miel, à s'assurer qu'il soit de bonne qualité et qu'il se conserve correctement (Lequet 2010).

Chapitre II : Les produits de la ruche testés

1.Définition

1.1. Miel

Les abeilles produisent du miel, une substance sucrée et visqueuse, à partir du nectar des fleurs. Le nectar des fleurs est collecté par les abeilles avec la langue et conservé dans l'estomac. Après avoir atteint l'estomac, le nectar est converti en miel par les enzymes des abeilles. Le miel est ensuite conservé dans des rayons de cire par les abeilles afin de nourrir la colonie tout au long de l'année. Le glucose et le fructose constituent la majeure partie du miel, avec de petites quantités d'autres sucres, de vitamines, de minéraux et d'antioxydants. Le miel est épais et a une saveur sucrée qui diffère selon les fleurs à partir desquelles le nectar a été prélevé. L'édulcorant naturel du miel est fréquemment employé dans les aliments et les boissons, ainsi qu'à des fins médicales. (Codex Alimentarius, 2001).

1.2. Le pollen

Le pollen est une poudre fine produite par les étamines, les organes reproducteurs mâles des fleurs. Il renferme les gènes mâles des plantes et sert à la pollinisation, le transfert du pollen des étamines vers le pistil des fleurs afin de féconder les ovules et de produire des graines. Les insectes, le vent, les oiseaux et les animaux transportent le pollen, qui est indispensable à la reproduction des plantes à fleurs. Le pollen est aussi un aliment pour de nombreux animaux, tels que les abeilles, les papillons et les oiseaux. (Feás et *al.*, 2012).

1.3. La propolis

Les abeilles extraient la propolis à partir de différentes sources botaniques, comme les bourgeons, l'écorce et les feuilles de certains arbres. La propolis est employée par les abeilles afin de réparer les fissures dans leur ruche, de préserver la colonie des infections et des prédateurs, et de momifier les cadavres d'insectes étrangers à la ruche (Przybyłek and Karpiński, 2019).

Depuis des siècles, la propolis est employée dans les médecines traditionnelles afin de soigner diverses affections, comme les infections, les blessures et les problèmes de peau. On la retrouve aussi dans des produits de soins personnels, des compléments alimentaires et des produits de santé naturels (Ghisalberti, 1979).

2. Composition chimique

2.1. Le miel

Le miel est un produit complexe et riche en nutriments, dont la composition varie en fonction de plusieurs facteurs. Ce résumé se concentrera sur les principaux composants du miel, en soulignant leurs sources et leurs propriétés importantes.

Le miel est principalement composé de sucres (fructose et glucose), représentant environ 80% de sa matière sèche. Ils proviennent du nectar des fleurs et contribuent à la douceur, à la viscosité et à la conservation du miel.

La teneur en eau du miel est généralement inférieure à 20% et influence sa texture et sa conservation.

Le miel contient des protéines en faible quantité, principalement sous forme d'acides aminés libres et de peptides. Elles proviennent du nectar et des sécrétions des abeilles et jouent un rôle dans le goût et l'activité antimicrobienne du miel.

Le miel contient une variété de minéraux, tels que le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium et le zinc, qui proviennent des sources florales et du sol.

Le miel contient des vitamines du groupe B et de la vitamine C en petites quantités, provenant du nectar et du pollen.

Le miel contient environ 20 acides organiques, dont l'acide gluconique est le plus abondant. Ils contribuent à l'acidité du miel, à sa saveur et à son activité antimicrobienne.

Le miel contient plusieurs enzymes importantes, telles que l'invertase, l'amylase et la glucose oxydase, qui proviennent du nectar et des sécrétions des abeilles. Ces enzymes jouent un rôle crucial dans la maturation du miel, sa texture et ses propriétés antimicrobiennes.

Le miel contient des acides aminés libres et des peptides en très faible quantité, provenant du nectar et des sécrétions des abeilles. Ils contribuent au goût et à l'activité antimicrobienne du miel.

Le miel est riche en composés phénoliques, tels que les flavonoïdes (chrysine, apigénine, etc.), qui lui confèrent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

L'arôme du miel provient de la fraction volatile et dépend de la source florale et de la composition du nectar.

Le 5-hydroxyméthylfurfural (HMF) est un composé présent en petites quantités dans le miel et résulte de la dégradation du fructose. Il peut être utilisé comme indicateur de la qualité du miel.

Lipides, glycérol, grains de pollen, levures, etc.: Le miel contient également des traces de lipides, de glycérol, de grains de pollen, de levures, de grains d'amidon, de spores de champignons et d'algues.

Le miel est une substance complexe et riche en composés naturels qui lui confèrent des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles importantes. Sa composition variée contribue à son goût unique, à sa texture et à ses nombreux bienfaits pour la santé.

2.2. Le pollen

Les plantes à fleurs produisent du pollen, un mélange complexe de molécules organiques et inorganiques, telles que des protéines, des lipides, des glucides, des vitamines, des minéraux, des pigments et des antioxydants. Le pollen peut présenter une composition chimique très variable selon l'espèce de plante, la région géographique, les conditions météorologiques et les méthodes agricoles.

Le pollen renferme généralement des protéines de qualité supérieure, dont certaines sont des enzymes, des acides aminés essentiels, des acides gras insaturés, des glucides (fructose et glucose), des vitamines B, des minéraux (calcium, potassium, magnésium, fer et zinc), des pigments (chlorophylle, xanthophylle, caroténoïde), des antioxydants (flavonoïdes et phénols). (Bogdanov, 2011).

2.3. La propolis

Les abeilles fabriquent la propolis à partir de la résine des arbres et des plantes. Elle peut être composée de différentes substances chimiques selon la source de la résine et la région géographique où les abeilles ont collecté la résine. Or, la propolis est généralement constituée de : Résines : 50 %, Cires : 30 %, Huiles essentielles : 10 %, Pollen : 5 %, Diverses matières organiques : 5 % (Ristivojević et *al.*, 2015)

Les composés bioactifs présents dans la propolis comprennent des flavonoïdes, des acides phénoliques, des terpènes et des alcools. La majorité des propriétés positives de la propolis sont attribuables à ces composés, comme ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes (Sahinler and Kaftanoglu, 2005).

3. Propriétés physico-chimiques

3.1. Acidité et pH

Le pH du miel se situe entre 3,2 et 5,5. Il influence la texture, la stabilité, la saveur, les propriétés antibactériennes et antioxydantes du miel.

L'acidité provient des ions inorganiques, des acides organiques et des sécrétions salivaires des abeilles. La teneur maximale en acides est de 40 milliéquivalents/kg.

3.2. Teneur en eau

Elle conditionne la conservation, la maturité, la fermentation et la cristallisation du miel. Un miel avec moins de 18% d'eau a un faible risque de fermentation.

La norme du Codex Alimentarius et de l'UE fixe une teneur en eau maximale de 21%. Une teneur en eau élevée favorise la fermentation.

3.3. Conductivité électrique

Elle permet de différencier les miels floraux des miels de miellat. Plus la conductivité est élevée, plus la concentration en sels minéraux, acides organiques et protéines est importante.

3.4. Pouvoir rotatoire

Il permet de distinguer les miels de nectar (lévogyres) des miels de miellat (dextrogyres).

3.5. Viscosité

Elle varie avec la température, la teneur en eau et la composition chimique.

Certains miels cristallisent partiellement, modifiant leur aspect sans affecter leur composition.

Tous les miels sont fluides à 35°C.

Certains miels sont thixotropes (devenus liquides à l'agitation, ils retrouvent leur viscosité au repos).

3.6. Densité

Elle varie de 1,39 à 1,44 selon la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau, moins il est dense.

3.7. Hygroscopicité

Le miel absorbe l'humidité de l'air. Un miel avec 18% d'eau peut atteindre 55% d'hygrométrie en trois mois, augmentant son poids de 84%.

Il ne faut pas le dessécher dans une atmosphère trop sèche car une pellicule dure se forme à la surface.

4. Les activités biologiques des produits testés

4.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés produits par l'organisme, qu'ils soient endogènes ou exogènes, qui neutralisent ou diminuent les dégâts causés par les radicaux libres, qui sont à l'origine de nombreuses maladies comme le cancer, la cataracte, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les divers processus inflammatoires. Les antioxydants sont fabriqués par le corps et sont également présents dans de nombreux aliments. Les antioxydants contribuent à assurer la durabilité de nos aliments, leur couleur, leur saveur et leurs qualités comestibles (Meda *et al.* 2005).

4.1.1. Le miel

Les antioxydants, en particulier les acides phénoliques, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les enzymes (la catalase et la peroxydase), les peptides, les caroténoïdes, les acides organiques et les produits de la réaction du maillard, sont présents dans le miel. Les substances phénoliques présentes dans le miel jouent un rôle important dans sa capacité antioxydante. Il est possible que les différences dans le pouvoir antioxydant du miel soient en partie attribuables à la nature qualitative et quantitative des polyphénols présents (Paramás *et al.* 2006). Cette activité est variable d'un miel à un autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants (Heim, Tagliaferro, et Bobilya 2002; Beretta *et al.* 2005).

4.1.2. Le pollen

Les antioxydants présents dans le pollen comprennent des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les anthocyanes. Ces antioxydants assurent la protection des cellules contre les dégâts causés par les radicaux libres, des molécules instables générées lors de processus métaboliques habituels dans le corps et susceptibles d'endommager les cellules présentes. (Saraï et *al.*, 2019).

De nombreuses recherches ont montré que le pollen d'abeille possédait une activité antioxydante puissante et une capacité à préserver les lipides contre l'oxydation grâce à sa forte teneur en flavonoïdes.

Toutefois, il convient de souligner que l'efficacité antioxydante du pollen peut différer selon divers facteurs, tels que l'origine végétale, le moment de la récolte, le traitement après la récolte, etc. Ainsi, les conclusions des diverses recherches peuvent différer en fonction de ces éléments (Aylanc et *al.*, 2021).

4.1.3. La propolis

La propolis renferme des flavonoïdes qui ont des propriétés antioxydantes, en neutralisant les radicaux libres et en prévenant les dommages causés par l'oxydation. Il a également été démontré que la propolis a la capacité d'accroître les niveaux d'enzymes antioxydantes dans le corps, ce qui renforce les défenses antioxydantes de l'organisme. La propolis possède des qualités particulières et une composition variée qui la rendent plus efficace contre les micro-organismes, augmentent les niveaux d'antioxydants et réduisent l'activité cytotoxique dans les systèmes biologiques. Il a été rapporté que la propolis contient plus d'antioxydants que le miel (Shehata et *al.* 2020).

4.2. Activité anti-inflammatoire

Les flavonoïdes sont les principaux responsables de l'inflammation. Effectivement, cela peut être expliqué par le fait que les flavonoïdes ont la capacité d'inhiber l'activité des protéines kinases. En même temps, on constatera une stimulation des macrophages. Quelques substances aromatiques et phénoliques, comme l'acide caféique ou l'acide férulique, ont des effets analgésiques/anti-inflammatoires, antioxydants et régénérateurs cellulaires (Cuvillier, 2015).

4.2.1. Le miel

La réponse anti-inflammatoire du miel est observée (Subrahmanyam, 1998). Selon les études, il a démontré une diminution de l'inflammation lorsqu'il est utilisé dans des cultures de cellules (Candiracci et *al.*, 2012), des modèles animaux (Leong et *al.*, 2012 ; Bilsel et *al.*, 2002) et des essais cliniques (Subrahmanyam, 1998 ; Al-Waili et Boni 2003). D'après Viuda-Martos et *al.* (2008), l'activité anti-inflammatoire est en partie due aux composés phénoliques présents dans le miel. En utilisant ces composés phénoliques ou flavonoïdes, le mécanisme consiste à éliminer les activités pro-inflammatoires de la COX-2 et/ou de l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) (Cho et *al.*, 2004).

Les propriétés anti-inflammatoires du miel jouent un rôle thérapeutique important. Une inflammation excessive et prolongée peut devenir nocive et empêcher la guérison, en particulier avec la production de radicaux libres dans les tissus (Al-Waili et *al.* 2011; B Benhanifia et *al.* 2011; Subrahmanyam 1998).

Il est possible que le pollen possède des propriétés anti-inflammatoires, mais il convient de souligner que les résultats ne sont pas concluants et qu'il est nécessaire de mener davantage de recherches pour confirmer ces effets. Selon certaines recherches, certains pollens, comme le pollen de ciste et le pollen de châtaignier, ont la capacité de diminuer l'inflammation dans des situations comme l'arthrite (RzepeckaStojko et *al.*, 2015). Mais d'autres recherches n'ont pas permis de démontrer des effets anti-inflammatoires importants du pollen. Il est important de souligner également que le pollen peut entraîner des réactions allergiques chez certaines personnes. Avant de consommer du pollen ou tout autre complément alimentaire, il est essentiel de prendre rendez-vous avec un professionnel de la santé en cas d'allergies ou de sensibilités alimentaires (Pascoal et *al.*, 2014).

4.2.2. Le pollen

Il est possible que le pollen possède des propriétés anti-inflammatoires, mais il convient de souligner que les résultats ne sont pas concluants et qu'il est nécessaire de mener davantage de recherches pour confirmer ces effets. Selon certaines recherches, certains pollens, comme le pollen de ciste et le pollen de châtaignier, ont la capacité de diminuer l'inflammation dans des situations comme l'arthrite (RzepeckaStojko et *al.*, 2015).

Mais d'autres recherches n'ont pas permis de démontrer des effets anti-inflammatoires importants du pollen. Il est important de souligner également que le pollen peut entraîner des réactions allergiques chez certaines personnes. Avant de consommer du pollen ou tout autre complément alimentaire, il est essentiel de prendre rendez-vous avec un professionnel de la santé en cas d'allergies ou de sensibilités alimentaires (Pascoal et *al.*, 2014).

4.2.3. La propolis

La propolis a été démontré avoir des propriétés anti-inflammatoires en inhibant la synthèse de cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α). La production excessive ou chronique de ces cytokines peut entraîner des dommages tissulaires dans la réponse inflammatoire. En outre, la propolis renferme des flavonoïdes, des acides phénoliques ainsi que d'autres substances qui possèdent des propriétés antioxydantes et antiseptiques. Ces substances ont la capacité de diminuer les dégâts causés par les radicaux libres, qui sont responsables des maladies inflammatoires (De Almeida and Menezes, 2002).

Toutefois, il est important de souligner que les recherches sur l'activité anti-inflammatoire de la propolis ont notamment été réalisées sur des modèles animaux ou *in vitro*, et que les résultats peuvent ne pas être directement applicables à l'homme. En outre, la propolis peut engendrer des réactions allergiques chez certains individus, il est donc essentiel de prendre rendez-vous avec un médecin avant de l'utiliser comme complément alimentaire ou médicament (Calegari et *al.*, 2017).

4.3. Activité antimicrobienne

Ces dernières années, l'utilisation massive et répandue des antibiotiques a engendré une résistance chez les micro-organismes pathogènes à de nombreux médicaments couramment utilisés (Al-Masaudi et *al.* 2020; Sharaf et al. 2021). C'est la raison pour laquelle d'autres produits naturels tels que les extraits de plantes (Zazharskyi et *al.* 2019), les huiles essentielles (Chouhan, Sharma, et Guleria 2017), les produits de la ruche tels que la gelée royale (Chouhan et *al.* 2017; Coutinho, Karibasappa, et Mehta 2018), le pollen (Didaras et al. 2020), la propolis (Bouchelaghem 2021) et le miel de diverses origines floristiques sont largement utilisés (Villacrés-Granda et *al.* 2021).

4.3.1. Le miel

L'activité antibactérienne et antifongique du miel est connue. Grâce à sa grande osmolarité, il prévient la prolifération des bactéries et restaure le tissu cutané pour favoriser une cicatrisation efficace (B Benhanifia et *al.* 2011).

Différentes substances contribuent à l'effet antimicrobien du miel et dépendent de son origine botanique, de la localisation géographique de la source florale, de l'âge et de la santé de la colonie (White et *al.* 1984; Abdulrhman et *al.* 2013). Le miel est protégé contre toute contamination microbienne grâce à ses propriétés antibiotiques. Son acidité, sa pression osmotique élevée et la faible activité de l'eau sont responsables de ces caractéristiques. Toutefois, le principal élément antibactérien du miel demeure le peroxyde d'hydrogène, qui est produit par la glucose-oxydase (Molan 1992; Nzeako et Hamdi 2000; Allen, Molan, et Reid 2011).

4.3.2. Le pollen

Différentes recherches ont été réalisées afin d'évaluer l'efficacité antimicrobienne du pollen, concluant que le pollen de châtaignier présentait une activité antimicrobienne élevée contre les bactéries gram-positives comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* (Bridi et *al.*, 2019).

Le pollen de palmier dattier présentait également une activité antimicrobienne contre les bactéries gram-positives et gram-négatives, ainsi que contre les champignons *Candida albicans* et *Aspergillus niger* (Kacániová et *al.*, 2012).

Néanmoins, il convient de souligner que la qualité et la quantité des substances bioactives présentes dans le pollen peuvent différer selon la source et la saison de récolte. En outre, les micro-organismes peuvent également être plus ou moins sensibles aux propriétés antimicrobiennes du pollen, activité antioxydante du pollen (Gercek et *al.*, 2022).

L'activité antimicrobienne de la propolis est due à la présence de divers composés actifs tels que des flavonoïdes, des acides phénoliques et des esters aromatiques. On a démontré que ces composés ont la capacité d'inhiber la prolifération de bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* (Bouchelaghem, 2022), *Escherichia coli* (Rzepecka-Stojko et *al.*, 2015),

Salmonella typhi (Orsi et *al.*, 2006), ainsi que certains champignons comme *Candida albicans* (SFORCIN et *al.*, 2001).

4.3.3. La propolis

L'activité antimicrobienne de la propolis a été principalement étudiée *in vitro*, c'est-à-dire en laboratoire et dans des conditions contrôlées. L'efficacité de la propolis dans la prévention et le traitement des infections dans des conditions réelles nécessite des études *in vivo*, c'est-à-dire sur des animaux ou des humains (Pobiega et *al.*, 2019).

1.Objectif du travail

Les laboratoires pédagogiques de la faculté de Sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar de El Oued ont été utilisés pour notre étude, qui vise principalement à promouvoir le secteur apicole en Algérie.

Trois produits récoltés de la même ruche dans la wilaya de Blida ; Miel, Pollen et Propolis ont été étudiés en analysant leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs teneurs en antioxydants afin de valoriser la corrélation de ces paramètres avec les propriétés biologiques y compris l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et l'étude de l'effet antibactérien contre des souches pathogènes.

2. Matériels utilisés

2.1. Matériel biologique

2.2.1. Les échantillons testés

Les trois produits ; le miel M de type polyfloral, un échantillon de la propolis Pr, et un échantillon du pollen Pn (figure II.1) ont été récoltés d'une même ruche de l'abeille mellifère *Apis mellifera* dans la région de Blida.

Les échantillons ont été collectés à la fin du mois de juin 2023, et tous les échantillons ont été conservés à 4 °C jusqu'à l'analyse.



Figure II.1. Photo des produits testés ; propolis, pollen et miel (Originale, 2024)

2.2.2. Les souches bactériennes

Toutes les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont de référence American Type Culture Collection (ATCC). Au total, quatre bactéries pathogènes ont été testées dont quatre bactéries à Gram-positifs (*Bacillus subtilis* ATCC 10845, *Staphylococcus aureus* ATCC 65403, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Enterococcus faecalis* ATCC 42532). Toutes les souches ont été cultivées sur Gélose nutritif (GN) à 37°C pendant 24h avant tout test antibactérien.

2.3. Matériel non biologique

Les équipements et les produits chimiques utilisés dans ce travail ont été mentionnés dans l'annexe 1.

3. Méthodes

Chapitre 1. Les analyses physico-chimiques

3.1.1. Le pH

Le potentiel hydrogène d'une solution de divers produits est mesuré en utilisant un pH mètre. La même solution préalablement préparée a été employée afin de mesurer le pH. La mesure a été réalisée une fois que la valeur du pH s'est stabilisée, sur la solution à une température de 20°C.

5g de miel/pollen/propolis sont pesés et dissous dans de l'eau distillée. Ensuite, on verse la solution dans une fiole jaugée de 50ml et on les complète jusqu'au niveau déterminé par la jauge. La solution de miel, de pollen ou de propolis est versée dans un bécher propre. On mesure le pH en plongeant l'électrode du pH-mètre dans la solution de miel à une température de 20 °C.

3.1.2. Le taux de cendre

La quantité de cendres du miel / pollen / propolis fait référence au résidu qui est issu de l'incinération du miel afin d'obtenir tous les cations (dont l'ammonium) sous forme de carbonates et d'autres sels minéraux anhydres, et qui est exprimée en pourcentage de poids.

Placer les creusets vides dans l'incinérateur à une température de 625 °C pendant quelques minutes, puis dans un dessiccateur jusqu'à ce qu'ils refroidissent complètement. Cuire à

l'incinérateur pendant 40 minutes à une température de 625°C jusqu'à ce que les cendres soient formées.

La calcination sera maintenue tant que la différence entre deux pesées successives effectuées à 30 minutes d'intervalle ne dépasse pas 1mg.

Peser une fois refroidi dans un dessiccateur pendant une durée de 20 minutes (Annexe).

$$Teneur\ en\ cendres\ (g/(100\ g\ de\ produit)) = M2 - M1 / M0 * 100$$

3.1.3. La Teneur en eau

La teneur d'humidité est un indicateur de qualité qui nous informe de la stabilité du produit de la ruche face à la fermentation et à la cristallisation. L'indice de réfraction du miel liquéfié a été utilisé pour évaluer la teneur en eau, conformément à la méthode harmonisée par la Commission internationale du miel.

Une goutte de miel a été appliquée avec une spatule sur la platine du prisme du réfractomètre et répartie en une fine couche. On a mesuré la réfraction à une température de 20°C. Il est nécessaire de corriger la lecture afin de réduire l'indice de réfraction à zéro. Si la mesure est réalisée à une autre température, il est nécessaire de corriger la lecture. Si la mesure est effectuée au-delà de 20°C, la correction est additive, tandis que dans le cas contraire, elle est soustractive, avec un coefficient de correction de 0,00023 par degré Celsius. Les résultats obtenus ont été convertis en pourcentage d'eau selon le tableau de Chataway.

3.1.4. La conductivité électrique

Les mesures de conductivité électrique sont réalisées à une température de 20°C dans une solution aqueuse à 20% (m/v) par rapport à la matière sèche du miel.

Remplir un bécher de 50ml avec 10g de produit, puis le dissoudre avec un peu d'eau distillée.

Transférer le produit dans une fiole de 50 ml et ajouter de l'eau distillée jusqu'au niveau de jauge. Par la suite, la solution est déplacée vers un autre bécher placé dans un bain marié à une

température de 20°C. Avant de réaliser la mesure, il est nécessaire de rincer la cellule du conductimètre avec de l'eau distillée. Une fois qu'on a atteint la température souhaitée, on plonge la cellule du conductimètre dans le bécher afin de mesurer la conductivité électrique.

La lecture est effectuée immédiatement après que la cellule du conductimètre ait été immergée dans la solution. On exprime le résultat en milli siemens par centimètre (mS/cm).

3.1.5. Détermination de la couleur

La couleur du miel a été obtenue en chauffant une solution de 50% à 50 degrés jusqu'à ce que les sucres soient totalement dissous. On a mesuré l'absorbance à 635 nm et on a classé les valeurs d'absorbance en fonction de l'échelle de Pfund (White et *al.* 1984).

Tableau II.1: Echelle (mm Pfund) établie par l'USDA, pour la détermination de la couleur

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

Chapitre 2 : Dosage des antioxydants

3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour évaluer les niveaux de composés phénoliques totaux, avec quelques ajustements. Il s'agit d'une technique spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune, qui créent un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue (Pontis et *al.* 2014).

3.2.1.1. Le miel

Un gramme de miel avec 10 ml d'eau distillée, puis on a filtré le mélange avec un papier Watman n°1. On a mélangé 0,5 ml de la solution obtenue (0.1g/1ml) avec 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (0.2 N) et on a incubé pendant 5 minutes à une température de 22°C.

Par la suite, on a ajouté 2 ml de carbonate de sodium à une teneur en sodium de 75 g/l (Na_2CO_3) au mélange. Le spectrophotomètre à 760 nm a été utilisé pour mesurer l'absorbance après une incubation à température ambiante pendant 2 heures dans l'obscurité.

En utilisant l'équation de la droite de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0- 200 mg/l), on peut mesurer la quantité totale de polyphénols présents dans le miel en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 grammes de miel (mg GAE/ 100 g) (Meda et *al.* 2005).

3.2.1.2. Le pollen

Dans un premier temps, on a extrait les composés phénoliques en suivant le protocole suivant : 1g de pollen, le verser dans un tube à vis et ajouter 10ml d'éthanol. Après avoir fermé le tube, agiter intensément et le placer dans un bain à ultrasons pendant une durée de 30 minutes et le centrifuger à 14000 tr/min et filtrer à l'aide d'un papier filtre. Gardez au frais jusqu'à l'analyse (Mayda et *al.* 2020).

Mise en place de 0,5 ml de la solution à doser dans un tube en verre. Ajouter 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au dixième et 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 4% m/m. Mixer au vortex et laisser incubé pendant 2 heures dans le noir à

température ambiante. L'absorbance à 740nm est à lire. On réalise une gamme étalon de 5 points en utilisant une solution mère d'acide gallique à 1mg/ml (25mg d'acide gallique dans 25ml d'eau) (Magalhães et *al.* 2010).

3.2.1.3. La propolis

En mélangeant 5g de poudre de propolis avec 100 ml de méthanol (70%), on a procédé à l'extraction du polyphénol en agitation continue pendant trois jours.

Pendant dix minutes, la solution a été centrifugée à une vitesse de 3000 tours. Le surnageant a été filtré à l'aide d'un papier filtre, puis le filtrat a été évaporé à l'aide d'un rotavapor sous vide à une température de 40°C. Le mélange méthanolique de la propolis a été stocké à une température de -4°C dans l'obscurité jusqu'à la date d'utilisation (Choudhari et *al.* 2012).

On mélange 125 µl d'extrait dilué (en fonction du solvant et de l'organe) avec 500 µl d'eau distillée et 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Une fois que le mélange a été agité vigoureusement et reposé pendant 3 minutes, on ajoute 1250 µl de CO₃(Na) 2 à 7 %.

Après une période de repos de 90 minutes dans l'obscurité, on réalise la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 760 nm. L'acide gallique est utilisé dans la préparation de la gamme étalon à des concentrations différentes allant de 10, 20, 30, 60, 130, 250 µg/ml. On exprime les concentrations en polyphénols en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/mg MS) (Choudhari et *al.* 2012).

3.2.2. Dosage des flavonoïdes

3.2.2.1. Le miel

On a ajouté 5 ml de la solution de miel (0,01g/1ml) à une solution de chlorure d'aluminium à 2% diluée dans le méthanol. Le mélange a été stérilisé à température ambiante pendant une durée de 30 minutes. On évalue l'absorbance à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS de renom. En utilisant la courbe d'étalonnage linéaire de quercétine (0-50 mg/l), on a mesuré la concentration des flavonoïdes. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine/100 g de miel (Özkök, D'arcy, et Sorkun 2010).

3.2.2.2. Le pollen

1 ml d'extrait mélangé à 1 ml de solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à (2 %). Après une incubation de 30 minutes, on évalue l'absorbance à une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats sont mesurés en mg de quercétine équivalents par échantillon (mg EQ/100g) (Magalhães et al. 2010).

3.2.2.3. La propolis

On insère dans un tube 500 μl d'extrait bien dilué, en ajoutant 2 ml d'eau distillée et 150 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2 , 5%).

Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, on ajoute 150 μl d'une solution de chlorure d'aluminium fraîchement préparée (AlCl_3 , 10%) au mélange. Après 6 minutes de repos, on ajoute 2 ml d'une solution de soude (NaOH , 4%), puis on ajustera le volume final à 5 ml en utilisant de l'eau distillée. La couleur jaune est évaluée à une longueur d'onde de 510 nm après 15 minutes d'incubation.

On exprime alors la quantité totale de flavonoïdes présents dans les extraits en mg d'équivalents de quercétine par milligramme de matière végétale sèche (mg EC/mg MS) (Choudhari et al. 2012).

Chapitre 3 : Les activités biologiques

3.3.1. Activité antioxydante

3.3.1.1. Test de DPPH

On mélange 1 ml de la solution de DPPH méthanolique (0.024mg/ml) avec 1 ml de la solution du produit testé à différentes concentrations. Le mélange obtenu a été agité à l'aide d'un vortex, puis conservé à température ambiante pendant 60 minutes. Puis, on a mesuré l'absorbance à 517 nm contre un blanc qui contient uniquement la solution de DPPH. Les données ont été fournies sous forme de pourcentage d'inhibition du radical DPPH (Ferreira et al. 2009). Le IC_{50} est la concentration de la solution en mg/ml nécessaire pour diminuer de 50% l'activité du DPPH (couleur). De plus, la concentration de l'échantillon requise pour réduire de 50% l'absorbance de la solution contrôle composée de méthanol et de DPPH. Le calcul de cette concentration a été effectué en utilisant une courbe linéaire en comparant avec le standard de l'acide ascorbique.

3.3.1.2. β .carotène

L'essai acide linoléique/ β -carotène, tel que décrit par Rajic et *al.* (Rajić et al. 2010) , a permis de déterminer la capacité anti-péroxydation lipidique. On a préparé une solution de β -carotène et d'acide linoléique de la manière suivante : On a dissous 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme, on a ajouté 25 μ L d'acide linoléique et on a ajouté 200 mg de Tween 40.

Le chloroforme s'est volatilisé. Par la suite, on a ajouté 100 ml d'eau distillée. Par la suite, on a distribué une quantité de 2,5 mL de ce mélange réactionnel dans des tubes à essai, ainsi que 350 μ L d'échantillons préparés à différentes concentrations.

La même procédure a été répétée avec le butylhydroxyanisole (BHA) comme étalon et avec un blanc (sans BHA).

Après incubation des solutions à 50 °C pendant 60 minutes, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm.

L'antioxydant a été exprimé en pourcentage d'inhibition de la dégradation du β -carotène à l'aide de la formule suivante :

$$(\text{Absorbance du produit à T 0} - \text{Absorbance du produit à T60min}) / \text{Absorbance du contrôle à T 0} - \text{Absorbance du contrôle à T60min}) * 100.$$

3.3.2. Activité anti-inflammatoire in vitro

D'après Chandra et ses collègues (Chandra et *al.* 2012), nous avons opté pour la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf avec quelques ajustements afin de tester son effet anti-inflammatoire. Nous avons combiné 0,4 ml d'albumine d'œuf (obtenue à partir d'œufs de poule frais) avec 0,8 ml de PBS (solution saline tamponnée au phosphate, pH6,4) et 2 ml de chaque produit à des concentrations différentes, ainsi qu'un même volume d'eau distillée comme contrôle.

Par la suite, le mélange a été porté à 37 °C pendant 15 minutes et immédiatement placé dans un bain-marie à 70 °C pendant cinq minutes. Une fois refroidi, il a été centrifugé à une vitesse de 3000 rpm durant 10 minutes.

L'absorbance a été mesurée à 660 nm. L'acide acétylsalicylique a été utilisé comme médicament de référence.

L'acide acétylsalicylique a été utilisé comme médicament de référence, et pour calculer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines, nous utilisons la formule suivante

Pour calculer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines, nous utilisons la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = ((\text{Absorbance de contrôle} - \text{Absorbance de solution}) / \text{Absorbance de contrôle}) \times 100$$

3.3.3. Activité antibactérienne

Selon Baydar et *al.* (Baydar, Özkan, et Sağdıç 2004), l'activité antibactérienne des échantillons de miel étudiés est évaluée en utilisant la méthode décrite. On réalise ce test en diffusant des disques stériles dans la gélose nutritive.

En utilisant une anse de platine, on a prélevé quelques colonies de souches cibles, bien séparées, à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 heures sur un milieu gélosé (GN). Ensuite, elles ont été déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un revêtement rotatif. Par la suite, on a standardisé la suspension bactérienne à 0,5 Mc Ferland (EQ105UFC/mL).

Chaque souche a été inoculée avec un volume de 1ml dans les boîtes de pétri coulées de milieu gélosé Muller Hinton avec une épaisseur de 4mm. On récupère l'excès en utilisant une micropipette, puis on laisse sécher les boîtes pendant 15 minutes. Des disques en papier wattman stériles de 5 mm de diamètre seront remplis de 20µl de chaque échantillon, tandis que les disques témoins seront remplis d'eau distillée pour les témoins négatifs.

Les disques sont déposés à la surface d'un milieuensemencé (étalé) par une suspension microbienne ayant une densité optique de 0,5 Mc Ferland en utilisant une pince.

On met les boîtes de Pétri au réfrigérateur à une température de 4 °C pendant trois heures afin de préparer la diffusion. Après une incubation de 18 à 24 heures, on mesurera le diamètre de

chaque zone d'inhibition en mm et on le notera. Il est possible de prendre les mesures en utilisant une règle sur le fond de la boîte sans retirer le couvercle. À mesure que la zone d'inhibition augmente, le germe devient plus vulnérable.

4. Analyses statistiques

Les statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism Version 5.00. Trois répétitions ont été réalisées pour toutes les méthodes et les résultats ont été exprimés par leur moyenne $\pm$ standard déviation (SD). On a réalisé l'analyse statistique en utilisant One-way ANOVA, puis on a utilisé le test de Tukey's pour les comparaisons multiples et pour évaluer les différences significatives entre les groupes ($p < 0,05$) en utilisant le logiciel Graph Pad Prism Version 5.00.

Chapitre I. Analyse physico-chimique

Les résultats globaux des paramètres physicochimiques des miels étudiés sont illustrés dans le tableau III.1

Tableau III.1 : Résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon du miel testé

Paramètre	Teneur en eau	pH	Conductivité électrique	Taux de cendre	Intensité de la couleur
Miel	$18.90 \pm 0.08 \%$	$4.894 \pm 0,09$	$0.269 \pm 0,002$	0.15 ± 0.008	$129,911 \pm 0,84 \text{ mm}$

1.1. Teneur en eau

Selon Lobreau-Callen (Lobreau-Callen 1994), l'eau est le deuxième élément le plus présent dans le miel après le sucre. La couleur, la viscosité, la saveur, la densité et l'indice de réfraction du miel sont influencés par la teneur en eau. Ce paramètre physicochimique est généralement le plus crucial pour étudier la conservation et la stabilité des aliments (Mehryar, Esmaili, et Hassanzadeh 2013).

La teneur en eau de l'échantillon du miel est équivalent de $18.90 \pm 0.08 \%$ (Tableau III.1). La teneur en eau de notre miel est conforme à la norme proposée par le codex alimentaire ce qui conclut que les trois échantillons du miel sont murs ($< 20 \%$) (Codex Alimentarius, 2001). Ce résultat est similaire à ceux rapportés par Ben Amor et al. (Ben Amor et al., 2022) avec des teneurs comprises entre $14.2 \pm 0.002\%$ et $19.8 \pm 0.001\%$ dans les miels produits dans la région sud d'Algérie, et à ceux rapportés par Laredj et Waffa (Laredj et Waffa 2017) avec des teneurs comprises entre 14,4 et 19,7% dans les miels produits dans la région de Tiaret dont le climat est de type semi-aride. Plusieurs études ont également mis en évidence l'influence de l'origine botanique sur la teneur en eau des miels (Doukani et al. 2014).

Elle dépend aussi de la relative humidité de la saison de récolte, du niveau de maturité atteint dans la ruche, des méthodes de traitement et des conditions de stockage (Seijo, Escuredo, et Rodríguez-Flores 2019).

I.2. pH

Le miel est naturellement acide, cependant la fermentation et le vieillissement accroissent également son acidité. Certaines acides présents dans ces miels peuvent provenir du nectar ou du miellat, mais leur principale origine se trouve dans les sécrétions salivaires des abeilles ainsi que dans les processus enzymatiques et fermentaires (Louveaux, Maurizio, et Vorwohl 1978).

Notre résultat indique une valeur de $4.894 \pm 0,09$ (tableau II.1). En effet, d'autres auteurs ont rapporté des valeurs similaires pour les miels algériens et tunisiens, allant de 3,40 à 6,23, respectivement (Makhloufi et *al.* 2010; Boussaid et *al.* 2018; Ghorab et *al.* 2021).

I.3. Conductivité électrique

La concentration en acides organiques, en protéines, en minéraux ou en cendres totales et la salinité sont étroitement liés à la conductivité électrique (CE). Cela varie considérablement en fonction de l'origine florale du miel (Almasi et Sekarappa 2019).

La valeur de la conductivité électrique du miel analysé est $0.269 \pm 0,002$ (tableau II.1). Ce résultat se rapproche des valeurs trouvées par Ouchemoukh et *al.* (Ouchemoukh et *al.* 2010) (0,21 à 0,89 mS/cm). La conductivité électrique permet de différencier le miel de nectar du miel de miellat, et elle est désormais définie comme un indicateur de qualité fiable dans les processus de contrôle de la qualité, en remplaçant la teneur en cendres (Majewska, Drużyńska, et Wołosiaak 2019).

Les valeurs de conductivité électrique doivent être inférieures à 0.8 mS/ cm pour les miels floraux (du nectar), tandis que ceux du miellat doivent être supérieures à 0.8 mS/ cm (Bettar et *al.* 2019)

I.4. Taux de cendre

La teneur en matières minérales des miels est pratiquement faible, elle varie de 0.15 ± 0.008 (tableau III.1). D'après le Codex Alimentarius, la quantité de sels minéraux dans le miel varie de 0,02 à 1,028%, ce qui suggère que nos échantillons respectent ces normes. L'existence d'une corrélation entre la couleur des miels et leur contenu en cendres a été confirmée par plusieurs travaux. À la différence des miels foncés, les miels clairs sont beaucoup moins riches en cendres (White et *al.* 1984).

I.5. Intensité de la couleur

Le miel est d'un jaune pâle à l'ambre, à l'ambre foncé et à l'ambre foncé jusqu'au noir, avec quelques rares tons de vert et de rouge dans les cas graves, ou même simplement le rouge.

Selon l'Indice de Pfund, la valeur obtenue de la couleur de miel étudié $129,911 \pm 0,84$ mm. Ce qui indique que la couleur de notre miel est foncée. Des travaux antérieurs portant sur les miels algériens rapportent que l'intervalle de couleur Pfund est situé dans la gamme comprise entre 18 et 119 mm (Ouchemoukh et *al.* 2010; Rebiai, Lanez, et Chouikh 2015).

La couleur du miel dépend initialement de la source de nectar. En effet, plusieurs études antérieures ont montré que la coloration est une caractéristique physique dépendante de l'origine florale du produit (Mekious et *al.* 2015; Ben Amor et *al.* 2022).

Chapitre II. Dosage des antioxydants

Ces molécules peuvent être divisées en deux groupes, le premier est le groupe des acides phénoliques et les coumarines, le deuxième est celui des flavonoïdes avec les anthocyanes, flavones, flavonones, flavonols. Les structures des polyphénols sont diverses, allant des composés contenant des noyaux phénoliques simples (acides phénoliques) aux polymères complexes comme les tanins (polymères de dizaines d'unités de catéchine et d'épicatéchine). De nombreuses plantes médicinales contiennent des polyphénols qui ont la capacité de réguler l'activité de diverses enzymes et de certains récepteurs cellulaires (Escriche et *al.* 2016).

II.1. Teneur en polyphénols

De nombreuses plantes médicinales contiennent des polyphénols qui ont la capacité de réguler l'activité de diverses enzymes et de certains récepteurs cellulaires (Ben Amor et *al.* 2022).

Le résultat obtenu pour l'échantillon du miel polyfloral indique une teneur en polyphénols totaux est de 130.83 ± 1.293 mg EAG/100 g pour le miel. Les teneurs en polyphénols de notre échantillon est supérieure à celles obtenues sur des échantillons de miels récoltés dans la région de Kabylie (Ghorab et *al.* 2021) qui varient entre 41,8 et 128,3 mg EAG/100 g.

Rebiai et *al.* (Rebiai et *al.* 2015) ; Khalil et *al.* (Khalil et *al.* 2011) et Džugan et *al.* (Džugan et *al.* 2018) ont trouvé des teneurs supérieures à celle obtenue dans notre étude avec des valeurs respectives de $(697,22 \pm 651,53 \pm 42)$ mg EAG/100 g à El Oued ; 166, 97 à 876,58 mg

EAG/100 g dans des miels de Malaisie et 205,41 à 1353,66 mg EAG/100 g dans des miels polonais.

Le miel contient de nombreux flavonoïdes, acides phénoliques, acide ascorbique, catalase, peroxydase et caroténoïdes, ce qui lui confère un niveau élevé d'antioxydants, ce qui en fait un produit médical naturel (Sajid et *al.* 2020).

La teneur des polyphénols du pollen est égale 35.83 ± 1.098 mg EAG/100 g, cette teneur est dans le même contexte de celles enregistrées dans les pollens récoltés en Turquie ; 8.26 ± 0.299 to 43.42 ± 0.779 mg GAE/g (Mayda et *al.* 2020).

L'échantillon de la propolis possède une teneur en polyphénols égale 48.05 ± 0.6 mg EAG/ 100g. Notre échantillon est inférieur à celles trouvées par Shehata et *al.* dans différents pays allant de 210.17 ± 1.00 à 313.672 ± 1.52 (Shehata et *al.* 2020).

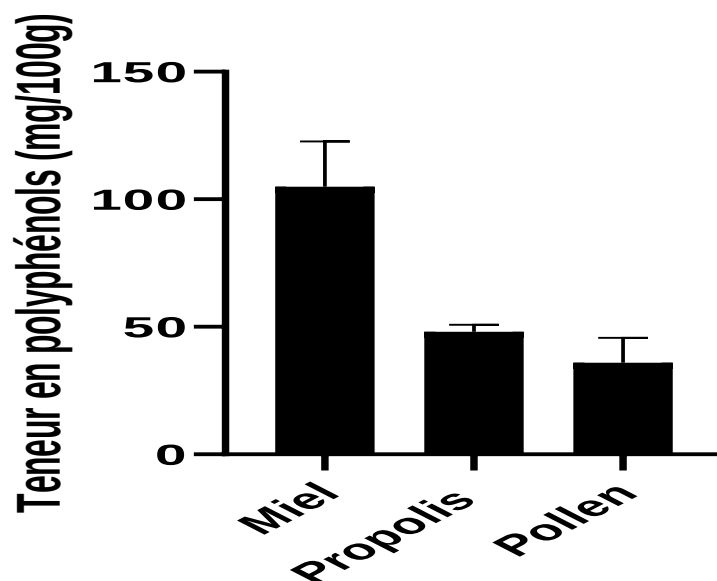


Figure III.1 : Teneur en polyphénols des produits testés

II.2. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés chimiques phénoliques de petite taille qui donnent au miel son odeur et ses vertus antioxydantes. En raison de leur activité pharmacologique élevée, ils

sont considérés comme des piègeurs de radicaux libres, notamment dans les maladies coronariennes et le cancer (Lequet 2010).

La teneur moyenne obtenue en flavonoïdes totaux (Figure III.2), est de 61.33 ± 0.91 mg EQ/100 g. Cette teneur en flavonoïdes du miel est élevée à celles des miels tunisiens (9,58 à 22,45 mg EQ/100 g de miel) (Boussaid et *al.*, 2018), à celles de miels de Kabylie qui varient de 3,2 à 8,7 mg EQ/100 g de miel (Ghorab et *al.*, 2021), ainsi qu'à celles de miels d'Italie (5,09 et 14,05 mg EQ/100 g de miel) (Escuredo and Seijo, 2019).

Cependant, le pollen a une teneur en flavonoïdes égale 18.166 ± 0.42 mg EQ/100g, et une teneur chez la propolis égale 24.44 ± 0.43 mg EQ/100g.

La teneur en flavonoïdes du miel varie selon le type d'abeille, l'origine florale et la localisation géographique (Makawi, Gadkariem, et Ayoub 2009; Noor et *al.* 2014). D'après Meda et *al.* (Meda et *al.* 2005) et Alvarez-Suarez et *al.* (Alvarez-Suarez et *al.* 2010) la couleur intense des miels foncés est en relation avec la teneur en flavonoïdes.

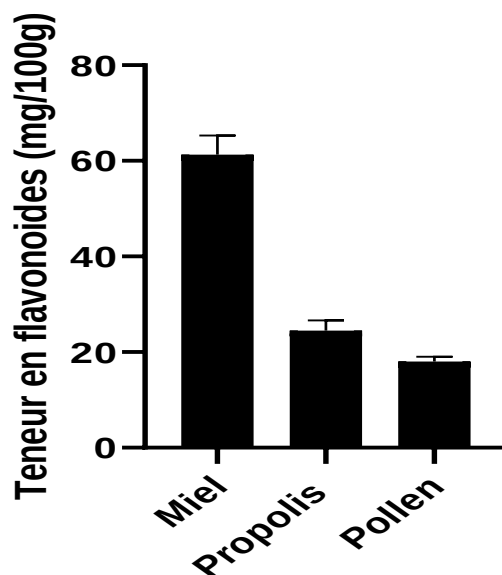


Figure III.2: Teneur en flavonoïdes des produits testés

Chapitre III : Propriétés biologiques**III.1. Activité antioxydante****III.1.1. DPPH**

La capacité d'un composé à résister à l'oxydation est connue sous le nom d'activité antioxydante. Le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) et les composés phénoliques sont les antioxydants les plus connus. Effectivement, la grande majorité des antioxydants fabriqués ou naturels contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures. La capacité de ces composés naturels à capturer les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\bullet$) et les superoxydes ($\text{O}_2\bullet$) est en partie responsable de leurs propriétés antioxydantes (Trautvetter, Koelling-Speer, et Speer 2009).

Dans la présente étude, les valeurs du test DPPH des échantillons testés ; du miel testé est 3.24 ± 0.08 mg/mL (Figure III.3), du pollen est de l'ordre de 12.08 ± 0.2 mg/mL et une valeur de IC_{50} est 6.04 ± 0.09 mg/mL pour la propolis.

Ces valeurs de IC_{50} sont faibles à ceux obtenus par Boussaid et al. (Boussaid et al., 2018), pour différents types du miel récoltés dans la quelque régions tunisiennes (11.08 ± 0.32 à 93.26 ± 0.37 mg/mL), et supérieure à ceux obtenus par Piccinelli et al. (Piccinelli et al. 2013) (0.043 à 0.62 mg/mL) de plusieurs échantillons des propolis récoltés dans quelques régions du nord algérien, et Cette valeur est plus forte que celui trouvé par Mayda et al. (Mayda et al., 2020) avec des valeurs allant de 1.293 ± 0.031 à 3.85 ± 0.030 mg/ mL.

Selon Gül et Pehlivan (2018) (Gül et Pehlivan 2018), on observe une grande disparité dans l'activité antioxydante du produits de la ruche en fonction de divers facteurs tels que la saison et l'environnement, ainsi que de la méthode de traitement utilisée.

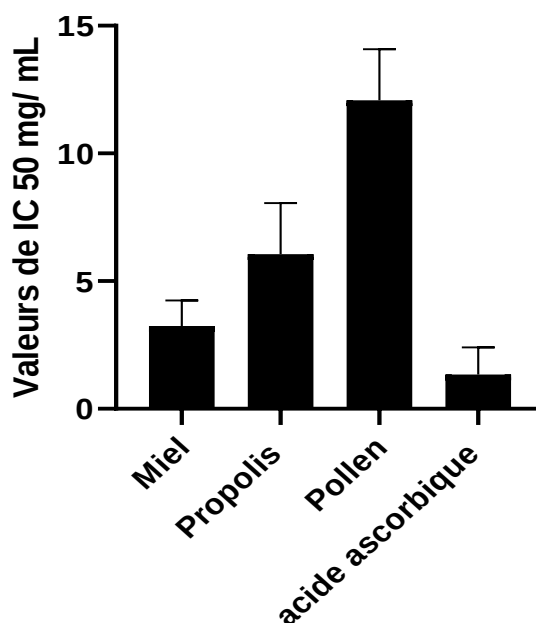


Figure III.3: Valeurs de IC₅₀ des produits testés en comparant avec l'acide ascorbique

III.1.2. β . carotène

De nombreux éléments influencent l'activité antioxydante, tels que la composition du composé phénolique, notamment le niveau et la position du groupe hydroxyle sur le noyau aromatique de la molécule (Can et *al.* 2015).

Les résultats de l'activité antioxydante par le test β . Carotène montrent un taux de IC 50 varie entre 0.967 ± 0.003 et 9.45 ± 0.005 mg/mL, dont la meilleure activité a été enregistrée dans l'échantillon du miel (Figure III.4).

Nos observations se conforme bien avec les résultats de Boussaid et al. (Boussaid et *al.*, 2018) avec un intervalle allant de 1.16 ± 0.02 à 4.72 ± 0.03 mg/mL sur six échantillons du miel produits dans plusieurs régions tunisiennes.

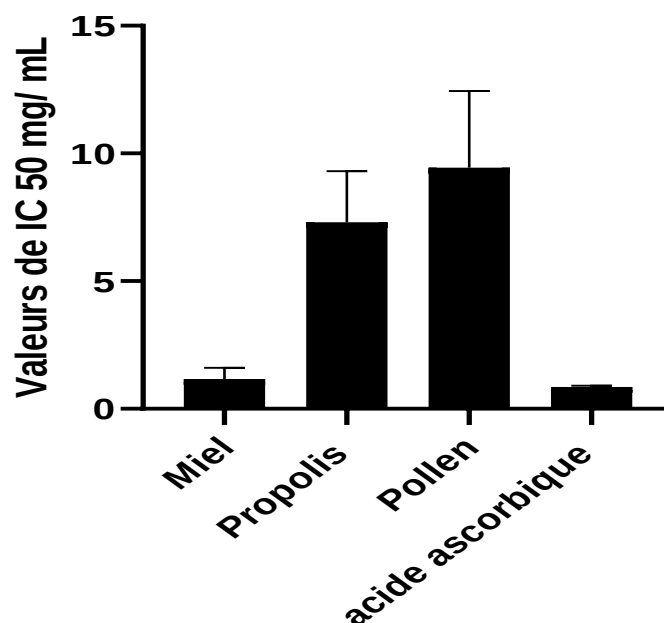


Figure III.4 : Valeurs de IC50 de test b. carotene des produits testés

III.1.3. Corrélation entre la teneur des antioxydants et leurs activités biologiques

Le taux de piégeage des radicaux libres est fortement lié à la teneur en composés phénoliques totaux des miels étudiés (Tableau III.2). Une corrélation négative très élevée a été observée entre les polyphénols et le test DPPH ($r = -0,818$; $p < 0,0001$) et le flavonoïdes et DPPH ($r = -0,827$; $p < 0,0001$). Nos résultats ont été également trouvés par Ben Amor et *al.* (Ben Amor et *al.* 2022), Meda et *al.* (Meda et *al.*, 2005), Boussaid et *al.* (Boussaid et *al.*, 2018) et Homrani et *al.* (Homrani et *al.*, 2020). Gheldof et *al.* (Gheldof et Engeseth 2002) les composés phénoliques jouent un rôle important dans l'activité antioxydante du miel. Cependant, il semble que cette activité soit le résultat de l'interaction entre les composés phénoliques du miel et d'autres molécules.

Dans notre étude, une bonne corrélation positive a été enregistrée entre les tests DPPH et B.carotène ($r = 0,884$; $p < 0,0001$). Beretta et *al.* (Beretta et *al.* 2005) a été observé que les miels

foncés présentent une forte concentration de composés phénoliques totaux, ce qui explique leur capacité antioxydante élevée.

Tableau.III.2 : Matrice des corrélations entre les antioxydants et les échantillons étudiés.

Variables	Polyphénols	Flavonoïdes	DPPH	B.carotène
Polyphénols	1			
Flavonoïdes	0,953	1		
DPPH	-0,818	-0,827	1	
B.carotène	-0,992	-0,994	0,884	1

III.2. Activité anti-inflammatoire

La libération de médiateurs chimiques par les tissus endommagés et par les migrants et les cellules migratrices entraîne l'inflammation. Les médiateurs inflammatoires identifiés sont les amines vasoactives (histamine et sérotonine), les eicosanoïdes (métabolites de l'acide arachidonique, prostaglandines et leucotriènes), les facteurs d'agrégation plaquettaire, les cytokines (interleukines et facteur de nécrose TNF), les kinines (bradykinine) et les radicaux libres d'oxygène, entre autres (Araujo et *al.* 2012).

La dénaturation des protéines se produit lorsque les protéines perdent leurs structures tertiaires et secondaires en raison d'un stress externe, d'un composé comme l'acide fort ou la base, d'une concentration en sel inorganique, d'un solvant organique ou de la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (Ferrerres et *al.* 2018).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire in vitro des échantillons testés montrent des bonnes inhibitions enregistrées chez la propolis avec une concentration inhibitrice égale 3.024 ± 0.008 mg/mL, suivi par le miel avec une IC₅₀ de l'ordre de 5.24 ± 0.04 mg/mL. La faible inhibition a été enregistré chez l'échantillon du pollen avec une IC₅₀ égale 12.06 ± 0.7 mg/mL (Figure III.5).

Les produits fabriqués par l'abeille présentent différentes caractéristiques biologiques, comme des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antioxydantes (El-Seedi et *al.* 2022).

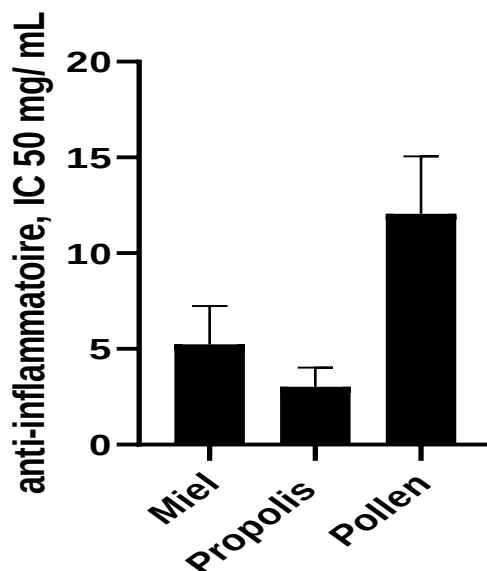


Figure III.5 : EC50 de l'activité anti-inflammatoire des produits testés

III.3. Activité antibactérienne

Les éléments naturels de ces produits possèdent une diversité de propriétés antimicrobiennes qui combattent différentes bactéries, champignons et levures pathogènes et non pathogènes, ainsi que des agents pathogènes et non pathogènes. L'efficacité antibactérienne de ces produits est considérée comme due au pâturage où les abeilles ont été élevées, aux conditions climatiques et à la composition naturelle du nectar des fleurs (Abdulrhman et *al.* 2013; Ben Amor et *al.* 2022).

Les produits de la ruche ont été largement employés dans les domaines de la thérapie moderne et traditionnelle en raison de leurs propriétés pharmacologiques et de leurs avantages pour la santé. En raison de leur efficacité dans de nombreuses pathologies, ils ont été utilisés pour la création d'aliments nutraceutiques et fonctionnels (Vică et *al.* 2021).

Nos résultats montrent que le miel étudié et les échantillons de la propolis et du pollen ont été efficaces contre toutes les souches traitées, toutes les concentrations de ces produits enregistrent un effet antibactérien contre cette espèce ; ce qui nous laisse conclure que cette souche est la plus sensible. Les échantillons H03, Propolis et H01 sont les plus inhibiteurs de *S. aureus* avec des zones d'inhibition allant de 21 mm à 26 mm (Figure III.6,7,8,9).

La forte osmolarité, l'acidité, le peroxyde d'hydrogène, les flavonoïdes et les substances caroténoïdes, l'acide phénolique et gluconique, les acides ascorbiques et d'autres substances phytochimiques non peroxydées présentes dans ces produits sont responsables de leur activité antibactérienne (Mohapatra, Thakur, et Brar 2011; Roshan et *al.* 2017).

Les différences dans la flore mellifère, le traitement de la ruche, la composition du sol et les conditions climatiques de la zone où les échantillons de miel ont été collectés peuvent expliquer cette variation de l'activité entre les souches (Price et Morgan 2006).

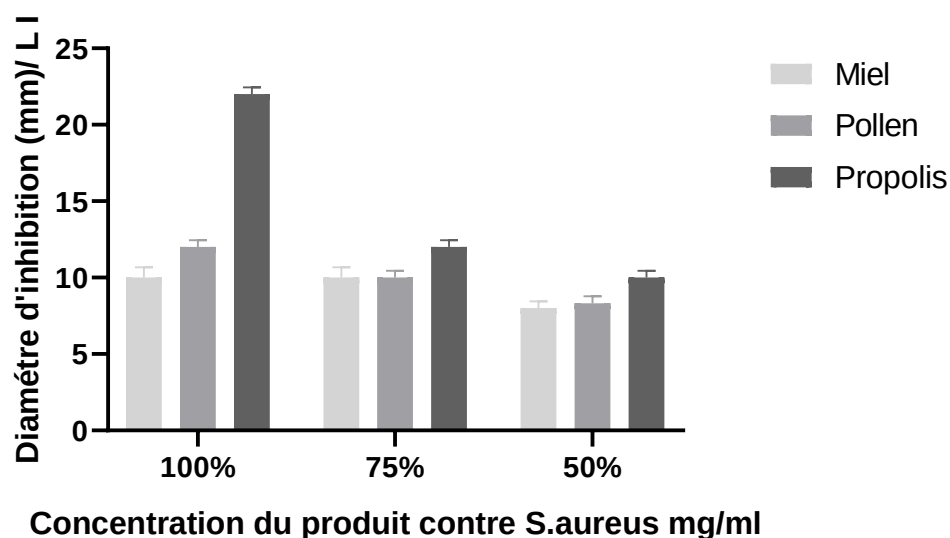


Figure III.6 : Activité antibactérienne des produits testés contre *S.aureus*

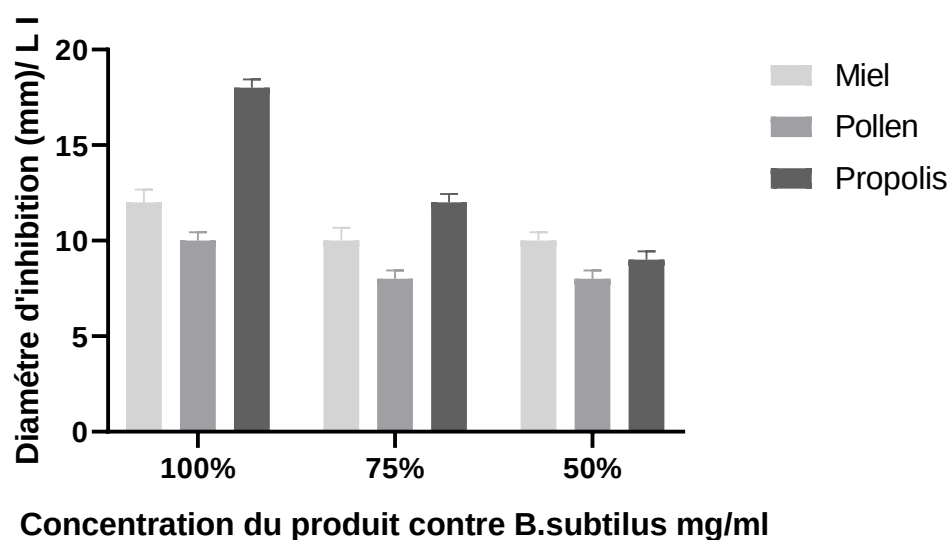
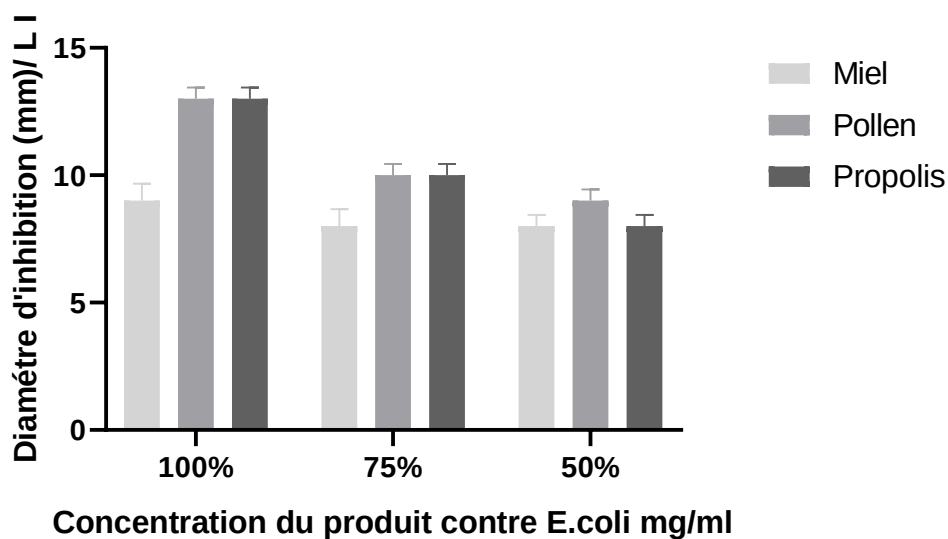
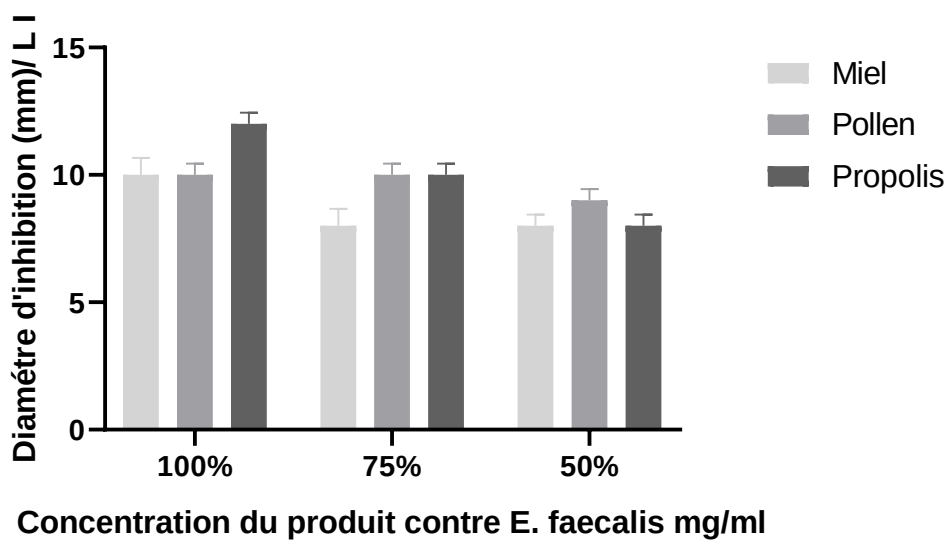


Figure III.7 : Activité antibactérienne des produits testés contre *B.subtilus*Figure III.8 : Activité antibactérienne des produits testés contre *E. coli*Figure III.9 : Activité antibactérienne des produits testés contre *S. aureus*

Conclusion générale

Comme mentionné précédemment dans cette mémoire, les produits de la ruche sont des produits biologiques extrêmement complexes dont la composition varie en fonction de divers facteurs tels que la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie, les conditions météorologiques pendant la miellée, la nature de la flore visitée et du sol, ainsi que les méthodes de récolte et de conditionnement. Il est essentiel de préserver et de conserver les abeilles, car elles sont un élément essentiel de notre écosystème terrestre, que ce soit pour des raisons écologiques, économiques ou anthropomorphiques.

L'étude des caractéristiques physico-chimiques permet de constater que la qualité des produits, souvent utilisée dans le contrôle de routine. Les caractéristiques physico-chimiques du miel et du pollen et de la propolis de la région de Blida sont conformes aux normes proposées par la commission du Codex Alimentarius.

Les résultats de l'étude de la composition antioxydante des produits et de leur activité biologique révèlent une grande différence entre les échantillons en fonction de leur origine floristique. L'activité antioxydante du miel a été étroitement liée aux niveaux de polyphénols, à la couleur intense des miels. Nos échantillons testés ont également un pouvoir antibactérien assez élevé aux souches pathogènes, y compris les souches de gram positif, y compris la souche *Staphylococcus aureus*, qui a démontré une sensibilité supérieure à celle des autres bactéries testées.

Grâce à cela, nous avons pu repérer les miels étudiés, identifier leurs origines, leurs qualités et leur attribuer une appellation finale, que ce soit en tant que miels monofloraux ou en tant que miels polyfloraux pour la plupart. Toutefois, un miel de qualité élevée ne garantit pas forcément une qualité élevée, car le prix n'est pas un indicateur fiable de la qualité du miel.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à d'autres recherches visant à développer l'apiculture en Algérie et à réduire l'importation de miels. Nous proposons :

- i) d'intensifier la pratique de l'apiculture dans les différents étages bioclimatiques. L'apiculture pourrait au même titre que les autres actions de lutte contre la désertification, s'insérer dans le cadre d'une politique de développement et de préservation.
- ii) de réaliser un audit de territoire avant l'implantation de ruchers sédentaire.

iii) de créer des habitats favorables aux abeilles pour éviter la transhumance afin de préserver la diversité génétique locale des abeilles, en développant des méthodes de gestion adaptées aux conditions locales.

Pour cela, l'étude de la diversité culturelle avec des espèces qui présentent un intérêt pour l'abeille et ne nécessitant pas de traitements phytosanitaires semble pertinente.

v) Il serait également intéressant d'évaluer les résidus des pesticides et produits phytosanitaires dans les miels.

vi) Etudier par ailleurs les facteurs climatiques et les plantes mellifères de la région tout en procédant à la création d'un calendrier floral. Ceci permettrait de renforcer les connaissances sur la gestion de l'apiculture et promouvoir la formation professionnelle des apiculteurs pour mieux gérer la ruche et améliorer la qualité et la quantité de miel, en adoptant une stratégie visant à trouver un marché national et international stable vers lequel le miel algérien puisse être expédié régulièrement.

Références bibliographique

1. Abdulrhman, Mamdouh M., Mohamed H. El-Hefnawy, Rasha H. Aly, Rania H. Shatla, Rasha M. Mamdouh, Doaa M. Mahmoud, et Waheed S. Mohamed. 2013. « Metabolic effects of honey in type 1 diabetes mellitus: a randomized crossover pilot study ». *Journal of medicinal food* 16(1):66-72.
2. Aličić, Damir, Drago Šubarić, Midhat Jašić, Hatidža Pašalić, et \DJur\djica Ačkar. 2014. « Antioxidant properties of pollen ». *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku* 3(1):6-12.
3. MAllen, K. L., P. C. Molan, et G. M. Reid. 2011. « A Survey of the Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys ». *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43(12):817-22. doi: 10.1111/j.2042-7158.1991.tb03186.x.
4. Al-Masaudi, Saad B., Muhammad Barkaat Hussain, Saleh M. Al-Maaqar, Soad Al Jaouni, et Steve Harakeh. 2020. « In Vitro Antibacterial Activity of Honey against Multidrug-Resistant *Shigella Sonnei* ». *Complementary Therapies in Clinical Practice* 41:101257. doi: 10.1016/j.ctcp.2020.101257.
5. Almasi, Razieh, et Basavarajappa Sekarappa. 2019. « ANALYSIS OF UNIFLORAL AND MULTIFLORAL HONEY FOR PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES IN SOUTHERN KARNATAKA, INDIA ».
6. Alvarez-Suarez, Jose Miguel, Sara Tulipani, Stefania Romandini, Enrico Bertoli, et Maurizio Battino. 2010. « Contribution of Honey in Nutrition and Human Health: A Review ». *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 3(1):15-23. doi: 10.1007/s12349-009-0051-6.
7. Al-Waili, Noori S., Khelod Salom, Glenn Butler, et Ahmad A. Al Ghamdi. 2011. « Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control ». *Journal of medicinal food* 14(10):1079-96.
8. Anand, Sushil, Margaret Deighton, George Livanos, Paul D. Morrison, Edwin C. K. Pang, et Nitin Mantri. 2019. « Antimicrobial Activity of Agastache Honey and Characterization of Its

Bioactive Compounds in Comparison With Important Commercial Honey ». *Frontiers in Microbiology* 10:263. doi: 10.3389/fmicb.2019.00263.

9. Araujo, Marcio AR, Silvana A. Libério, Rosane NM Guerra, Maria Nilce S. Ribeiro, et Flávia RF Nascimento. 2012. « Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review ». *Revista Brasileira de Farmacognosia* 22:208-19.

10. Ashman, Tia-Lynn, Tiffany M. Knight, Janette A. Steets, Priyanga Amarasekare, Martin Burd, Diane R. Campbell, Michele R. Dudash, Mark O. Johnston, Susan J. Mazer, Randall J. Mitchell, Martin T. Morgan, et William G. Wilson. 2004. « POLLEN LIMITATION OF PLANT REPRODUCTION: ECOLOGICAL AND EVOLUTIONARY CAUSES AND CONSEQUENCES ». *Ecology* 85(9):2408-21. doi: 10.1890/03-8024.

11. Aymé, Alizée. 2014. « Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière ». PhD Thesis.

12. B Benhanifia, Mokhtar, Lâid Boukraâ, Si M Hammoudi, Siti A Sulaiman, et Lavaniya Manivannan. 2011. « Recent patents on topical application of honey in wound and burn management ». *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* 5(1):81-86.

13. Baydar, Nilgün Göktürk, Gülcan Özkan, et Osman Sağdıç. 2004. « Total Phenolic Contents and Antibacterial Activities of Grape (*Vitis Vinifera* L.) Extracts ». *Food Control* 15(5):335-39. doi: 10.1016/S0956-7135(03)00083-5.

14. Ben Amor, Safia, Scherazad Mekious, Leila Allal Benfekih, Magda H. Abdellattif, Walid Boussebaa, Faisal A. Almalki, Taibi Ben Hadda, et Sarkar M. A. Kawsar. 2022. « Phytochemical Characterization and Bioactivity of Different Honey Samples Collected in the Pre-Saharan Region in Algeria ». *Life* 12(7):927. doi: 10.3390/life12070927.

15. Beretta, Giangiacomo, Paola Granata, Maria Ferrero, Marica Orioli, et Roberto Maffei Facino. 2005. « Standardization of Antioxidant Properties of Honey by a Combination of Spectrophotometric/Fluorimetric Assays and Chemometrics ». *Analytica Chimica Acta* 533(2):185-91. doi: 10.1016/j.aca.2004.11.010.

- 16.**Bettar, Ismail, M. Lourdes González-Miret, Dolores Hernanz, Alfredo Marconi, Francisco J. Heredia, et Anass Terrab. 2019. « Characterisation of Moroccan Spurge (Euphorbia) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour ». *Arabian Journal of Chemistry* 12(8):2052-60.
- 17.**Blanc, Mickaël. 2010. « Propriétés et usage médical des produits de la ruche ». Th. Doc. En. Bouchelaghem, Sarra. 2021. « Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review ». *Saudi journal of biological sciences*.
- 18.**Boussaid, Amel, Moncef Chouaibi, Leila Rezig, Raoudha Hellal, Francesco Donsi, Giovanna Ferrari, et Salem Hamdi. 2018. « Physicochemical and Bioactive Properties of Six Honey Samples from Various Floral Origins from Tunisia ». *Arabian Journal of Chemistry* 11(2):265-74. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.08.011.
- 19.**Bradbear, Nicola. 2010. rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. FAO.
- 20.**Breeze, T. D., A. P. Bailey, K. G. Balcombe, et S. G. Potts. 2011. « Pollination Services in the UK: How Important Are Honeybees? » *Agriculture, Ecosystems & Environment* 142(3-4):137-43. doi: 10.1016/j.agee.2011.03.020.
- 21.**Buba, Fatimah. 2013. « Physicochemical and Microbiological Properties of Honey from North East Nigeria ». *Biochemistry & Analytical Biochemistry* 02(04). doi: 10.4172/2161-1009.1000142.
- 22.**Bucekova, Marcela, Monika Buriova, Ladislav Pekarik, Viktor Majtan, et Juraj Majtan. 2018. « Phytochemicals-Mediated Production of Hydrogen Peroxide Is Crucial for High Antibacterial Activity of Honeydew Honey ». *Scientific Reports* 8(1):9061. doi: 10.1038/s41598-018-27449-3.
- 23.**Burdock, G. A. 1998. « Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis) ». *Food and Chemical toxicology* 36(4):347-63.
- 24.**Can, Zehra, Oktay Yildiz, Huseyin Sahin, Emine Akyuz Turumtay, Sibel Silici, et Sevgi Kolayli. 2015. « An Investigation of Turkish Honeys: Their Physico-Chemical Properties,

Antioxidant Capacities and Phenolic Profiles ». *Food Chemistry* 180:133-41. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.024.

25.Carreck, Norman, et Ingrid Williams. 1998. « The Economic Value of Bees in the UK ». *Bee World* 79(3):115-23. doi: 10.1080/0005772X.1998.11099393.

26.Cedikova, Miroslava, Michaela Miklikova, Lenka Stachova, Martina Grundmanova, Zdenek Tuma, Vaclav Vetvicka, Nicolas Zech, Milena Kralickova, et Jitka Kuncova. 2014. « Effects of the czech propolis on sperm mitochondrial function ». *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014.

27.Chan, Godfrey Chi-Fung, Ka-Wai Cheung, et Daniel Man-Yuen Sze. 2013. « The immunomodulatory and anticancer properties of propolis ». *Clinical reviews in allergy & immunology* 44(3):262-73.

28.Chandra, Sangita, Priyanka Chatterjee, Protapaditya Dey, et Sanjib Bhattacharya. 2012. « Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein ». *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(1):S178-80.

29.Chefrour, C., R. Draiaia, A. Tahar, Y. Ait Kaki, S. Bennadja, et M. J. Battesti. 2009. « Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some north-east Algerian honeys. » *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 9(5).

30.Choudhari, Milind K., Sachin A. Punekar, Ramchandra V. Ranade, et Kishore M. Paknikar. 2012. « Antimicrobial activity of stingless bee (*Trigona* sp.) propolis used in the folk medicine of Western Maharashtra, India ». *Journal of ethnopharmacology* 141(1):363-67.

31.Chouhan, Sonam, Kanika Sharma, et Sanjay Guleria. 2017. « Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives ». *Medicines* 4(3):58.

32.Codex Alimentarius. 2001. « CODEX ALIMENTARIUS 2001: Revised standard for honey.

33.Codex Standard 12-1981. Rev 1 (1987), Rev 2 (2001), Rome: FAO ». Consulté 1 décembre 2021.

- 34.**Coutinho, Dale, Sowmya Nagur Karibasappa, et Dhoom Singh Mehta. 2018. « Royal jelly antimicrobial activity against periodontopathic bacteria ». *Journal of Interdisciplinary Dentistry* 8(1):18.
- 35.**Crane, Eva. 1990. « Bees and beekeeping: science, practice and world resources ».
- 36.**Crane, Eva. 1999. *The world history of beekeeping and honey hunting*. Routledge.
- 37.**Daniele, Gaëlle, et Hervé Casabianca. 2012. « Sugar composition of French royal jelly for comparison with commercial and artificial sugar samples ». *Food Chemistry* 134(2):1025-29.
- 38.**Didaras, Nikos Asoutis, Katerina Karatasou, Tilemachos G. Dimitriou, Grigoris D. Amoutzias, et Dimitris Mossialos. 2020. « Antimicrobial activity of bee-collected pollen and beebread: State of the art and future perspectives ». *Antibiotics* 9(11):811.
- 39.**Doukani, K., S. Tabak, A. Derriche, et Z. Hacini. 2014. « Étude physico-chimique et phyto-chimique de quelques types de miels Algériens ». *Revue Ecologie-Environnement* 10:37-49.
- 40.**Dżugan, Małgorzata, Monika Tomczyk, Patrycja Sowa, et Dorota Grabek-Lejko. 2018. « Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety ». *Molecules* 23(8):2069. doi: 10.3390/molecules23082069.
- 41.**Eilers, Elisabeth J., Claire Kremen, Sarah Smith Greenleaf, Andrea K. Garber, et Alexandra-Maria Klein. 2011. « Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply ». *PLoS one* 6(6):e21363.
- 42.**El-Seedi, Hesham R., Nehal Eid, Aida A. Abd El-Wahed, Mostafa E. Rateb, Hanan S. Afifi, Ahmed F. Algethami, Chao Zhao, Yahya Al Naggar, Sultan M. Alsharif, et Haroon Elrasheid Tahir. 2022. « Honey bee products: Preclinical and clinical studies of their anti-inflammatory and immunomodulatory properties ». *Frontiers in Nutrition* 8:761267.
- 43.**Escriche, Isabel, Mircea Oroian, Mario Visquert, María L. Gras, et Daniel Vidal. 2016. « Rheological properties of honey from burkina faso: loss modulus and complex viscosity modeling ». *International Journal of Food Properties* 19(11):2575-86.

- 44.Ferreira, Isabel C. F. R., Edmur Aires, João C. M. Barreira, et Letícia M. Estevinho. 2009. « Antioxidant Activity of Portuguese Honey Samples: Different Contributions of the Entire Honey and Phenolic Extract ». *Food Chemistry* 114(4):1438-43. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.028.
- 45.Ferreres, Federico, Nelson GM Gomes, Patrícia Valentão, David M. Pereira, Angel Gil-Izquierdo, Luísa Araújo, Tânia C. Silva, et Paula B. Andrade. 2018. « Leaves and stem bark from *Allophylus africanus* P. Beauv.: An approach to anti-inflammatory properties and characterization of their flavonoid profile ». *Food and Chemical Toxicology* 118:430-38.
- 46.Fournier, Robert. 2009. ABC de l'Apithérapie. Paris: GRANCHER.
- 47.Fujii, A. 1995. « Pharmacological effect of royal jelly ». *Honeybee Science* 16:97-104.
- 48.Gheldof, Nele, et Nicki J. Engeseth. 2002. « 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(10):3050-55.
- 49.Ghorab, Asma, María Shantal Rodríguez-Flores, Rifka Nakib, Olga Escuredo, Latifa Haderbache, Farid Bekdouche, et María Carmen Seijo. 2021. « Sensorial, Melissopalynological and Physico-Chemical Characteristics of Honey from Babors Kabylia's Region (Algeria) ». *Foods* 10(2):225. doi: 10.3390/foods10020225.
- 50.Goût, Jacques, et Claude Jardel. 1998. monde du miel et des abeilles. Delachaux et Niestlé.
- 51.Gül, Aziz, et Tuba Pehlivan. 2018. « Antioxidant Activities of Some Monofloral Honey Types Produced across Turkey ». *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(6):1056-65. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.02.011.
- 52.Heim, Kelly E., Anthony R. Tagliaferro, et Dennis J. Bobilya. 2002. « Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13(10):572-84. doi: 10.1016/S0955-2863(02)00208-5.
- 53.Jean-Prost, P., P. Médori, et Y. Le Conte. 2005. « l'apiculture, connaître l'abeille ». *Conduire le rucher*. 7ème édition Lavoisier. 682p.

54. Joshi, Surendra Rai, Hermann Pechhacker, Alfons Willam, et Werner von der Ohe. 2000. « Physico-Chemical Characteristics of Apis Dorsata , A. Cerana and A. Mellifera Honey from Chitwan District, Central Nepal ». *Apidologie* 31(3):367-75. doi: 10.1051/apido:2000128.
55. Kameda, Tsunenori, et Yasushi Tamada. 2009. « Variable-temperature ¹³C solid-state NMR study of the molecular structure of honeybee wax and silk ». *International journal of biological macromolecules* 44(1):64-69.
56. Khalil, Md. Ibrahim, Mohamed Mahaneem, Syed Mohsin Sahil Jamalullail, Nadia Alam, et Siti Amrah Sulaiman. 2011. « Evaluation of Radical Scavenging Activity and Colour Intensity of Nine Malaysian Honeys of Different Origin ». *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3(1):4-11. doi: 10.3896/IBRA.4.03.1.02.
57. Klatt, Björn K., Andrea Holzschuh, Catrin Westphal, Yann Clough, Inga Smit, Elke Pawelzik, et Teja Tscharntke. 2014. « Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281(1775):20132440.
58. Klein, Alexandra-Maria, Bernard E. Vaissiere, James H. Cane, Ingolf Steffan-Dewenter, Saul A. Cunningham, Claire Kremen, et Teja Tscharntke. 2007. « Importance of pollinators in changing landscapes for world crops ». *Proceedings of the royal society B: biological sciences* 274(1608):303-13.
59. Kushima, K. 1973. « Effects of royal jelly on autonomic imbalance in menopausal women ». *World Obstet. Gynecol.* 25:439-43.
60. Laredj, Hocine, et Rezzoug Waffa. 2017. « Microbiological and physicochemical characterization of honeys from the Tiaret Region of Algeria ». *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care* 9(3):85-91.
61. Lequet, Laudine. 2010. « Du nectar a un miel de qualité: Contrôles analytiques du miel et conseils Pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur ». PhD Thesis, thèse de Doctorat en vétérinaire, numéro de thèse 085. Université de Claude
62. Lobreau-Callen, D. 1994. « Introduction ». *Grana* 33(4-5):181-83. doi: 10.1080/00173139409428998.

- 63.** Louveaux, J., Anna Maurizio, et G. Vorwohl. 1978. « Methods of Melissopalynology ». *Bee World* 59(4):139-57. doi: 10.1080/0005772X.1978.11097714.
- 64.** Lu, Li-Chang, Yue-Wen Chen, et Cheng-Chun Chou. 2005. « Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus* ». *International journal of food microbiology* 102(2):213-20.
- 65.** Magalhães, Luís M., Fernando Santos, Marcela A. Segundo, Salette Reis, et José LFC Lima. 2010. « Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity ». *Talanta* 83(2):441-47.
- 66.** Majewska, Ewa, Beata Drużyńska, et Rafał Wołosiak. 2019. « Determination of the Botanical Origin of Honeybee Honeys Based on the Analysis of Their Selected Physicochemical Parameters Coupled with Chemometric Assays ». *Food Science and Biotechnology* 28(5):1307-14. doi: 10.1007/s10068-019-00598-5.
- 77.** Makawi, Suzan Zein Alabdeen, Elrasheed Ahmed Gadkariem, et Saad Mohamed Hussein Ayoub. 2009. « Determination of antioxidant flavonoids in Sudanese honey samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography ». *E-Journal of Chemistry* 6(S1):S429-37.
- 78.** Makhloufi, Chahra, Jacob D. Kerkvliet, Giancarlo Ricciardelli D'albore, Ali Choukri, et Riad Samar. 2010. « Characterization of Algerian Honeys by Palynological and Physico-Chemical Methods ». *Apidologie* 41(5):509-21. doi: 10.1051/apido/2010002.
- 79.** Marchenay, Philippe. 1988. « Miels, miellats, miellées ». *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée* 35(1):121-46. doi: 10.3406/jatba.1988.6682.
- 80.** Marcucci, Maria Cristina. 1995. « Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity ». *Apidologie* 26(2):83-99.
- 81.** Mayda, Nazlı, Aslı Özkök, Nesrin Ecem Bayram, Yusuf Can Gerçek, et Kadriye Sorkun. 2020. « Bee bread and bee pollen of different plant sources: Determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles ». *Journal of Food Measurement and Characterization* 14:1795-1809.

- 82.**Meda, Aline, Charles Euloge Lamien, Marco Romito, Jeanne Millogo, et Odile Germaine Nacoulma. 2005. « Determination of the Total Phenolic, Flavonoid and Proline Contents in Burkina Fasan Honey, as Well as Their Radical Scavenging Activity ». *Food Chemistry* 91(3):571-77. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.006.
- 83.**Mehryar, Laleh, Mohsen Esmaili, et Ali Hassanzadeh. 2013. « Evaluation of Some Physicochemical and Rheological Properties of Iranian Honeys and the Effect of Temperature on Its Viscosity ». *Environ. Sci.* 14.
- 84.**Mekious, Scherazad, Zahia Houmani, Étienne Bruneau, Carine Masseaux, Alain Guillet, et Thierry Hance. 2015. « Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie ». *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 11.
- 85.**Miguel, Irati, Mikel Iriondo, Lionel Garnery, Walter S. Sheppard, et Andone Estonba. 2007. « Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and post-glacial re-colonization routes in the western Europe ». *Apidologie* 38(2):141-55.
- 86.**Mohapatra, D. P., V. Thakur, et S. K. Brar. 2011. « Antibacterial Efficacy of Raw and Processed Honey ». *Biotechnology Research International* 2011:1-6. doi: 10.4061/2011/917505.
- 87.**Molan, P. C. 1992. « The antibacterial nature of honey: 1. The nature of the antibacterial activity ». *Bee World* 73(1):5-28.
- 88.**Morais, Margarida, Leandro Moreira, Xesús Feás, et Leticia M. Estevinho. 2011. « Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity ». *Food and Chemical Toxicology* 49(5):1096-1101.
- 89.**Muller, W. J., et H. R. Hepburn. 1994. « Juvenile hormone III and wax secretion in honeybees (*Apis mellifera capensis*) ». *Journal of Insect Physiology* 40(10):873-81.
- 90.**Münstedt, Karsten, et Stefan Bogdanov. 2009. « Bee products and their potential use in modern medicine ». *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1(3):57-63.

- 91.**Narita, Yukio, Johji Nomura, Shozo Ohta, Yoshikazu Inoh, Kazu-Michi Suzuki, Yoko Araki, Shinji Okada, Ichiro Matsumoto, Yoichiro Isohama, et Keiko Abe. 2006. « Royal jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines ». *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 70(10):2508-14.
- 92.**Noor, Nadia, Raja Adil Sarfraz, Shaukat Ali, et Muhammad Shahid. 2014. « Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys ». *Food Chemistry* 143:362-66.
- 93.**Nzeako, B. C., et J. Hamdi. 2000. « Antimicrobial potential of honey on some microbial isolates ». *Sultan Qaboos University Medical Journal [SQUMJ]* 2(2):75-79.
- 94.**Ouchemoukh, Salim, Paul Schweitzer, Mostapha Bachir Bey, Hafsa Djoudad-Kadji, et Hayette Louaileche. 2010. « HPLC Sugar Profiles of Algerian Honeys ». *Food Chemistry* 121(2):561-68. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.12.047.
- 95.**Özkök, A., B. D'arcy, et K. Sorkun. 2010. « Total Phenolic Acid and Total Flavonoid Content of Turkish Pine Honeydew Honey ». *Journal of ApiProduct & ApiMedical Science* 2(2):65-71. doi: 10.3896/IBRA.4.02.2.01.
- 96.**Paramás, Ana M. González, J. Alfonso Gómez Bárez, Carlos Cordón Marcos, Rafael J. García-Villanova, et José Sánchez Sánchez. 2006. « HPLC-Fluorimetric Method for Analysis of Amino Acids in Products of the Hive (Honey and Bee-Pollen) ». *Food Chemistry* 95(1):148-56. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.02.008.
- 97.**Pascoal, Ananias, Sandra Rodrigues, Alfredo Teixeira, Xesus Feás, et Leticia M. Estevinho. 2014. « Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory ». *Food and Chemical Toxicology* 63:233-39.
- 98.**Perumal Samy, R., A. Pachiappan, P. Gopalakrishnakone, Maung M. Thwin, Yap E. Hian, Vincent TK Chow, Ho Bow, et Joseph T. Weng. 2006. « In vitro antimicrobial activity of natural toxins and animal venoms tested against *Burkholderia pseudomallei* ». *BMC infectious diseases* 6(1):1-16.

- 99.** Piccinelli, Anna Lisa, Teresa Mencherini, Rita Celano, Zina Mouhoubi, Azeddine Tamendjari, Rita Patrizia Aquino, et Luca Rastrelli. 2013. « Chemical composition and antioxidant activity of Algerian propolis ». *Journal of agricultural and food chemistry* 61(21):5080-88.
- 100.** Pontis, Jonierison Alves, Luiz Antonio Mendonça Alves da Costa, Silvio José Reis da Silva, et Adriana Flach. 2014. « Color, Phenolic and Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Honey from Roraima, Brazil ». *Food Science and Technology* 34(1):69-73. doi: 10.1590/S0101-20612014005000015.
- 101.** Price, Jodi N., et John W. Morgan. 2006. « Variability in plant fitness influences range expansion of *Leptospermum scoparium* ». *Ecography* 29(4):623-31.
- 102.** Rajić, Zrinka, Marijana Zovko Končić, Kristina Miloloža, Ivana Perković, Ivan Butula, Franz Bucar, et Branka Zorc. 2010. « Primaquine-NSAID twin drugs: Synthesis, radical scavenging, antioxidant and Fe²⁺ chelating activity ». *Acta Pharmaceutica* 60(3):325-37.
- 103.** Ravazzi, G., Cécile Breffort, et Céline Vielfaure. 2003. Abeilles et apiculture. Nouv éd rev. et augm édition. De Vecchi.
- 104.** Rebiai, Abdelkrim, Touhami Lanez, et Atef Chouikh. 2015. « PHYSICOCHEMICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF HONEY BEE PRODUCTS IN SOUTH ALGERIA ». 11.
- 105.** Roshan, Niloufar, Thomas Rippers, Cornelia Locher, et Katherine A. Hammer. 2017. « Antibacterial activity and chemical characteristics of several Western Australian honeys compared to manuka honey and pasture honey ». *Archives of Microbiology* 199(2):347-55.
- 106.** Sajid, Muhammad, Muhammad Yamin, Farkhanda Asad, Sajid Yaqub, Shahzad Ahmad, Maryyam Ali Muhammad Samee Mubarik, Bilal Ahmad, Waqas Ahmad, et Samina Qamer. 2020. « Comparative study of physio-chemical analysis of fresh and branded honeys from Pakistan ». *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(1):173-76.
- 107.** Seijo, María Carmen, Olga Escuredo, et María Shantal Rodríguez-Flores. 2019. « Physicochemical properties and pollen profile of Oak honeydew and Evergreen Oak honeydew honeys from Spain: A comparative study ». *Foods* 8(4):126.

- 108.**SFORCIN, JOSÉ MAURÍCIO, A. Fernandes Júnior, C. A. M. Lopes, S. R. C. Funari, et V. Bankova. 2001. « Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis* ». *Journal of Venomous Animals and Toxins* 7:139-44.
- 109.**Sharaf, Mohamed, H. I. Hamouda, Samah Shabana, Sohaib Khan, Muhammad Arif, Hussein. E. Rozan, Mohnad Abdalla, Zhe Chi, et Chenguang Liu. 2021. « Design of Lipid-Based Nanocarrier for Drug Delivery Has a Double Therapy for Six Common Pathogens Eradication ». *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 625:126662. doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126662.
- 110.**Shehata, Mohamed G., Fauziah T. Ahmad, Ahmed N. Badr, Saad H. Masry, et Sobhy A. El-Sohaimy. 2020. « Chemical Analysis, Antioxidant, Cytotoxic and Antimicrobial Properties of Propolis from Different Geographic Regions ». *Annals of Agricultural Sciences* 65(2):209-17. doi: 10.1016/j.aosas.2020.12.001.
- 111.**Silva, Luís R., Romeu Videira, Andreia P. Monteiro, Patrícia Valentão, et Paula B. Andrade. 2009. « Honey from Luso Region (Portugal): Physicochemical Characteristics and Mineral Contents ». *Microchemical Journal* 93(1):73-77. doi: 10.1016/j.microc.2009.05.005.
- 112.**Subrahmanyam, M. 1998. « A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine ». *Burns* 24(2):157-61.
- 113.**Suzuki, Kazu-Michi, Yoichiro Isohama, Hiroe Maruyama, Yayoi Yamada, Yukio Narita, Shozo Ohta, Yoko Araki, Takeshi Miyata, et Satoshi Mishima. 2008. « Estrogenic activities of fatty acids and a sterol isolated from royal jelly ». *Evidence-based complementary and alternative medicine* 5(3):295-302.
- 114.**Techer, Maéva Angélique. 2015. « Diversité génétique et phylogéographie de l'abeille *Apis mellifera* dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien ». PhD Thesis, Université de la Réunion.
- 115.**Techer, Maéva Angélique, Johanna Clémencet, Christophe Simiand, Sookar Preaduth, Hamza Abdou Azali, Bernard Reynaud, et Delatte Hélène. 2017. « Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands ». *BMC genetics* 18(1):1-21.

- 116.** Trautvetter, Sophie, Isabelle Koelling-Speer, et Karl Speer. 2009. « Confirmation of Phenolic Acids and Flavonoids in Honeys by UPLC-MS ». *Apidologie* 40(2):140-50. doi: 10.1051/apido/2008072.
- 117.** Vică, Mihaela Laura, Mirel Glevitzky, Delia Mirela Tit, Tapan Behl, Ramona Cristina Hegheduş-Mîndru, Dana Carmen Zaha, Francesca Ursu, Maria Popa, Ioana Glevitzky, et Simona Bungău. 2021. « The Antimicrobial Activity of Honey and Propolis Extracts from the Central Region of Romania ». *Food Bioscience* 41:101014. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101014.
- 118.** Villacrés-Granda, Irina, Dayana Coello, Adrián Proaño, Isabel Ballesteros, David W. Roubik, Gabriela Jijón, Genoveva Granda-Albuja, Silvana Granda-Albuja, Reinier Abreu-Naranjo, et Favian Maza. 2021. « Honey quality parameters, chemical composition and antimicrobial activity in twelve Ecuadorian stingless bees (Apidae: Apinae: Meliponini) tested against multiresistant human pathogens ». *LWT* 140:110737.
- 119.** Watanabe, Maria Angélica Ehara, Marla Karine Amarante, Bruno José Conti, et José Maurício Sforcin. 2011. « Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: a review ». *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63(11):1378-86.
- 120.** White, Jonathan W., Collaborators:, M. R. Beaty, W. G. Eaton, B. Hart, W. Huser, E. Killion, R. R. Lamssies, T. Lee, W. E. Moen, S. L. Nelson, R. O'Neal, J. Probst, G. H. Shepard, W. V. Stevenson, et J. Teas. 1984. « Instrumental Color Classification of Honey: Collaborative Study ». *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 67(6):1129-31. doi: 10.1093/jaoac/67.6.1129.
- 121.** Zazharskyi, V. V., P. Davydenko, O. Kulishenko, I. V. Borovik, et V. V. Brygadyrenko. 2019. « Antimicrobial activity of 50 plant extracts ». *Biosystems Diversity* 27(2):163-69.

LISTE DES ANNEXES

Annexe 01 : liste des appareils utilisés au laboratoire

Le nom de l'appareil	La photo de l'appareil
pH mètre / conductimètre	
Etuve	
Balance de précision	
Spectrophotometrie	

Centrifugeuse	
Bain marie	
Vortex	
Four à moufle	

Autoclave



rotuvapure



Bain ultra son



Agitateur magnétique



Hotte microbiologique



Instrument en verre



Micropipette



Houne



Spatule



Boite péttrie	

Annexe 02 : Tableau de Chataway

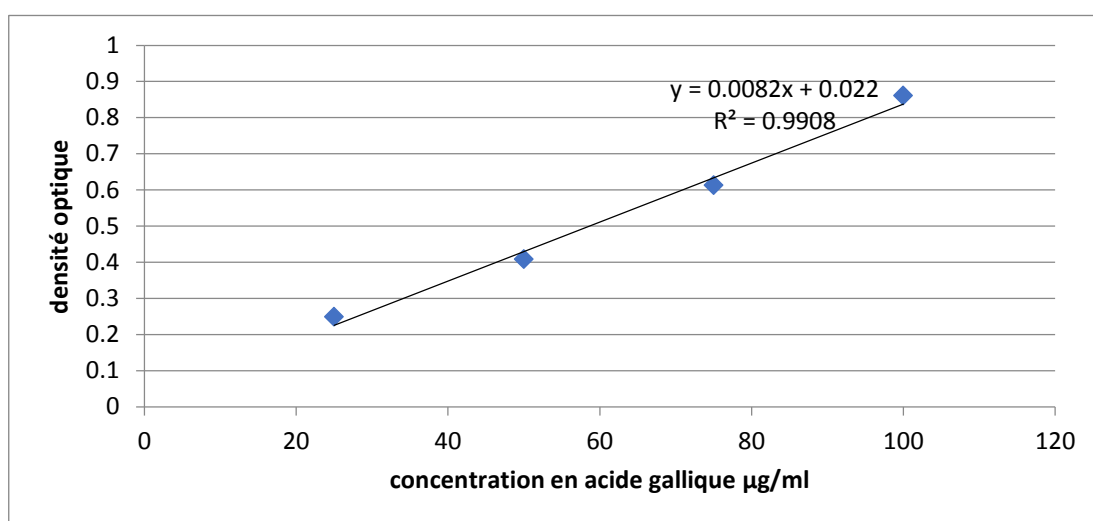
Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %
1,5041	13,0	1,4910	18,2
1,5035	13,2	1,4905	18,4
1,5030	13,4	1,4900	18,6
1,5025	13,6	1,4895	18,8
1,5020	13,8	1,4890	19,0
1,5015	14,0	1,4885	19,2
1,5010	14,2	1,4880	19,4
1,5005	14,4	1,4876	19,6
1,5000	14,6	1,4871	19,8
1,4995	14,8	1,4866	20,0
1,4990	15,0	1,4862	20,2
1,4985	15,2	1,4858	20,4
1,4980	15,4	1,4853	20,6
1,4975	15,6	1,4849	20,8
1,4970	15,8	1,4844	21,0
1,4965	16,0	1,4828	21,5
1,4960	16,2	1,4815	22,0
1,4955	16,4	1,4802	22,5
1,4950	16,6	1,4789	23,0

1,4945	16,8	1,4777	23,5
1,4940	17,0	1,4764	24,0
1,4935	17,2	1,4752	24,5
1,4930	17,4	1,4739	25,0
1,4925	17,6	1,4726	25,5
1,4920	17,8	1,4714	26,0
1,4915	18,0	1,4702	26,5

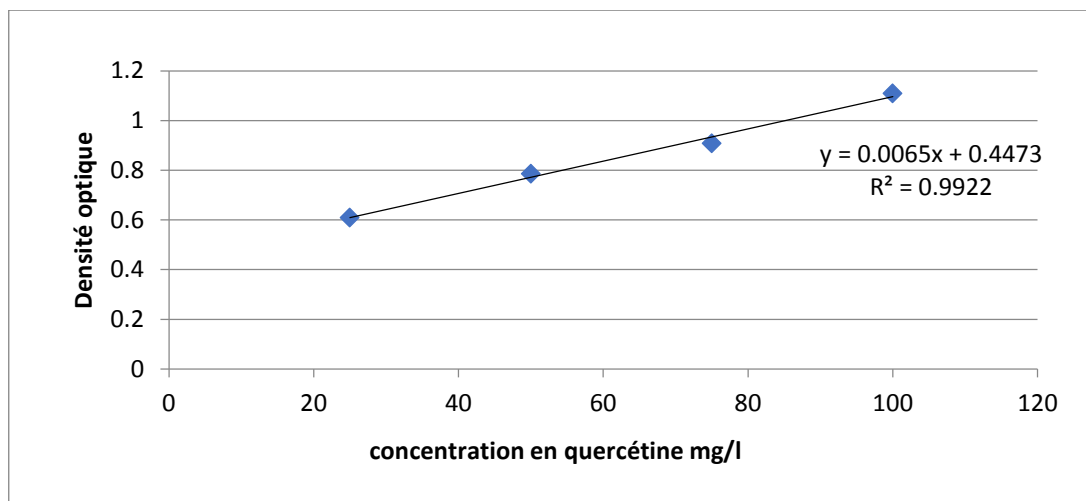
Annexe 03 : Couleur du miel exprimé en absorbance et l'échelle Pfund

Couleur du miel	Absorbance	L'échelle Pfund
Blanc transparent (Water white)	0.104–0.125	< 8
Extra blanc (Extra white)	0.125–0.148	9–17
Blanc (White)	0.148–0.195	18–34
Ambre extra clair (Extra light amber)	0.195–0.238	35–50
Ambre clair (Light amber)	0.238–0.333	51–85
Ambre (Amber)	0.333–0.411	86–114
Ambre sombre (Dark amber)	> 0.411	> 114

Annexe 04 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique



Annexe 05 : Courbe d'étalonnage de quercétine



Annexe 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

