



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : BOUKHELKHAL Kouider

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : AGRONOMIE

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTRÔLE DE QUALITE

Thème

**Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de
quelques échantillons du miel de la wilaya de Laghouat**

Jury de soutenance

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mlle Allali khadidja	MAA	Présidente
Mlle Lounici Safia	MAA	Examinatrice
Mlle Zamoum Miyada	MCA	Rapporteur

Promotion : JUIN – 2021

Remercîments

اولا اشكر الله عز وجل ان وفقني للقيام بهذا العمل .

فالحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

الشكر الخاص إلى الأستاذة زعموم ميادة على إشرافها والوقوف إلى جانبنا حفظها
الله وبارك فيها وفي أهلها وأدام عليها الصحة والعافية

، الشكر إلى أعضاء اللجنة المشرفة

الشكر موصول إلى أستاذة فاطمة زهراء عويسي

، الشكر إلى كل من ساعدنا ببارك الله فيهم وجزاهم كل خير

بوخلخال قويدر

Dédicace

إلى أبي الغالي رحمه الله وأسكنه فسيح جناته.
يا من كنت سندي بعد ربي رزقك الله الفردوس الأعلى.
. إلى أمي حبيبتي وملاكي وتاج فوق رأسي أطال الله في عمرها وبارك فيها.
إلى إخوتي ورود عائلتنا وكنز حياتنا سامية، سليمة، إيمان.
إلى إخوتي وسندي بعد ربي سبحانه، محمد، معمر.
إلى كل إخوتي الذين أثبتوا أن إخوة ليست في رحم فقط.
إلى زملاء الدراسة وفقهم الله وسدد خطاهم.
إلى كل من ساعدنا ولو بكلمة طيبة بارك الله فيهم وجزاهم الخير كله.

بوخلخال قويدر

Résumé

Notre travail consiste à rechercher et dénombrer certains microorganismes capables d'altérer la qualité organoleptique et sanitaire de ces miels sur des milieux de culture et d'évaluer quelques paramètres physicochimiques des échantillons.

L'analyse des paramètres physico chimiques concernait la détermination du taux d'humidité, taux de sucre, le pH, la conductivité, l'acidité libre et le taux de cendre. Les résultats ont montré que le taux d'humidité des miels variant entre 13% et 16.6 %. Les pH variant entre 3.01 et 3.26, le taux de sucre est entre 83.1% et 85% 0,1 la conductivité est entre 0.118(mS/cm) et 0.224(mS/cm). L'acidité libre est entre 2(méq/kg) et 13(méq/kg), le taux de cendre est entre 0.09% et 0.18%

Les résultats des analyses microbiologiques montrent la présence des moisissures dans deux échantillons du miel (kharoub et mélange). Cependant, Les miels analysés ne relèvent pas de contamination par *Staphylococcus aureus*.

Les échantillons de miels (sidra, loubane et herbe saharien) sont de bon qualité et mieux que les autres échantillons (kharoub et mélange).

De ce fait, il serait nécessaire d'élargir cette étude sur d'autres types de miels et étudier plusieurs paramètres physico-chimiques et plusieurs espèces microbiologiques (salmonelles, coliformes totaux, etc.).

Mots clés : miel, Laghouat, caractéristiques physico-chimiques, caractéristiques microbiologiques.

ملخص

يتمثل عملنا في البحث عن بعض الكائنات الحية الدقيقة وإحصائها للقدرة على تغيير الجودة الحسية والصحية للعسل على مستوى عدة وسائط وتقييم بعض المعايير الفيزيائية والكيميائية للعينات

يتعلق تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية بتحديد مستوى الرطوبة ومستوى السكر ودرجة الحموضة والتوصيل والحموضة الحرة ومستوى الرماد. أظهرت النتائج أن محتوى الرطوبة للعسل يتراوح بين 13% و 16.6%. يتراوح الأس الهيدروجيني بين 3.01 و 3.26، ويتراوح مستوى السكر بين 83.1% و 85% 0.1 الموصلية بين 0.118 (مللي ثانية / سم) و 0.224 (مللي ثانية / سم). الحموضة الحرة بين 2 (مليغ / كغ) و 13 (مليغ / كغ) ، محتوى الرماد بين 0.09% و 0.18% أظهرت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية وجود العفن في عينتين من العسل (الخروب والخلطة). ومع ذلك، فإن العسل الذي تم تحليله لم يكشف عن أي تلوث بالمكورات العنقودية الذهبية

عينات العسل (سدرة، لوبان ، عشب صحراوي) ذات نوعية جيدة وأفضل من العينات الأخرى (الخروب والخلطة) لذلك، سيكون من الضروري توسيع هذه الدراسة لتشمل أنواعاً أخرى من العسل ودراسة العديد من المعلمات الفيزيائية والكيميائية والعديد من الأنواع الميكروبيولوجية (السالمونيلا ، القولونيات الكلية ، إلخ) الكامات المفتاحية: العسل، الاغواط، خصائص فيزيوكيميائية، خصائص ميكروبيولوجية

Abstract

Our work consists of searching for and counting certain microorganisms capable of altering the organoleptic and health quality of these honeys on culture media and of evaluating some physicochemical parameters of the samples.

The analysis of the physicochemical parameters concerned the determination of the moisture level, sugar level, pH, conductivity, free acidity and ash level. The results showed that the moisture content of the honeys varied between 13% and 16.6%. The pH varying between 3.01 and 3.26, the sugar level is between 83.1% and 85% 0.1 the conductivity is between 0.118 (mS / cm) and 0.224 (mS / cm). The free acidity is between 2 (meq / kg) and 13 (meq / kg), the ash content is between 0.09% and 0.18%

The results of the microbiological analyzes show the presence of molds in two samples of the honey (kharoub and mixture). However, the honeys analyzed did not reveal any contamination by *Staphylococcus aureus*.

The honey samples (sidra, loubane and Saharan herb) are of good quality and better than the other samples (kharoub and mixture).

Therefore, it would be necessary to extend this study to other types of honey and to study several physicochemical parameters and several microbiological species (salmonella, total coliforms, etc.).

Mots clés : honey, Laghouat, physico-chemical characteristics, microbiological characteristics.

Liste des tableaux

Tableau 1: Résultats des paramètres physico-chimiques des miels étudiés	27
Tableau 2: Comparaison des résultats du taux d'humidité avec différentes régions géographiques.....	30
Tableau 3: Résultats des levures moisissures, <i>Staphylococcus aureus</i>	32

Liste des Figures

Figure 1: Un rucher (Photos prises au domaine apicole de Taha Lalmie, Février 2019 Asaffia)	5
Figure 2: Les différentes étapes de la récolte du miel (Anonyme, 2015).	6
Figure 3: Structure de quelques acides phénoliques présents dans le miel (Meda, 2005).....	10
Figure 4: Structure de quelques flavonoides présents dans le miel (Meda, 2005).....	10
Figure 5: Les échantillons du miel.....	17
Figure 6: La détermination de la teneur en eau (indice de réfraction).....	19
Figure 7: Etude de conductivité électrique (photo originale)	20
Figure 8: mesure de pH (photo originale).....	21
Figure 9: mesure de l'acidité libre (originale).....	22
Figure 10: Etapes d'isolement de la flore fongique à partir des différents échantillons de miel.	23
Figure 11: Repiquage et purification des souches	24
Figure 12: résultat des paramètres physiques chimiques de miel étudié.....	29
Figure 13: <i>Alternaria</i> sp , A) observation macroscopique B) observation microscopique	33
Figure 14: Colonie <i>Aspergillus ochraceus</i> , A) observation macroscopique B) observation microscopique (grossissement*40).....	34
Figure 15: colonie <i>Aspergillus niger</i> , A) observation macroscopique B) observation microscopique (grossissement*40)	34
Figure 16: colonie <i>Rhizopus</i> sp, A) observation macroscopique B) observation microscopique	35
Figure 17: absence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans nos échantillons	36

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

C°: Degré Celsius

Cal: calorie

CE : Conductivité Electrique

Flav : Flavonoïdes

HMF: HydroxyMéthylFurfural

ml: Millilitre

ms/cm: Millisiemens par centimètre

pH: Potentiel d'hydrogène

PR : Pouvoir réducteur

S: seconde

Table des matières

<i>Remercîments.....</i>	<i>III</i>
<i>Dédicace</i>	<i>IV</i>
<i>Résumé</i>	<i>V</i>
<i>ملخص.....</i>	<i>V</i>
<i>Abstract</i>	<i>VI</i>
<i>Liste des tableaux.....</i>	<i>VII</i>
<i>Liste des Figures</i>	<i>VII</i>
<i>Liste des abréviations.....</i>	<i>VIII</i>
<i>Sommaire</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<i>Introduction générale</i>	<i>1</i>
<i>I. Premier Chapitre : Généralités sur le miel.....</i>	<i>2</i>
<i>1 Définition du miel.....</i>	<i>3</i>
<i>2 Importance du miel.....</i>	<i>3</i>
<i>3 Classification du miel.....</i>	<i>3</i>
<i>3.1 Miel de nectar de fleurs</i>	<i>3</i>
<i>3.1.1 Miels mono floraux.....</i>	<i>4</i>
<i>3.1.2 Miels multi floraux.....</i>	<i>4</i>
<i>3.2 Miel de miellat.....</i>	<i>4</i>
<i>3.3 Description fonctionnelle de la chaine de production.....</i>	<i>4</i>
<i>3.4 Récolte du miel par l'apiculteur.....</i>	<i>5</i>
<i>4 Composition du miel</i>	<i>6</i>
<i>4.1 Eau</i>	<i>7</i>
<i>4.2 Glucides.....</i>	<i>7</i>
<i>4.3 Sels minéraux et oligo-éléments.....</i>	<i>7</i>
<i>4.4 Protéines.....</i>	<i>7</i>
<i>4.5 Enzymes</i>	<i>7</i>

4.6	Vitamines	8
4.7	Acides organiques.....	8
4.8	Composés aromatiques.....	8
4.9	Composés phénoliques et caroténoïdes.....	8
4.10	Hydroxyméthylfurfural (HMF)	8
5	<i>Propriétés du miel.....</i>	10
5.1	Propriétés physico-chimiques.....	10
5.1.1	Activité de l'eau.....	10
5.1.2	pH et acidité.....	10
5.1.3	Densité et viscosité.....	10
5.1.4	Conductivité électrique.....	11
5.1.5	Conductivité thermique.....	11
5.1.6	Couleur	11
5.1.7	Indice de réfraction	11
5.1.8	Pouvoir rotatoire.....	11
5.2	Propriétés biologiques	11
5.3	Propriétés nutritionnelles.....	12
5.4	Propriétés antioxydantes	12
5.5	Propriétés antimicrobiennes	12
5.6	Propriétés thérapeutiques.....	12
6	<i>Vieillessement du miel.....</i>	12
6.1	Cristallisation.....	13
6.2	Conservation	13
6.3	Fermentation.....	13
6.4	La stabilité du miel.....	13
7	<i>Qualité du miel.....</i>	13
7.1	Origine botanique.....	14
7.2	Maturité et Fraicheur.....	14
8	<i>La contamination microbiologique</i>	14

8.1	La flore mésophile totale.....	15
8.2	La flore mycélienne et les levures banales	15
8.3	Les levures osmophiles.....	15
8.4	Les germes témoins de contamination entérique.....	15
II.	Deuxième chapitre : Matériel et Méthodes.....	16
1	Matériel et Méthodes d'analyse	17
1.1	Matériel biologique.....	17
2	Méthodes d'analyse	18
2.1	Analyses physicochimiques	18
2.1.1	Teneur en eau.....	18
2.1.2	La matière sèche (Degré Brix).....	19
2.1.3	Conductivité électrique.....	20
2.1.4	pH (Potentiel hydrogène)	20
2.1.5	L'acidité libre	21
2.1.6	Le taux de cendre.....	22
2.2	Analyses microbiologiques	22
2.2.1	Isolements de la flore fongique.....	22
2.2.2	L'isolements des levures et moisissures	23
2.2.3	L'isolements de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
III.	Troisième Chapitre : Résultat et discussion	26
1	Analyses Physicochimiques du Miel	27
2	Analyse microbiologique	32
2.1	Levure et moisissures.....	33
2.1.1	Le genre <i>Alternaria</i>	33
2.1.2	<i>Aspergillus ochraceus</i>	33
2.1.3	<i>Aspergillus niger</i>	34
2.1.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	35
	Conclusion générale.....	39
	Références bibliographiques	41
	Annexe	46

Introduction générale

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Il est considéré comme un aliment privilégié, c'est un produit naturel qui est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir de nectar des fleurs et aussi bien que de miellat, elles les recueillent, transforment et emmagasinent dans les rayons de la ruche (**Azeredo et al., 2003**).

Le miel est une substance qui est très riche en sucre, constituée principalement par des glucides (dont le fructose et le glucose sont les composants principaux), et d'autres composés tels que l'eau, les protéines, les vitamines, les minéraux, les lipides, les acides aminés, les acides organiques, les composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes, les enzymes, les composés volatil (Azeredo et al, 2003 ; Saxena et al, 2010 ; Alquarniet al, 2012).

Le miel est un aliment que l'humanité connaît depuis la préhistoire. C'est un extraordinaire "aliment médicament" que les anciens en faisaient des usages très variés et cela souvent en rapport avec des coutumes, des légendes et des mythes de l'humanité. Il était utilisé d'une part, dans l'alimentation, à cause de son caractère très énergétique, de sa valeur nutritive exceptionnelle et d'autre part, en pharmacopée grâce à ces vertus, largement attribués, dues aux propriétés antioxydants et antimicrobiennes. Pour cette raison, l'étude des paramètres physicochimiques et microbiologiques sont indispensables afin d'évaluer la qualité du miel commercialisé. Les critères de la qualité du miel selon le projet CL 1998/12-S du Codex Alimentarius et selon le projet de l'UE 96/0114 (CNS) sont la teneur en eau, le taux de l'HMF, l'indice de diastase, la teneur en sucre réducteur, la teneur en matière insoluble dans l'eau et l'acidité.

L'objectif de l'étude présente vise à évaluer les propriétés microbiologiques des échantillons de miel ainsi que leurs propriétés physico-chimiques.

Pour réaliser cela, la présente étude est divisée en deux parties : La première est une partie théorique qui vise à présenter le miel dans ses généralités (définition, origine, récolte, composition chimique), ainsi que ces propriétés microbiologiques, et physico-chimiques.

La deuxième est une partie pratique qui porte sur étude de certaines caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du miel de Cinq échantillons de la wilaya de Laghouat :

Sidra – mikhareg (S)

Kharoube – Laghouat (K)

Melange – Laghouat (M)

Lobane – Aflou (L)

Herbes saharienne – Aflou (H)

I. Premier Chapitre : Généralités sur le miel

1 Définition du miel

Selon Donnadieu, (2003), "Le miel est la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée."

2 Importance du miel

Le miel a fait l'objet de nombreuses études pour différentes actions : antioxydant, anti-inflammatoire, stimulant de l'épithélialisation et de la régénération des tissus, traitement de désordres gastro-intestinaux, gingivite et maladies périodontale **(Raessi, 2014)**.

Le miel a été largement étudié pour son activité antibactérienne en raison de sa teneur en sucres et en acides organiques **(Baez, 2004)**: son pH acide (pH 3- 5,5) et sa haute osmolarité (il possède une haute concentration de sucres) empêchent la survie et le développement des bactéries Alam et al. , (2014). Avec cette propriété, le miel est remarquable pour l'activité antioxydant de ses caroténoïdes, flavonoïdes et composés phénoliques.

La recherche ayant étudié à plusieurs reprises ses propriétés régénératrices et cicatrisantes, le miel a été appliqué sur des ulcères, brûlures, zones d'insertion de cathéters veineux... et des blessures des patients diabétiques **(Alam et, 2014)**.

Ses composants antioxydants (flavonoïdes, phénols...) exercent deux importantes fonctions : d'une part ils sont antimicrobiens et d'autre part ils diminuent l'inflammation et les espèces réactives d'oxygène, aidant au processus de récupération. Il convient de mentionner que le miel peut être appliqué sur la blessure à condition qu'il soit de haute qualité et indiqué pour un usage topique. **(Bogdanov, 2008)**.

3 Classification du miel

Selon **(Sanz, 2005)**, le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou du miellat recueilli sur les plantes. Donc d'après leur origine botanique les miels peuvent être divisés en :

3.1 Miel de nectar de fleurs

Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales nommées nectarifère. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'aire, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant **(Sanz, 2005)**. Il est composé de trois sucres principaux (le saccharose, glucose et

le fructose), d'acides organiques, de protéines dont des enzymes, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques. Tous ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (**Hoyet,2005**).

Selon (**Nair ,2006**), les miels de nectar de fleurs peuvent être divisés en deux groupes :

3.1.1 Miels mono floraux

Un miel mono florale est un miel récolté par les abeilles sur une espèce végétale unique. de tels miels sont exceptionnels, car il est rare que l'abeille ne butine qu'une seule espèce mellifère. On peut donc considérer que ces miels unis floraux naturels, sont des miels provenant d'une plante déterminée mais pas à 100%.

3.1.2 Miels multi floraux

Un miel multi floral est un miel donné par plusieurs espèces végétales ou sans origine florale précise, il peut y avoir la dominance d'un pollen accompagné par d'autres, en petites quantités ou bien il peut présenter une mosaïque de pollens (**Nair ,2006**).

3.2 Miel de miellat

Le miellat est un produit sucré élaboré par diverses insectes piqueurs et suceurs généralement le puceron à partir de la sève des végétaux et dont se nourrissent certaines abeilles et fourmis (**Hoyet, 2005**). Il est constitué d'azote, de minéraux, d'acide organiques, de glucose et de fructose ainsi que d'autres sucres tels que la mélézitose, le raffinose et l'isomaltose (**Bogdanov, 2004**).

3.3 Description fonctionnelle de la chaine de production

Le miellat et / ou nectar recueillies par la trompe arrivent par l'œsophage dans le jabot de l'abeille butineuse. Celle-ci, une fois arrivée à la ruche, transforme ce produit en lui donnant son empreinte personnelle (**Tojonirina, 2008**).

Tout d'abord, elle mélange ces solutions sucrées à des sécrétions salivaires riche en enzymes et contenant notamment une invertase qui transforme le saccharose en glucose et en fructose (**Chouia, 2014**).

Le nectar ainsi que le miellat qui peu à peu deviennent miel, subissent dans les alvéoles de nombreux transferts, phénomène appelé trophallaxie (**Hoyet,2005**)

C'est ainsi que s'effectue la concentration du miel non mûre qui sera ensuite déposé dans les alvéoles des cadres de cire. Sous l'influence de la température de la ruche et de la ventilation assurée par les ouvrières, le miel mûr évapore son eau. Quand la teneur en eau du miel est inférieure à 19%, le miel est mur et il sera operculé par une couche de cire (**Huchet, 1996**).

3.4 Récolte du miel par l'apiculteur

Les ruches à cadres mobiles actuellement sont répandues dans tout le monde apicole, les cadres supportant les rayons. Les ruches à rayons fixes, bien que largement utilisées à travers les âges, posaient des problèmes pour la récolte du miel. Le plus souvent, on asphyxiait la colonie pour prélever les réserves. Ces ruches sont encore utilisées pour y faire de l'élevage et obtenir des essaims. Les apiculteurs utilisent généralement des ruches Dadant, (**Langstroth et Voirmot., 1999**)., Les différentes étapes de la récolte du miel sont présentées dans, figure2



Figure 1:Un rucher (Photos présent au domaine apicole de Taha Lalmie, Février 2019 Asaffia)

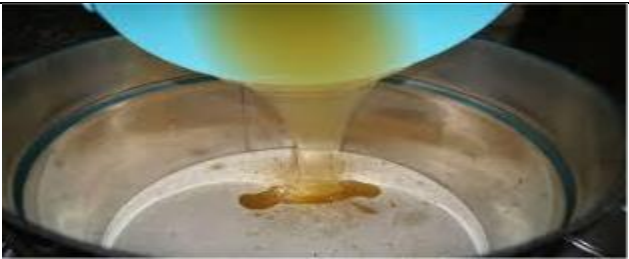
 1	1) Désoperculer Cette étape consiste à enlever la pellicule de cire qui bouche les alvéoles remplies de miel. L'opération se réalise avec un couteau à désoperculer en tranchant la couche de cire de haut en bas.
 2	2) Extraction du miel C'est une machine appelée extracteur qui fait jaillir le miel des cadres. Il s'agit d'une cuve où l'on dispose sur un bras quelques cadres désoperculés. Ensuite une manivelle fait tourner les cadres et par le biais de la force centrifuge les gouttes de miel sont projetées sur les parois.
 3	3) Filtrage du miel A la sortie de l'extracteur, le miel contient des impuretés. C'est une grille à double filtre qui va retirer diverses particules de propolis, de cire, d'opercules, de pattes d'abeilles.

Figure 2: Les différentes étapes de la récolte du miel (Anonyme, 2015).

1- Désoperculer / 2- Extraction du miel / 3- Filtrage du miel

4 Composition du miel

La composition du miel dépend de très nombreux facteurs comprenant l'espèce végétale butinée, la nature du sol, la race de l'abeille, l'état physiologique de la colonie, les conditions environnementales et la compétence de l'apiculture (Azered, 2003; Jean-Prost et Médori, 2005). Le miel est un produit doux et savoureux, ayant une haute valeur nutritive. Il se compose essentiellement d'un mélange complexe d'hydrate de carbone et d'autres substances mineurs, telles que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines et

les lipides (**Zamora et Chirife, 2006 ; Gomes, 2010**). D'autres substances sont également présentes comme les enzymes, les caroténoïdes, les polyphénols et les produits de la réaction de Maillard (**Al, 2009**).

4.1 Eau

La teneur en eau a un pourcentage optimum de 17 à 18 % qui garantira une bonne conservation du miel, plus cette teneur est élevée plus y a un risque de fermentation. Elle conditionne son poids spécifique et sa cristallisation. Elle dépend de plusieurs facteurs tels que les conditions météorologiques lors de la production, de l'humidité dans la ruche, ainsi que des conditions de récolte (**Delphine, 2010**).

4.2 Glucides

Les glucides sont présents en quantité de 78 à 80 %. Les principaux glucides constitutifs du miel sont le fructose et le glucose avec une prédominance du fructose, et une petite quantité d'oligosaccharides, disaccharides et tri saccharides (**Delphine, 2010**). Certains proviennent du nectar ou du miellat (d'origine végétale), d'autres apparaissent seulement comme des produits secondaires après transformation par les enzymes de l'abeille (**Lequet, 2010**).

4.3 Sels minéraux et oligo-éléments

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

4.4 Protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel.

4.5 Enzymes

Les principales enzymes du miel sont : les α et β amylases et la saccharase. Elles sont de deux origines : végétale et animale, le nectar contient des enzymes produites par les nectaires de la plante, les abeilles y ajoutent des enzymes de leurs glandes salivaires. Ces enzymes sont détruites par la chaleur, et leur présence ou leur absence peut servir d'indication de sur chauffage du miel (**Rossant, 2011**).

4.6 Vitamines

Le miel contient plusieurs vitamines telles que la thiamine, la riboflavine, la pyridoxine, l'acide ascorbique, l'acide pantothénique, l'acide folique et l'acide nicotinique (**Jean-prost et Médori, 2005**). Néanmoins, elles ne se trouvent qu'en quantité infime (**Bogdanov., 1995**).

4.7 Acides organiques

Selon **Jean-prost (1987)**, les acides organiques présents dans le miel sont généralement les acides succiniques, maliques, oxaliques, glutamiques et gluconiques. Ce dernier représente 70% à 90% de la teneur en acide organiques du miel. Il est issu du D-glucose, transformé par le glucose –oxydase (**Moreira ,2007**).

4.8 Composés aromatiques

L'arôme est un facteur de qualité important dans les produits alimentaires. L'arôme de miel d'abeille dépend de la composition de fraction volatile, qui est sous l'influence de la composition de nectar et d'origine florale. Le miel mono floral est de haute valeur nutritionnelle (**Cuevas ,2007**).

4.9 Composés phénoliques et caroténoïdes

Ce sont des métabolites secondaires des plantes, présents dans le miel en faibles quantités mais en grand nombre. Leur principale origine est le nectar et les sécrétions végétales (**Al-Mamary 2002 ; Bogdanov ,2004**). Certains phénols participent à l'arôme au même titre que les substances terpéniques. En plus des composées phénoliques, le miel contient aussi des caroténoïdes qui sont responsables en partie de la couleur et de l'activité anti oxydante (**küçük ,2007**). Les structures des principaux polyphénols, flavonoïdes contenus dans le miel sont présentés dans les (figure3et 4).

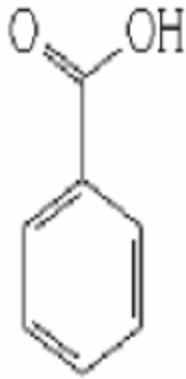
4.10 Hydroxyméthylfurfural (HMF)

Cet important facteur relatif à la qualité du miel est un indicateur de fraîcheur et de sur chauffage. Le miel brut ne contient pratiquement pas d'HMF ; cependant sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH du miel et de la température de stockage, il provient d'une dégradation lente du fructose, lequel en milieu acide se décompose et perd trois molécules d'eau (**Gonnet,1982**). Une teneur élevée en HMF pourra être expliquée par :

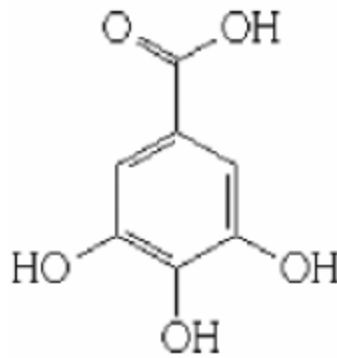
- La teneur élevée en eau, selon (**Marceau, 1994**), favorise la transformation des sucres en HMF.

- L'excès de la chaleur et l'entreposage prolongé sont des facteurs encore plus importants dans ce processus **(Marceau, 1994)**.
- Une acidité élevée du miel favorise la dégradation du fructose en HMF **(Gonnet, 1982 ; Marceau, 1994)**.

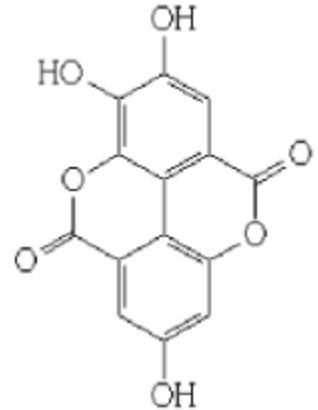
L'indice du HMF n'augmente pratiquement pas la première année, mais s'accroît fortement aux cours des deux années suivantes **(Philippe, 1991)**



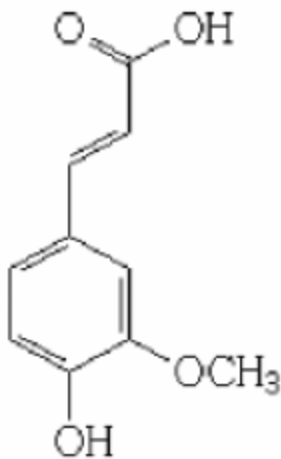
Acide benzoïque



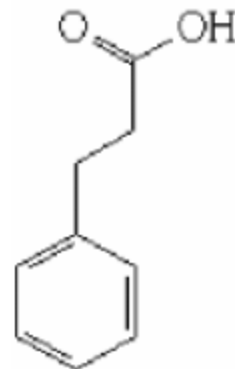
Acide gallique



Acide éllagique

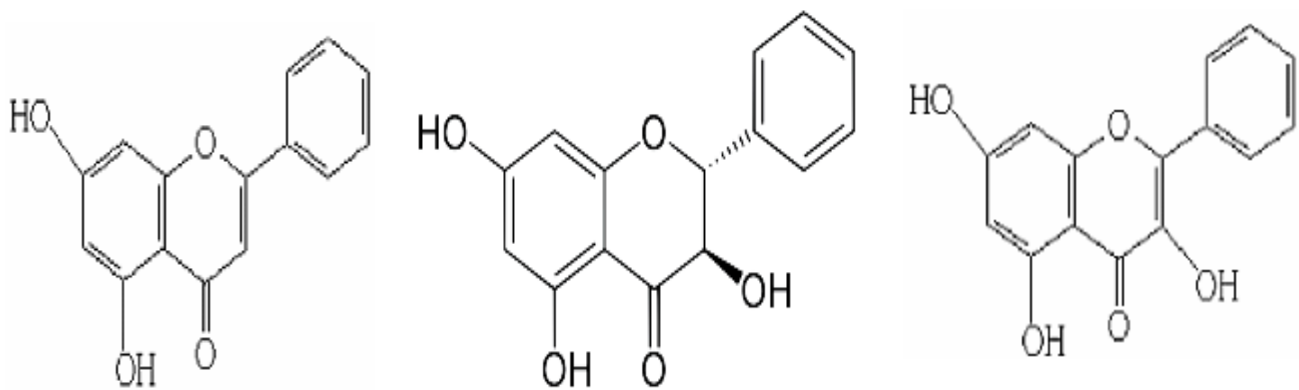


Acide férulique



Acide hyro-cinnamique

Figure (3)



Chrysin

Pinobanksin

Galangine

Figure (4)

Figure 3: Structure de quelques acides phénoliques présents dans le miel (Meda, 2005).

Figure 4: Structure de quelques flavonoïdes présents dans le miel (Meda, 2005).

5 Propriétés du miel

5.1 Propriétés physico-chimiques

5.1.1 Activité de l'eau

L'activité de l'eau est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau de l'aliment (p) sur la pression de vapeur d'eau de l'eau pure à la même température. Ce paramètre dépend de la teneur en eau libre et varie de 0,5 à 0,65 dans le miel. Au cours de la cristallisation, le miel montre une activité de l'eau plus élevée (Gleiter, 2006).

5.1.2 pH et acidité

Le miel est acide ; son pH est généralement compris entre 3,2 et 5,5. Les miels de châtaigner font exception qui peut atteindre une valeur de 6. Le pH du miel est en fonction de la quantité d'acides ionisables, qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale (Bogdano, 2004).

5.1.3 Densité et viscosité

La viscosité varie en fonction de la composition du miel (teneur en sucre et en eau) et de la température. Ainsi que de la densité (Ouchemoukh, 2003 ; Lazaridou 2004 ; Jean-Prost et Médori, 2005). La densité du miel est comprise entre 1,14 et 1,435. Elle dépend de sa teneur en eau (Ouchemoukh, 2003 ; Jean-prost et Médori, 2005).

5.1.4 Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) du miel est l'un des paramètres efficaces pour la distinction entre le miel de miellat et le miel de nectar. La CE de miel de miellat est supérieure à 0,8 ms/cm et celle de nectar est inférieure à 0,8 ms /cm. Elle est d'autant plus élevée que sa teneur en substances minérales est élevée (Bogdanov,2005).

5.1.5 Conductivité thermique

La conductivité thermique est la mesure de transfert de chaleur. Elle est aussi désignée en tant qu'indice thermique. Elle est relativement faible dans le miel, et s'élève à $12 \cdot 10^5$ cal/cm. s degré pour les miels liquides, tandis qu'elle est de $12,9 \cdot 10^{-4}$ cal/cm. s degré pour les miels cristallisés (Bogdanov ,1995)

5.1.6 Couleur

En fonction de l'origine florale, géographiques et la composition, le miel présente différentes couleurs (Hoyet,2005). Les diverses couleurs du miel sont généralement toutes des nuances de jaune brun, mais peuvent être aussi verdâtre (miellat), miel grisâtres (tournesol), rougeâtre et certaine presque noir. Le chauffage et le vieillissement provoque une intensification de la coloration du miel (Lequet,2010).

5.1.7 Indice de réfraction

L'indice de réfraction du miel est inversement proportionnel à sa teneur en eau et de la température, sa mesure au moyen du réfractomètre constitue la méthode la plus rapide et l'une des plus sûres pour évaluer la teneur en eau des miels. Il varie entre 1,5041 et 1,4915 à 20°C pour une teneur en eau allant de 13 à 18% pour la majorité des miels (Terrab,2004).

La table de chataway revues et corrigées par White donne la correspondance entre l'indice de réfraction et la teneur en eau (Bogdanov.,2002).

5.1.8 Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire et la caractéristique optique que possèdent les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. Il est utilisé pour distinguer entre les miels de nectar et les miels de miellat (Gonnet,1982). Cette propriété est très utilisée pour la détermination de l'origine botanique du miel (Nanda, 2003).

5.2 Propriétés biologiques

Le miel est non seulement un aliment mais on peut le considérer comme un médicament car il possède plusieurs propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, anti oxydantes et thérapeutiques). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable

en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (**Lobreau-Callenet al., 1999**).

5.3 Propriétés nutritionnelles

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétique (320 calories par 100 grammes de miel) assimilable par l'organisme par sa haute teneur en glucose et fructose (**Melliou et Chinou, 2011 ; Gonnet, 1982**).

5.4 Propriétés antioxydantes

Les antioxydants jouent un rôle important dans la préservation des aliments et la santé humaine, par désactivation et stabilisation des agents d'oxydation (espèces réactive oxygénées) responsables de nombreuses maladies telles que le cancer, la cataracte, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les différents processus d'inflammation (**Ames et al., 1993 ; Meda, 2005**). Les composés responsables de l'activité anti oxydante du miel sont les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, et les produits de la réaction de Maillard.

5.5 Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne du miel est attribuée à des facteurs physiques (pression osmotiques et l'acidité) et chimiques (peroxyde d'hydrogène et inhibines non peroxyde) (**Molane et Russel, 1988 ; Weston, 2000**).

5.6 Propriétés thérapeutiques

Depuis des millénaires le miel à été utilisé dans la médecine populaire dans de nombreux domaines d'ailleurs Aristote, le recommandait pour soulager divers maux (**Paulus., 2012**). Le miel est non seulement considéré comme une substance sucrée, savoureuse mais également comme une partie de médecine traditionnelle. Il a été rapporté qu'il est efficace contre les désordres gastro-intestinaux, la guérison des blessures et des brûlures, et pour produire une protection gastrique contre les lésions gastriques aiguës et chroniques (**Gomez-Caravaca., 2006**).

6 Vieillessement du miel

Le miel est un produit qui subit au cours du temps un grand nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. La rapidité de la dégradation dépend de la composition du produit ainsi que des conditions de sa conservation (**Bruneau, 2002**).

6.1 Cristallisation

La température a un effet similaire, une température basse favorise la viscosité du miel et une température élevée faisant vibrer les molécules de glucose et les empêchant de former des cristaux. Au-delà de 30°C, la cristallisation d'un miel est arrêtée. Pour une humidité de 18%, la température optimale de cristallisation est de 14°C (**Bruneau,2002**).

Selon (**jean-prost et Médori,2005**) les poussières, les pollens, les chocs thermiques, ainsi que les bulles d'air microscopiques peuvent jouer un rôle dans la cristallisation. Le miel a tendance à cristalliser plus rapidement, lorsque la teneur en glucose supérieur à 280-300 g/kg, ou un rapport glucose / humidité équivalent à 2,1 ou encore, un rapport fructose/ glucose égale à 1,14 (**Tosi,2004**).

6.2 Conservation

Le miel est un produit périssable, il subit au cours de temps de nombreuses modifications entraînant la perte de ces qualités. Il doit être conservé dans des endroits secs et aérés et dans des emballages fermés hermétiquement pour éviter sa fermentation, loin des températures élevées pour éviter la dégradation des sucres et la formation de l'HMF (**Huchet,1996**).

6.3 Fermentation

Tous les miels naturels contiennent des levures, responsables des fermentations alcooliques. Une teneur en eau trop importante (à partir de 18%) et une température excessive leur permettent de se développer, ce qui provoque la fermentation du miel. Un miel fermenté présente généralement des bulles d'air dans sa masse et devient impropre à la consommation (**Pham-Délégue M, 1999**).

6.4 La stabilité du miel

Des analyses physico-chimiques sont réalisées pour déterminer la teneur en eau, la dégradation de ses enzymes, l'acidité (qui accélère son évolution), et la quantité d'HMF. L'interprétation de ces analyses permet de déduire non seulement l'état de fraîcheur du miel, mais également ses conditions optimales de conservation. L'apiculteur doit inscrire sur tout pot vendu, une date limite d'utilisation, garantissant le maintien des qualités du miel (**Muli, 2007**).

7 Qualité du miel

L'évaluation de la qualité du miel passe essentiellement, par la vérification de son authenticité, l'estimation de sa maturité et fraîcheur, et l'identification de son origine botanique. Afin d'offrir au consommateur un produit de qualité, le Codex Alimentarius (2001) et le Journal

Officiel des Communautés Européennes, (2002) ont établi des limites pour certains paramètres physico-chimiques du miel, il s'agit de la teneur en eau, la conductivité électrique, la teneur en cendre, les sucres réducteurs et non-réducteurs, l'acidité, l'activité de diastase et la quantité d'HMF (**Muli,2007; Gomes,2010**).

7.1 Origine botanique

La source florale d'un miel est identifiée par l'analyse pollinique. Cependant, les approches chimiques pourraient être plus précises et facilement entreprises dans la caractérisation du miel (**Yao ,2003**). La conductivité électrique, la teneur en cendre et le pH sont employés couramment pour la discrimination entre les miels de miellat et de fleur (**Ouchemoukh,2007**)

7.2 Maturité et Fraicheur

L'estimation du degré de maturité du miel est très importante, car il conditionne sa durée de conservation. Un miel non mûr est prédisposé à une fermentation au cours du stockage, aboutissant à la détérioration de sa saveur et de sa qualité (**Downey, 2005**). Selon le Codex Alimentaires (2001), la teneur en eau est le critère de qualité le mieux adapté, pour estimer la maturité du miel.

L'évaluation des activités enzymatiques (invertase et diastase) est aussi un moyen de détection du traitement thermique (**Meda., 2005**). Cependant, elle est moins exacte que la quantification de l'HMF. La teneur en HMF est négligeable, juste après l'élaboration du miel, alors que l'activité enzymatique est très variable selon la quantité d'enzymes additionnés par les abeilles.

8 La contamination microbiologique

Les micro- organismes qui peuvent être rencontrés dans les produits de la ruche ont deux origines différentes : une flore habituelle ; mésophile ; mycélienne et un microbisme occasionnel (**Fleche - 1997**). Un certain nombre de microorganismes peuvent être répertoriés dans le miel. Cette présence s'explique par une contamination via les pollens. Le contenu digestif des abeilles. La poussière. L'air ; les fleurs...

En effet les intestins des abeilles contiennent 1% de levures ; 27% de bactéries Gram + et

70% de bactéries diverses dont les Gram -.

L'autre source de contamination du miel est constituée par l'Homme. Les équipements, les récipients, l'atmosphère lors de la récolte et du conditionnement (**Irlande. 2010**)

Ces microorganismes ramenés dans la colonie peuvent se retrouver sur les rayons et les parois de la ruche.

Lors de l'analyse bactériologique des miels. Quatre catégories de micro- organismes sont recherchées :

8.1 La flore mésophile totale

Elle est introduite par les abeilles. Et ne présente pas de risque pour le consommateur et elle n'a pas d'action néfaste sur le miel. Elle fait partie de l'environnement et se constitue presque exclusivement de Bacillus ; souvent à l'état de spores (**Fleche - 1997**).

8.2 La flore mycélienne et les levures banales

Les champignons filamenteux du genre Aspergillus sont rares et se trouvent à l'état dormant (spores). Le miel étant un milieu pauvre en protéides. Leur activité métabolique n'est pas favorisée (**Fleche - 1997**).

8.3 Les levures osmophiles

Ce sont des organismes glucidophiles inféodés à la végétation et capables de se développer sur des milieux possédant une pression osmotique élevée. Leur recherche est très importante car les levures du genre Saccharomyces sont des agents de la fermentation qui altèrent les miels et modifient leur conservation. Ces levures proviennent des pollens et des pattes ; langues et iabots des abeilles contaminées au contact des nectaires floraux et éventuellement des fruits mûrs : elles risquent de provoquer une fermentation. Surtout si le taux d'humidité est important (**Fleche - 1997**)

8.4 Les germes témoins de contamination entérique

Les coliformes et Escherichia coli ; les salmonelles dont l'absence est impérative et enfin les anaérobies sulfite- réducteurs (comme Clostridium perfringens). Ces germes peuvent contaminer le miel. La gelée royale, le pollen au cours des manipulations nécessaires au conditionnement, effectuées dans de mauvaises conditions hygiéniques (**Fleche - 1997**)

II. Deuxième chapitre : Matériel et Méthodes

1 Matériel et Méthodes d'analyse

L'objectif de ce travail est d'évaluer les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du miel de quelques échantillons de la région de Laghouat.

L'étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie N°07 département de sciences agronomiques de l'université Amar telidji, durant la période, du mois de Février jusqu'au mois d'Avril 2021.

1.1 Matériel biologique

Les prélèvements ont été effectués sur plusieurs types de miel (5 échantillons). Provenant de différentes régions de la wilaya de Laghouat. Le choix de nos échantillons est basé sur l'origine géographique et florale.

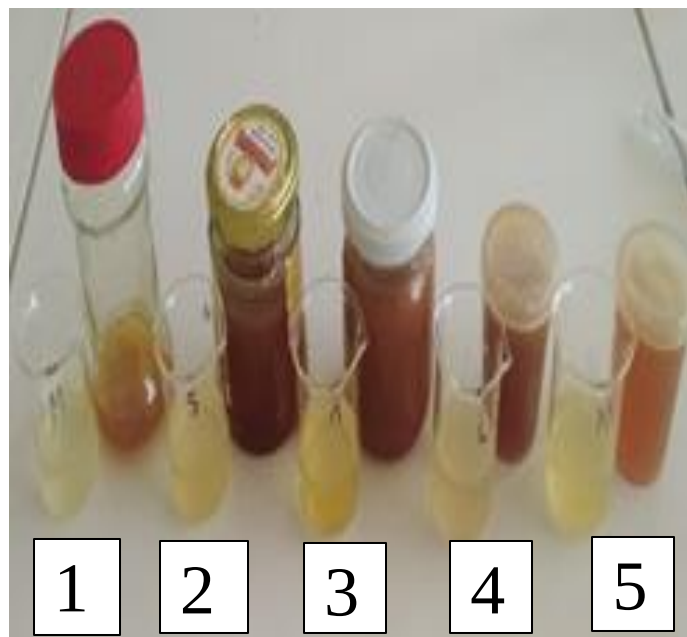


Figure 5: Les échantillons du miel.

- 1- Mélange Laghouat
- 2- Sidra bennacer benchohra
- 3- Kharoub laghouat
- 4- Louban Aflou
- 5- Herbe saharienne d'Aflou

2 Méthodes d'analyse

2.1 Analyses physicochimiques

Le miel contient un très grand nombre de substances, mais il existe entre les miels des variations de composition relativement importantes qui sont liées à leurs origines florales et géographiques. Les principaux paramètres de miel sont la coloration, l'humidité, la teneur en matières insolubles dans l'eau, la conductivité électrique, le pH et l'acidité, le spectre de sucres, la teneur en hydroxy méthyl-furfural (HMF), l'activité de l'amylase également appelé indice diastasique, l'activité de l'invertase, le dosage du glycérol et le pouvoir rotatoire **(Bogdanov, 1997)**.

Nous avons sélectionné certains paramètres qui nous permettront d'apprécier la qualité des miels étudiés établirent trois répétition pour chaque paramètre, ces paramètres sont :

- L'indice de réfraction et de la teneur en eau ;
- La matière sèche ;
- Taux des sucres (Degré Brix) ;
- L'acidité ;
- Le pH ;
- La conductivité électrique ;
- Le taux de cendres ;

2.1.1 Teneur en eau

La détermination de la teneur en eau s'effectue par la mesure optique de l'indice de Réfraction (IR) du miel à 20°C. Le coefficient de correction 0.00023 par degré Celsius. La Correction est additive, si la mesure est faite au-dessus de 20°C, soustractive dans le Contraire. **(Habati, 2018)**



Figure 6: La détermination de la teneur en eau (indice de réfraction)

Mode opératoire :

Avant de commencer il faut d'abord nettoyer et sécher le prisme du réfractomètre, puis régler le réfractomètre à zéro.

Le miel à analyser doit être homogénéisé et parfaitement liquide. Si le produit se trouve cristallisé, il est nécessaire de le refondre dans un flacon à fermeture hermétique en étuve ou en bain marie à moins de 50°C.

Après refroidissement à une température ambiante, on prend une goutte de miel à l'aide d'une spatule, ou déposer ou étaler la goutte en couche mince sur la platine de prisme. la lecture se fait à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre zone claire et zone obscure.

Les résultats obtenus seront portés à la table de CHATAWAY (voir annexe n°1) qu'indique la teneur en eau correspondante. (AOAC,)

2.1.2 La matière sèche (Degré Brix)

Grâce à la méthode de la réfractométrie, on peut évaluer le taux de matière séché. la lecture est faite sur l'échelle qui indique la teneur en matière sèche ou « Degré Brix » qui se trouve en parallèle avec l'échelle de l'indice de réfraction. (AOAC)

$$\text{Solide Totaux \%} = 100 - \text{Taux d'humidité}$$

2.1.3 Conductivité électrique

C'est la mesure à 20°C de la conductivité électrique prise dans une solution aqueuse de miel à l'aide d'un conductimètre. (AOAC)

- **Mode opératoire**

Peser dans un petit bêcher 10 g de miel, Le dissoudre dans 50 ml d'eau distillée bien mélanger

Poser la solution au bain-marie régler à 20°C

Prolonger les électrodes du conductimètre dans un dans la solution lorsque la température est à 20 degrés plus ou moins 0,5°C



Figure 7:Etude de conductivité électrique (photo originale)

a) Expression des résultats :

Effectuer la lecture de la valeur qui s'affiche à l'écran. La conductivité du miel est mesurée en siemens par (mS/cm)

2.1.4 pH (Potentiel hydrogène)

C'est la mesure du potentiel hydrogène d'une solution de miel à l'aide d'un pH mètre. (Habati M)

- **Mode opératoire**
- **Étalonnage de l'appareil**
 - L'étalonnage de pH mètre s'effectue dès sa première utilisation.
 - Pour l'étalonnage en température ou entre une valeur de la température égale à celle de la solution d'étude (en pratique celle de laboratoire).
 - Pour l'étalonnage en pH, on utilise des solutions tampons de pH 4 et pH 7.

- Plonger la sonde dans la solution de calibration pH 4 et attendre la stabilisation de la mesure.
- Recommencer l'opération avec la solution de calibration pH 7. (AOAC)



Figure 8: mesure de pH (photo originale)

b) Mesure du potentiels Hydrogèrique des échantillons

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

c) Expression des résultats :

La valeur du pH est directement affichée sur l'écran de l'appareil.

2.1.5 L'acidité libre

L'acidité libre est obtenue par la courbe de neutralisation du miel par une solution d'hydroxyde de sodium et détermination du pH du point équivalent (pHE). L'acidité due aux lactones est obtenue par l'ajout d'un excès d'hydroxyde de sodium à la solution de miel en déterminant cet excès par un titrage en retour par l'acide sulfurique. (Habati 2018)

- **Mode opératoire :**
 - ✓ Nous avons adopté le mode opératoire suivant :

Matériel et méthodes

- ✓ Dissoudre 10g de miel dans 75 ml d'eau distillée dans un bécher.
- ✓ Agiter à l'aide d'un agitateur magnétique
- ✓ Les électrodes du pH mètre sont immergées dans la solution de miel.
- ✓ Après la lecture du pH,
- ✓ La solution est titrée avec la solution de soude à 0,1M jusqu'à pH=8,30.
- ✓ Après la titration de l'échantillon avec NaOH jusqu'à pH=8,3.
- ✓ Enregistrer le volume de NaOH utilisé.
- ✓ Calculer l'acidité libre en milléquivalents. (AOAC)

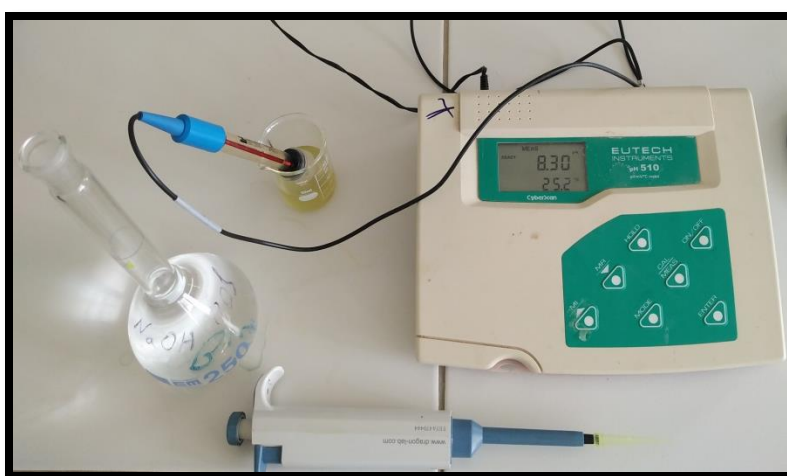


Figure 9: mesure de l'acidité libre (originale)

• Mode de calcul

L'acidité libre du miel est exprimée en milliéquivalent par kilogramme de miel et déterminée par la formule suivante :

$$AC \text{ libre} = \frac{1000 * V * 0.05}{P}$$

V= volume de NaOH
P= poids du miel

2.1.6 Le taux de cendre

Les cendres totales ont été estimées par conductimétrie en utilisant l'équation :

Teneur en cendres (%) = 0.083 * conductivité – 0.092 (sancho et al, 1992).

2.2 Analyses microbiologiques

2.2.1 Isolements de la flore fongique

Matériel et méthodes

Dans notre étude nous avons utilisé la méthode de suspension-dilution pour l'isolement de la microflore fongique. Pour 5 échantillons de miel (Sidra, Karoub, Mélange, Loban, herbes sahariennes), 1g de miel est additionné à 9ml d'eau physiologique stérile, la suspension est agitée pendant 10 min, ce qui correspond à la solution mère. A partir de cette dernière, une série de dilutions décimales est réalisée jusqu'à 10^{-2} **Bakary, C. (2019)**

2.2.2 L'isolements des levures et moisissures

Pour chaque dilution, un volume de 0,1 ml est ensemencé en surface sur une gélose Sabouraud. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 7 jours. **Bakary, C. (2019)**

2.2.3 L'isolements de *Staphylococcus aureus*

Pour chaque dilution, un volume de 0,1 ml est ensemencé en surface sur une gélose Chapman. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. **Bakary, C. (2019)**



Figure 10: Etapes d'isolement de la flore fongique à partir des différents échantillons de miel.

Repiquage et purification des souches

Après incubation, les souches obtenues sont repiquées plusieurs fois sur le milieu Sabouraud jusqu'à obtention des souches pures. Pour la purification des souches, il suffit de prélever avec une anse stérile quelques spores ou un fragment mycélien à la marge du thalle de chaque colonie et de transférer l'inoculum sur un milieu neuf.

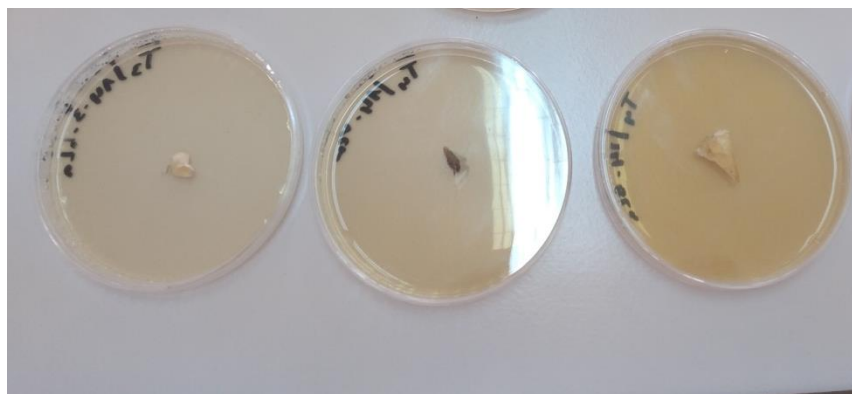


Figure 11: Repiquage et purification des souches

Identification des isolats

L'identification des isolats est faite à l'aide de clés dichotomiques et d'ouvrages d'identification, en faisant essentiellement appel aux caractères culturels comme la forme, la couleur, la pigmentation et le diamètre, et aux caractères morphologiques microscopiques (mycelia et conidies), des moisissures isolées à l'état pure (**Botton, 1990**).

Identification macroscopique

Ce base essentiellement sur les caractères suivants

Les caractères morphologiques et culturels sont déterminés après ensemencement des souches pures sur le milieu de cultures spécifiques Sabouraud, et incubée à 25°C pendant 7 jours. L'identification se fait à l'œil nu et elle se base

Essentiellement sur les caractères suivants :

- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)
- L'aspect des colonies.
- La couleur des colonies.

Identification microscopique

L'observation microscopique a été réalisée par la technique du scotch qui consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de lactophinole. (Ce produit gonfle des filaments des moisissures et permettent une bonne observation microscopique).

Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40 (**Chabasse, 2002**)

L'étude microscopique du mycélium est basée sur :

- L'absence ou présence de cloisons
- Couleur des filaments mycéliens
- Mode de ramification des cloisons
- Différenciation des thallospores
- Forme et couleur de colonies

III. Troisième Chapitre : Résultat et discussion

1 Analyses Physicochimiques du Miel

Les résultats des paramètres physicochimiques du miel son représentée dans le tableau et les figures qui suit

La connaissance des caractéristiques physico-chimiques des miels est essentielle pour l'évaluation de la bonne qualité du miel et sa stabilité en fonction du temps, ainsi que l'identification de l'origine florale du miel.

Les résultats obtenus pour les paramètres physico-chimiques de tous les échantillons des miels étudiés sont regroupés dans le Tableau 1 avec une comparaison aux ceux recommandés par le (Codex Alimentarius, 2001) et la (Directive Conseil de l'Union européenne, 2002)

Tableau 1:Résultats des paramètres physico-chimiqmues des miels étudiés

<i>L'échantillon</i>	<i>Origine</i>	<i>Humidité</i>	<i>Degré brix (taux des sucres) %</i>	<i>pH :</i>	<i>Conductivité (mS/cm)</i>	<i>Taux de cendre %</i>	<i>Acidité libre (méq/kg)</i>
<i>Sidra</i>	Ben nacer ben chohra	13	85	3.20	0.129	0.10	6
<i>Kharoub</i>	Bordj snoussi	16.6	81.1	3.03	0.164	0.13	7
<i>Mélange</i>	Laghouat	13.4	83.3	3.01	0.224	0.18	13
<i>Loubane</i>	Aflou	14.2	84	3.09	0.137	0.11	6.5
<i>Hèrbe Saharien</i>	Aflou	14.6	83.3	3.26	0.118	0.09	2
Codex Alimentarius	Nectar	≤21%	≥45	3.5 – 5.5	≤ 0.8	≤0,6	≤50
	Miellat				≥ 0.8	≤1.2	
Directive Conseil de l'Union européenne	Nectar		≥60		≤ 0.8	≤0,6	≤40
	Miellat				≥ 0.8	≤1.2	

Résultat et discussion

Les différences de résultats entre les échantillons considérés sont la conséquence de certains facteurs, comme la date de récolte, la proportion des différents nectars récoltés qui s'ajoutent à la variété botanique des espèces butinées, au climat et à l'origine de provenance des échantillons contribuant à accentuer et à comprendre les différences existantes entre les résultats.

L'étude physico-chimique a montré que :

La détermination du taux d'humidité dans les échantillons de miel étudiés est importante pour la qualité du miel. Elle nous a permis de connaître les conditions de stockage, la fermentation de miel le climat et les conditions d'extraction de miel.

les résultats obtenu montre que la teneur en eau varie entre 13 % et 16.6 %. Ces valeurs sont largement en dessous de la limite maximale préconisée par (Codex Alimentarius, 2001) qui est de 21% maximum.

Résultat et discussion

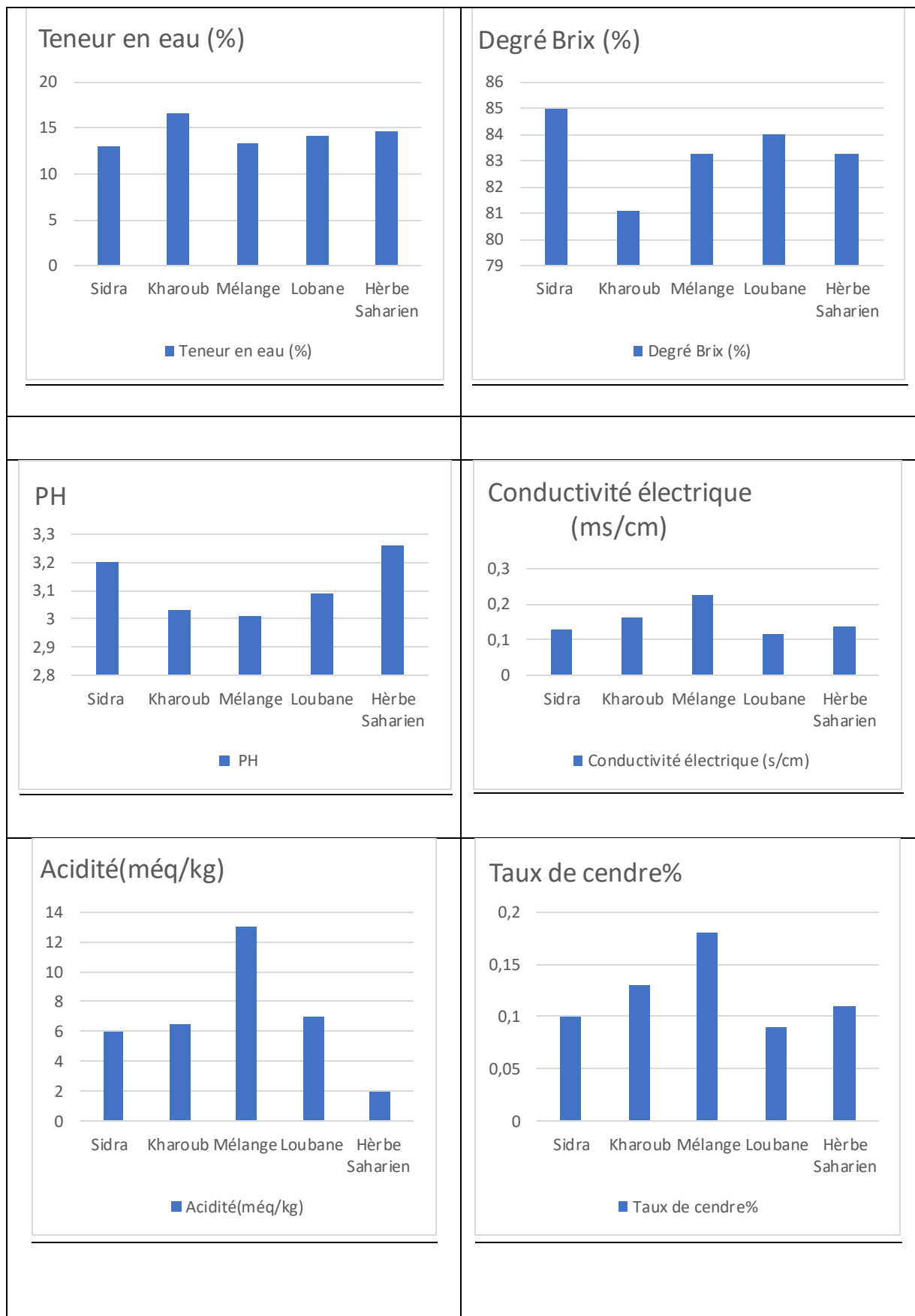


Figure 12: résultat des paramètres physiques chimiques de miel étudié.

Résultat et discussion

Les teneurs en eau élevées sont à mettre au compte d'une récolte précoce et d'un climat humide. Tandis que les deux miel (Sidra et le mélange), des valeurs plus basses qui peut être liée au climat chaud et sec (semi-aride) de cette région et dont l'extraction probablement faite durant les périodes très chaudes d'où la déperdition d'eau. Le tableau suivant présenté une petite comparaison avec les résultats des autres études :

Tableau 2: Comparaison des résultats du taux d'humidité avec différentes régions géographiques.

La région géographique	Taux d'humidité %	Références
Centre d'Algérie Laghouat	13 – 16.6	Notre étude
Centre d'Algérie Laghouat	14.10 – 20.41	Habati, 2018
Nord- Est d'Algérie	14.6 – 19	Ouchemoukh et al., 2007
Nord- Ouest d'Algérie	13.6 – 22	Chefrou et al., 2007
Centre d'Algérie	13.36 – 17.93	Zerrouk et al., 2013
Égypte	15.54 -18.32	El Sohaimy et al., 2015
Maroc	14.29–20.20	Chakir et al., 2016

Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons de miel étudiés contiennent un taux d'humidité inférieur ou égale à 16.6 %, la fermentation devient rare dans ce cas puisque le taux est inférieur à 21%.

En se référant à la table de Brix (Annexe II) et à partir des valeurs de l'indice de réfraction retrouvées par réfractomètre, nous pouvons déduire le **taux des sucres** correspondants.

Le taux des sucres varié de 81.1% à 85%. Les résultats des échantillons de miel que nous avons analysés sont similaires aux valeurs moyennes trouvées pour certains miels algériens rapportés par (**Zerrouk et al., 2013 ; Doukani et al., 2014 ; Rebiai et Lanez., 2014**) qui sont de 80.17 – 84.73 % ; 73.98 – 82.12% et 80.5 – 84.5% respectivement.

Les sucres des miels sont responsables de sa viscosité et de sa cristallisation. La répartition entre les différents sucres va donner de précieux renseignements qui permettront de prévoir la vitesse de cristallisation et la stabilité de la structure d'un miel (**Habati, 2018**).

Les teneurs en eau et en sucre du miel sont strictement corrélées. Les échantillons de miel ayant une teneur en humidité plus élevée ont un taux des sucre inférieur et vice versa.

Le pH des miels étudiés est compris entre 3.01 et 3.26. Donc tous les miels analysés ont été jugés comme caractère acide et sont en conformité avec les normes du (**Codex Alimentarius, 2001**). Les miels de nectar ont un pH faible (de 3,3 à 4,5) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (**Pesenti, 2008**). On peut dire que tous les types des miels étudiés sont d'origine florale. Aucun de nos échantillons étudiés ne dépassait la limite permise, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur.

Les valeurs de **pH** de miel sont d'une grande importance lors de l'extraction et de stockage, l'acidité peut influencer par la texture, la stabilité et la durée de conservation de miel (**Terrab et al., 2003**).

Le pH des échantillons du miel est important au cours du processus d'extraction, car elle affecte la texture, la stabilité et la durée de vie (**Habati, 2018**). Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (**Malika, 2005**).

La conductivité représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel et elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine du miel et qui remplace la teneur en cendres.

La conductivité électrique des miels étudié varie de 0.118 à 0.224 ± 0.009 mS/cm. En comparant les résultats que nous avons obtenus avec ceux précédemment publiés par d'autres auteurs, on remarque qu'ils sont inclus dans l'intervalle trouvés par (**Habati, 2018**) (0.17 et 0.6 ms/cm) ainsi que celui obtenu par (**Makhloufi, 2011**) (0.10 et 0.93 mS/cm).

Pour ce paramètre les normes internationales préconisent une limite maximale de 0.8 mS/cm pour la plupart des miels de nectar. Cette mesure est l'un des paramètres qui permettent de séparer les miels de nectar des miels de miellat. A partir de nos résultats on peut dire que tous les types des miels étudiés sont d'origine de nectar (Conductivité électrique $\leq 0,8$ mS/cm).

Les cendres représentent le résidu minéral du miel après incinération. La détermination des cendres offre la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel (**Silva, 2009**).

Les résultats des analyses, révèlent que nos échantillons sont minéralisés varie entre 0.09 et 0.18. Les valeurs de cendres obtenues ont été dans tous les cas inférieurs à 0.6%. Ceci indiquerait que tous les miels étudiés sont d'origine florale. Ces résultats inférieurs de ceux rapportés par (**Alqarni et al., 2014 ; El Sohaimy et al, 2015 ; Rebiai, 2016 ; Amri, 2016**) qui trouvent des teneurs en cendre élevée ($> 1 \%$).

Puisque les teneurs en matières minérales et la conductibilité électrique évoluent dans le

même sens, donc il est possible qu'il existe une relation entre les deux variables.

Parmi les invariants qui composent le miel, on retrouve les acides. On en étudie l'acidité libre ce qui représente la quantité de forme non-cyclique. Elle est calculée à partir de la quantité de soude qu'il faut y rajouter pour la neutraliser. La teneur en acide est utilisée par les normes internationales (**Habati 2018**).

Les valeurs de **l'acidité libre** des miels analysés varient de 2 à 13 méq /Kg. On observe que la plus faible acidité (2 méq /Kg) est présentée par l'échantillon d'Herbe Saharien de provenance d'Aflou. C'est un indicateur de la pauvreté de ce miel en acides organiques ainsi qu'en matières minérales, en effet il possède la plus basse teneur en cendre (0.118 %).

Bien qu'il existe de différence d'un échantillon à un autre, les valeurs déterminées ne dépassent pas la limite d'acidité libre. L'ancienne norme prescrit une valeur maximale de 40 milliéquivalents/kg. Dans le projet du **Codex Alimentarius**, elle a été augmentée à 50 milliéquivalents/kg (**2018**).

Les différents paramètres étudiés montrent que les échantillons de miel collectés chez les différents apiculteurs sont de bonnes qualités par rapport aux normes internationales. Toutes fois, la qualité du miel est affectée par différents facteurs dont dépend la qualité : L'origine botanique et géographique, les conditions climatiques de récolte, les conditions et les méthodes d'extraction, les conditions de stockage et de transport, la nourriture de l'abeille et la richesse botanique de la région.

2 Analyse microbiologique

Les caractéristiques microbiologiques des différents échantillons de miels analysés sont rapportées dans le tableau (.3.)

Tableau 3:Résultats des levures moisissures, Staphylococcus aureus.

Origine floral	Moisissures	Staphylococcus aureus	Levures
Sidra	Absence	Absence	Absence
Kharoub	Présence	Absence	Absence
Mélange	Présence	Absence	Absence
Loubane	Absence	Absence	Absence
Hérbe-saharien	Absence	Absence	Absence

2.1 Levure et moisissures

Après identification, Il s'est avéré que les 5 isolats fongiques ont été prélevés et purifiés à partir d'échantillons de miel, deux isolats sont isolée à partir d'un échantillon de miel de mélange, et deux isolats à partir d'un échantillon de miel de kharoub .

Après identification, il s'est avéré que les 5 isolats fongiques appartiennent à 3 genres : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhizopus sp*

On remarque que le genre prédominant est *l'Aspergillus*, il regroupe deux espèces :

- *Aspergillus niger*
- *Aspergillus ochraceus*

2.1.1 Le genre *Alternaria*

D'après le diagnostic macroscopique, les colonies apparaissent noires ou vertes et duveteuses. Elles présentent une texture épaisse. D'après les clés d'identification de Champion, (R. 1997). Ces deux isolats font partie de **genre *Alternaria***. Leurs caractéristiques microscopiques sont les suivantes : mycélium cloisonné, conidies en chaines simples ou ramifiées, brunes, irrégulières avec un rostre apicale court mais bien différencié (Figure 13).

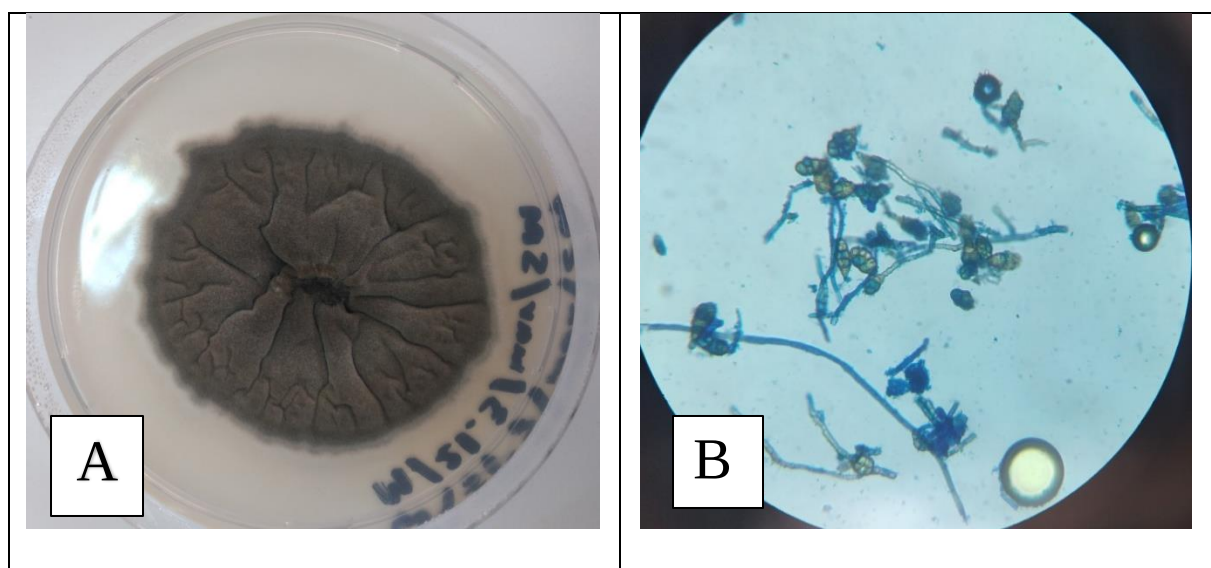


Figure 13: *Alternaria sp*, A) observation macroscopique B) observation microscopique

2.1.2 *Aspergillus ochraceus*

D'après Champion, R. (1997). Deux isolats éte ressemblent *Aspergillus ochraceus*. Cette section pousse rapidement, sont poudreuse ou duveteuse de couleur ocre.

Ils se caractérisent par la formation d'organes de reproduction asexuée : les têtes *aspergillaires*, le conidiophore de longueur variable se renfle (Figure 14).

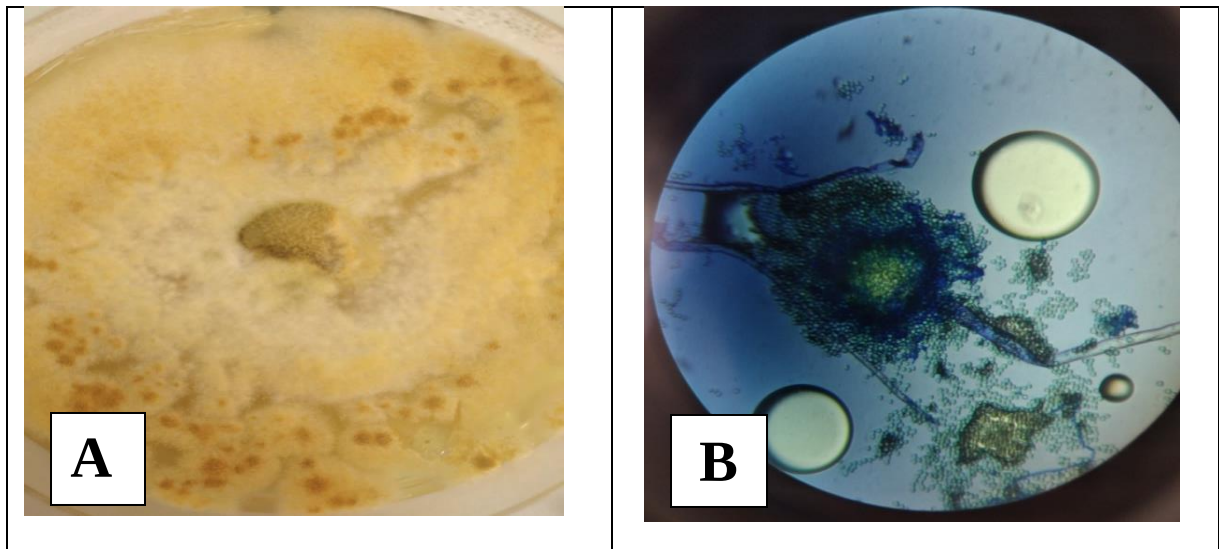


Figure 14: Colonie *Aspergillus ochraceus* , A) observation macroscopique B) observation microscopique (grossissement*40).

2.1.3 *Aspergillus niger*

Sept isolats appartenant à l'espèce *Aspergillus niger* d'après les clés d'identification de Champion, R. (1997), sur le milieu Sabouraud la colonie envahit souvent tout la surface de la boîte de pétri (Figure 15). Cette espèce possède un thalle à croissance rapide. Leurs caractères microscopiques présentent un mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses avec conidies globuleuses parfois légèrement aplaties, brune, échinulées et verruqueuses.

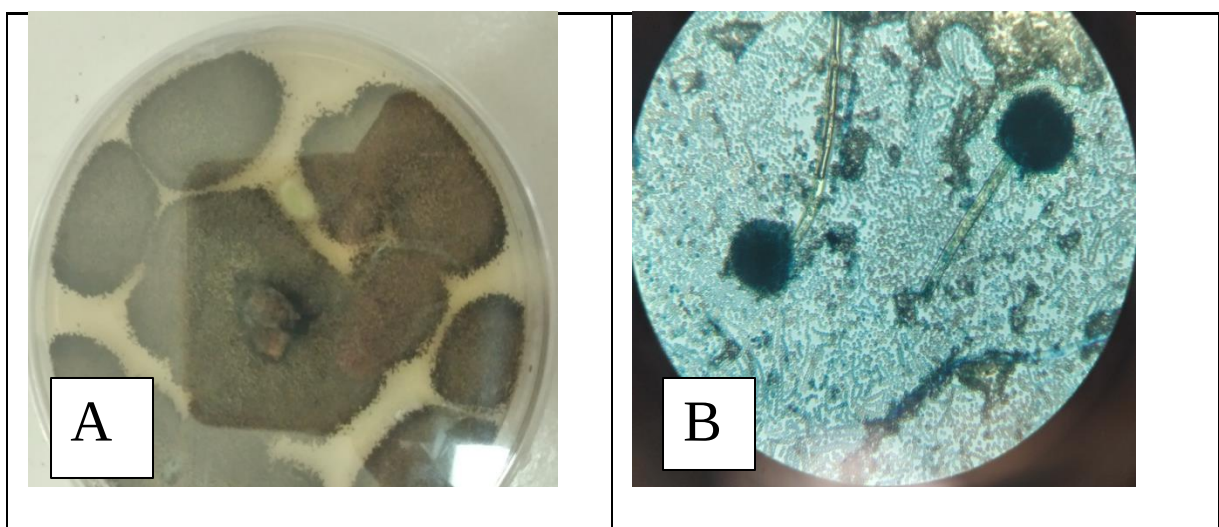


Figure 15: colonie *Aspergillus niger*, A) observation macroscopique B) observation microscopique (grossissement*40) .

Résultat et discussion

Genre *rhizopus* un isolat de genre *rhizopus* isolée à partir du miel (kharoub) les caractéristiques morphologiques du *rhizopus* se représentent ainsi : une taille a croissance extrêmement rapide sur le milieu sabouraud remplissant la boîte de pétri (20mm par jour) atteignant 5 à 8mm de hauteur cotonneux blanc au début, gris brunâtre à noirâtre gris selon la sporulation. (Larone ,2011)

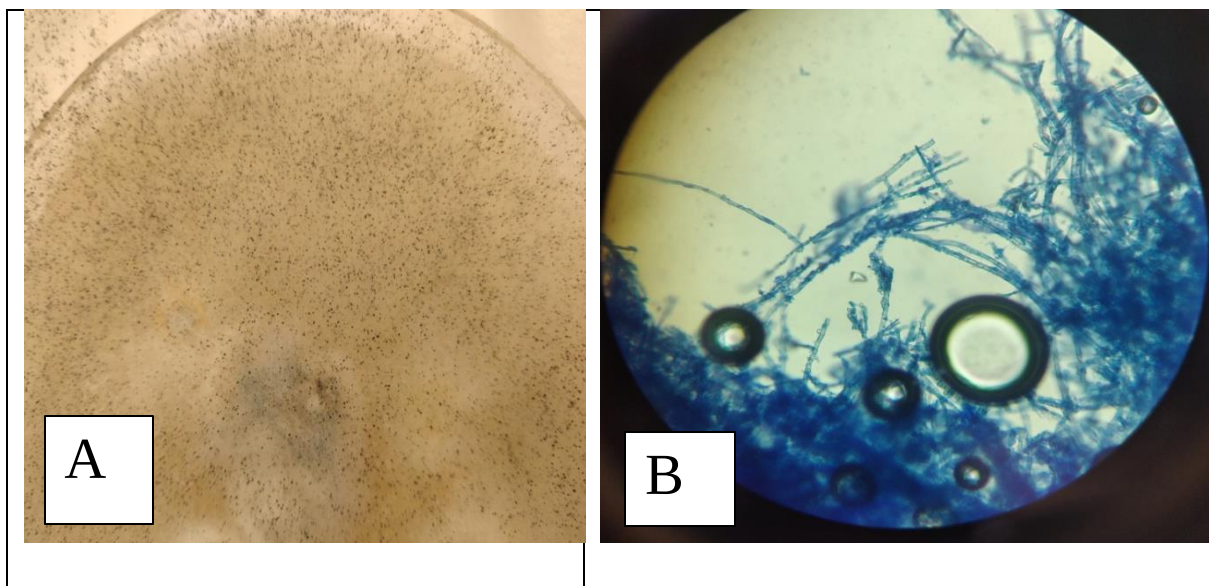
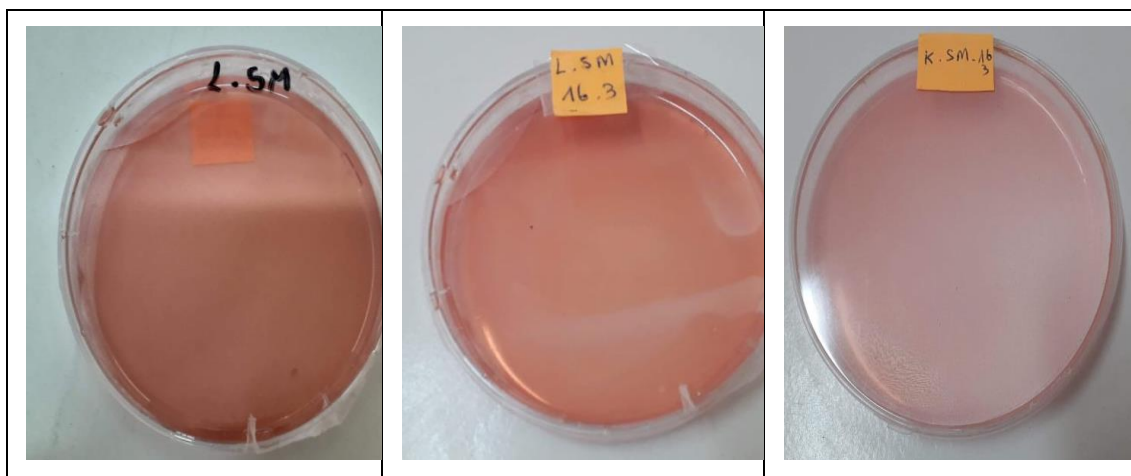


Figure 16:colonie *Rhizopus sp.*, A) observation macroscopique B) observation microscopique

2.1.4 *Staphylococcus aureus*

L'isolements *Staphylococcus aureus* a été effectuer sur milieu Chapman selon la méthode de suspension déluions

Après la phase d'incubation, les résultats obtenus montrent l'absence totale de *Staphylococcus aureus* dans nos échantillons (Figure 17.)



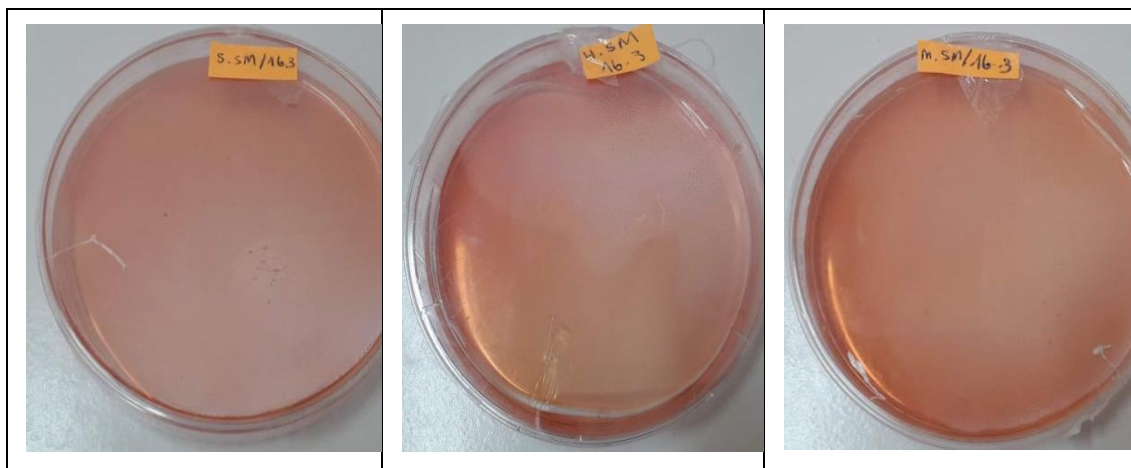


Figure 17:absence de *Staphylococcus aureus* dans nos échantillons

Discussion

Le miel présente la caractéristique d'empêcher la multiplication de la quasi-totalité des microorganismes grâce à sa composition particulière et ses propriétés physico-chimiques (forte teneur en sucre, faible teneur en eau libre, pH acide...). Les résultats obtenus concernant la recherche des microorganismes montrent leur absence totale dans les échantillons d'origine florale (sidra, loubane et herbe saharienne) analysés.

L'absence de ces microorganismes traduit la bonne qualité du miel.

Tandis que les résultats de dénombrements sur milieu Sabouraud montrent la contamination des échantillons d'origine florale (Kharoube, mélange) par des champignons du genre : *Alternaria*, *Aspergillus*.

La source de microorganismes retrouvés dans le miel peut être les pollens, tubes digestifs des abeilles, air, sol et le nectar. Cette contamination peut aussi provenir des traitements subis par le miel aux cours de son extraction et de sa conservation selon plusieurs auteurs **Kacaniova, (2009), CAA (2015), Grabowski et Klein (2015)**.

Plusieurs espèces du genre *Aspergillus* sont également connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies humaines et animales (mycotoxicoses), (**Samson, 2014**). Parmi les mycotoxines produites par ce genre, les aflatoxines et les ochratoxines sont celles qui représentent le plus de risques pour la santé. À cause de leur capacité à envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses tel que les mycoses pulmonaires (**Morin, 1994**).

Au cours de cette étude trois genres ont été identifiés avec des proportions variables. Les genres fongiques isolés à partir le miel de kharoube sont : *Aspergillus* et *rhizopus* et les genres fongiques isolés à partir le miel de mélange sont : *Aspergillus niger* et le genre de *l'Alternaria*.

Nous avons observé que la présence de moisissures dans le miel de kharoube et de

Résultat et discussion

mélange par contre les autres échantillons ; sidra, loban et herber saharienne. Ces différences pourraient être liées aux variations des facteurs climatiques, période de la récolte, pendant le transport et conditions de stockage. En effet, le contrôle des taux d'humidité et des températures pendant le stockage est important pour éviter la croissance des moisissures.

Les résultats obtenus concernant la recherche des levures montrent leur absence totale dans les échantillons analysés, Il est à signaler qu'il existe une relation directe entre la quantité des levures et le taux d'humidité de miel. En effet, (**BRUNEAU ,2011**) annonce que les miels humides sont très riches en levures. Ceci est le cas d'échantillon de Soudan où on a trouvé qu'il est le miel le plus humide parmi les types de miels analysé. Par l'analyse des miels du (**MAROC, NAMAN ,2005**), ces valeurs sont proches de celles trouvées pour le miel importé du Kuwait. (**IURLINA et FRITZ ,2005**).

Ces levures proviennent du pollen et des pattes, langues et jabots des abeilles, contaminés au contact des nectaires floraux et éventuellement des fruits mûrs ; elles risquent de provoquer une fermentation (**FLECHE, 1997**). La présence des levures et des moisissures peut être expliqué aussi par le pH (pH, acide), Ce dernier favorise la multiplication des champignons.

La recherche microbienne des staphylocoques aureus sur milieu Chapman montre leur absence totale dans les miels analysés, ont montré l'efficacité de miel contre les germes isolés *S. staphylococcus*, (**ATTIPOU , (1998)**). Cela prouve que le miel de la région de Laghouat du miel, a une propriété antibactérienne .

Par contre le miel **Bakary, C. (2019)** de la Région du Worodougou, Côte d'Ivoire a présenté un taux de contamination en *staphylococcus aureus* Ces résultats sont en accord avec les résultats de (**Carlos, 2017**)

Leur présence dans le miel MW (un échantillon de la région du orodougou) peut être due à une mauvaise manipulation. *S. aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections. La croissance de *S. aureus* dans les aliments constitue un risque pour la santé publique parce que certaines souches produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une toxiinfection alimentaire se traduisant par des vomissements violents accompagnés de diarrhée.

La qualité microbiologique des miels de cette étude est bonne on général comme il contient des propriété antibactérienne et absence totale des levures et absence totale de moisissures dans les trois échantillons (sidra, loban et herber saharienne).et La moisissure se trouve dans deux types de miel (Kharoube, mélange). Il convient donc de faire des

Résultat et discussion

recommandations sur l'hygiène et le contrôle sanitaire aux producteurs de miels (Kharoube, mélange) et contrôler les conditions de stockage de la localité de Laghouat.

Conclusion

Conclusion générale

Ce travail a permis d'évaluer les caractéristiques physico-chimiques et la qualité microbiologique de quelques échantillons du miel de la région de Laghouat.

La connaissance des caractéristiques physico-chimiques des miels est essentielle pour l'évaluation de la bonne qualité du miel. Ainsi, certaines participent à l'identification de l'origine florale d'un miel, d'autres paramètres comme les sucres, l'humidité, le pH et l'acidité, la conductivité électrique et la teneur en cendres déterminent sa qualité et sa stabilité dans le temps.

La détermination du taux d'humidité dans les échantillons de miel étudiés est importante pour la qualité du miel. Elle nous a permis de connaître les conditions de stockage, la fermentation de miel, le climat et les conditions d'extraction de miel. Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons de miel étudiés contiennent un taux d'humidité inférieur ou égale à 16.6%. La fermentation devient rare dans les miels ayant une teneur en eau inférieure à 21% c'est le cas de tous nos échantillons.

La détermination de la conductivité électrique et le contenu des cendres dans les échantillons de miel nous a permis de connaître l'origine de miel et le contenu minéral du nectar. Les résultats des conductivités électriques et les teneurs en cendres obtenus révèlent que tous les échantillons du miel étudié sont des miels de nectar.

La mesure du pH et l'acidité d'échantillon du miel étudiés sont aussi importants pour connaître le type du miel. Les résultats du pH révèlent que les échantillons présentent un pH inférieur à 3.26.

Les différents paramètres étudiés montrent que les échantillons de miel collectés chez les différents apiculteurs sont de bonnes qualités par rapport aux normes internationales. Toutes fois, la qualité du miel est affectée par différents facteurs dont dépend la qualité : L'origine botanique et géographique, les conditions climatiques de récolte, les conditions et les méthodes d'extraction, les conditions de stockage et de transport, la nourriture de l'abeille et la richesse botanique de la région.

Les échantillons du miel analysés ne relèvent pas de contamination par les *Staphylococcus*

Conclusion

aureus. Cela est dû au fait que le miel a une propriété contre les bactéries, comme nous l'avons mentionné précédemment. Tous les miels sont dépourvus de levures et moisissures excepté le miel de Kharoube, mélange. Ces différences pourraient être liées aux variations des facteurs climatiques, période de la récolte, pendant le transport et conditions de stockage.

La détermination des contaminants chimiques, des micronutriments et des vertus thérapeutiques serait nécessaire pour mieux valoriser les miels et autres produits de la ruche de la willaya de Laghouat.

- **En perspective** il serait intéressant d'élargir cette étude sur plusieurs autres types de miel et d'étudier d'autres paramètres physicochimiques.

Références bibliographiques

LIVRE :

International, A. (1990). *Official Methods of Analysis of Aoac International*. USA.

Article :

Bakary, C. (2019). *Qualité Microbiologique, Propriétés du miel*. Worodougou, Côte d'Ivoire: European Scientific Journal.

Mémoire :

- [1] Al M.L., Dezmiorean D. , Moise A. Bobis O. ,Laslo L. et Bogdanov S. 2009. Physicochemical and bioactive properties of different floral origine honeus from Romania. Food chemistry. 112 : 863-867. Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran, p. 28-43.
- [2] Al-Mamary M. Al-Meer A., Al-Habori M. (2002). Antioxidant activités and totalphénolics of different types of honey. Nutrition Research 22. 1041-1047.
- [3] Alqarni A.S., Owayss A.A., Mahmoud A.A., Hannan M.A., (2014)., Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia., Journal of Saudi Chemical Society., 18(5), 618-625.
- [4] Alqarni AS, Owayss AA et Mohamed AA. (2012). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. Arab.J. Chem. (Inpress).
- [5] Amri A. : (2016)., Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique., Thèse de doctorat en Biochimie., P : 40-65.
- [6] ATTIPOU K., ANOUKOUM T., AYITE A., MISSOHOU K. et JAMES K. 1998 – Traitement des plaies au miel expérience du CHU de Lomé. Médecine d'Afrique
- [7] Azeredo L. C., Azeredo M. A. A., Souza S.R. de et Dutra V.M.L. 2003. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different floral origins. Food chemistry. 80: 249-254.
- [8] Bogdanov S. 2002. Harmonised methods of the international honey commission: 1-62. Bogdanov S, Martin P, Lü lman C, Borneck R, Morlot M, Heritier J, Vorwohl G, Russmann H, Persano-Oddo L, Sabatini A G, Marcazzan G L, Marioleas P, Tsigouri A, Kerkvliet J, Ortiz A et Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of The European Honey Commission. Apidologie .1– 59.
- [9] Bogdanov S., Beiri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Kanzing A. Stochli H et Zurcher K. 1995. Miel : définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. In << Livre Suisse des denrées alimentaires >>. Ed. OCFIM : 1-26.
- [10] Bogdanov S., Ruoff k. et Oddo L. P. 2004. Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honey: a review. Apidologie. 35: 4-17.
- [11] Botton B, Bretton , A FEVER M; GAUTIER S, GUY Ph Larpent j, p REYMOND P ; P SAN, P 1990; Moisissures utile et nuisible importance industrielles, (edn) Masson, Paris
- [12] CAA. (2015). Codigo Alimentino Argentino. www. Alimentos argentinos.gov.ar / contenido / marco / capitulos pdf (29/03/2018)

Référence bibliographique

- [13] Champion, R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Éditions Quae.
- [14] Chefrour A., Battesti M.-J., Ait K., Tahar A. : (2007)., Melissopalynologic and physicochemical analysis of some north-east Algerian honeys., *European Journal of Scientific Research*, 18, 389–401.
- [15] Chouia, A. (2014). Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- [16] Codex Alimentarius (2001). Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, *Revue*, 1(1987). 2, 1-7.
- [17] Codex norme pour le miel Codex Stan 1981. Norme adoptée en 1981. Révisions en 1987 et 2001.
- [18] Cuevas-Glory, Pino Jorg A., Santiago Louis S., Sauri-Duch E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry* 103 (2007) 1032-1043.
- [19] Delphine I. (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies Doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université de Limoges, pp. 56-57. Faculté de pharmacie. Université Poincaré de Nancy 1, pp. 17-37.
- [20] Directive Council of the European Union (2002)., Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. *Official Journal of the European Communities*, L10 200.
- [21] Doukani K., Tabak S., Derriche A., Hacini Z. : (2014)., Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37- 49.
- [22] El Sohaimy S.A., Masry S.H.D., Shehata M.G. : (2015)., Physicochemical characteristics of honey from different origins., *Annals of Agricultural Science*, 60(2), 279–287.
- [23] Fléché C. Clément S. Zeggan J.P. et Faucon. (1997) contamination des produits de la ruche et risques pour la santé humaine.
- [24] Gleiter R. A., Horn H. and Isengard H. D. (2006). Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. *Food Chemistry*. 96: 441-445.
- [25] Gomes S, Dias L G, Moreira L L, Rodrigues P et Estevinho L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food Chem. Toxicol.* 48, 544-548.
- [26] Gonnet M. (1982). Le miel : composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture, 1982 : 1-18.
- [27] Grabowski NT et Klein G. (2015). Microbiology and food-borne pathogens in honey. *Crit. Rev. Food. Sci Nutr*.
- [28] Habati M. Contribution à la valorisation des différents types des échantillons de miel et de propolis collectées dans la région de Laghouat (2018).
- [29] Habati M. Contribution à la valorisation des différents types des échantillons de miel et de propolis collectées dans la région de Laghouat (2018).
- [30] Hoyet C. (2005). Le miel : De la source à la thérapeutique. Thèse de pharmacie en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Poincaré de Nancy 1, pp. 17-37
- [31] Huchet E, Coustel J et Guinot L. (1996). Les constituants chimiques du Miel.

Référence bibliographique

Méthodes d'analyses chimiques -Département Science de l'Aliment. 2ème Edition. OPIDA, pp.168-172.

[32] Jean-prost et Médori P. 2005. Apiculture (Connaitre L'abeille – Conduire le rucher). Ed. 7e édition. TEC et DOC. Lavoisier, Paris. ISBN : 2-7430-0787-7. Pp : 379-419.

[33] Jean-prost P. 1987. Apiculture (Connaitre L'abeille- Conduire le rucher). Ed. 6ème édition TEC et DOC. Lavoisier, Paris. ISBN : 2-85206-375-1. Pp : 309-341.

[34] Jean-prost P. 1987. Apiculture (Connaitre L'abeille- Conduire le rucher). Ed. 6e édition TEC et DOC. Lavoisier, Paris. ISBN : 2-85206-375-1. Pp : 309-341.

[35] Kacaniová M, Melich M, Knazovická V, Hascik P, Sudzinová J, Pavlicová S, Cubon J. (2009). The indicator Microorganism value in relation to primary contamination of honey. *Lucrari zootehnice si biotehnologii*; 42:159-66

[36] Küçük M., Kolaylı S., Karaoglu S., Ulusoy E., Baltacı C. et Candan F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*. 100: 526-534.

[37] Larone D., 2011. Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 5th Ed., American Society for Microbiology Press, Washington, DC., USA., 584 pp. Morin O., 1994. *Aspergillus et aspergilloses: biologie*, Ed. Techniques Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses. 8-600-A-10.

[38] Larone D., 2011. Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 5th Ed., American Society for Microbiology Press, Washington, DC., USA., 584 pp.

[39] Lazarido A., Biliaderis C G. et Bacandritsos N. 2004. Composition, thermal and rheological behavior of selected Greek honeys. *Journal of Food engineering*. 64 : 9-21.

[40] Lequet L. (2010). Du Nectar au Miel de Qualité : Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Claude-Bernard Lyon I, France, pp.46-121.

[41] Lobreau-Callen D, Clément M-C et Marmion V. (1999). Les miels. In «Techniques de l'ingénieur », 1-20.

[42] Makhloufi C. : (2011)., melissopalynologie et étude des éléments Bioactifs des miels algériens., Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques.

[43] Malika N., Mohammed F., Chakib E. : (2005)., Microbiological and Physicochemical properties of Moroccan honey., *International Journal of Agriculture and Biology*., 7, 773–776.

[44] Marceau J., Norea J. and Houle E. (1994). Les HMF et la qualité du miel. *L'abeille*, 15 (2) : 1-5.

[45] Meda A, Lamien C E, Romito M, Millogo J et Nacoulma O G. (2005). Determination of total, phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem*. 91, 571– 577.

[46] Meda A. (2005). Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phyto chimique et activités biologiques des miels du Burkina Faso. Thèse de Doctorat de Sciences Biologiques Appliquées. Faculté des Sciences de la vie et de la terre. Université d'Ouagadougou, pp.15-22.

[47] Melliou Eleni, Chinou Ioanna (2011). Chemical constituents of selected unifloral Greek bee-honies with antimicrobial activity. *Food Chemistry* 129 :284-290.

Référence bibliographique

- [48] Morin O., 1994. *Aspergillus et aspergilloses: biologie*, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses. 8-600-A-10.
- [49] Nair S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran, p. 28-43.
- [50] Nanda v., Sarkar B. C., Sharma H. K. and Bawa A. S. (2003). Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 613-619.
- [51] Ouchemoukh S. 2003. Caractérisation physico-chimique d'échantillons de miel d'origine locale. Th. Magistral. Département de Biologie Physico-Chimique. Biochimie. Université Abderhmane Mira de Béjaia. Pp : 52.
- [52] Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P. : (2007)., Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys., *Food Control*, 18, 52-58.
- [53] Paulus H., Kwakman S. and Sebastian A. j. Zaat (2012). Antibacterial Components of honey. *IUBMB Life*. 64 (1): 48-55.
- [54] Pesenti Marion E., Spinelli Silvia., Bezirard Valérie., Briand Loïc., Pernollet Jean- Claude., Tegoni Mariella., Cambillau Christian. : (2008)., Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change., *Journal of Molecular Biology*., 380 (1), 158-169
- [55] Phillippe Jean Marie., 1991. La pollinisation des abeilles. Ed edisud la calade. 13090 Aix en. Provence. Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université.
- [56] Rebiai, A., T. Lanez. : (2014)., Comparative Study Of Honey Collected From Different Flora Of Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*., 6(1), 48-55.
- [57] Rossant A. (2011). Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Rustica, 2002, p. 354-384.
- [58] Sancho M.T. ; Muniategui S.; Sanchez M.P.; Huidobro J.F.; et al. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP (Brazil). [Corporate Author] Facultad de Farmacia, Santiago de Compostela (Spain). Departamento de Quimica Analitica Nutricion y Bromatologia, Area de Nutricion y Bromatologia [Corporate Author]
- [59] Sanz M L, Gonzalez M, Lorenzo C, Sanz J et Martinez-Castro I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem*. 91, 313- 317.
- [60] Saxane S., Gautam S. et Sharma A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*. 118: 391-397.
- [61] Silva L.R., Videira R., Monteiro A.P., Valentão P., Andrade P.B. : (2009)., Honey from luso Region (Portugal) : physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*., 93(1), 73-77.
- [62] Terrab A. Diez M. J. et Heredia D. et Heredia F. J. 2004. Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*. 88 :537-542.
- [63] Terrab A., Diez M. J., Heredia F.J. : (2003)., Palynological, Physicochemical

Référence bibliographique

- and color characterization of Moroccan honeys : Orange (Citrus sp.) honey., International Journal of Food Science and Technology., 38, 387-394.
- [64] Tojonirina R R. (2008). Caractéristiques nutritionnels et organoleptiques de quelques variétés de miel de Madagascar. Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie appliquée aux sciences de l'alimentation et de la nutrition. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, p.3.Vie, Biskra, pp.6-7.
- [65] Weston R J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey. Food Chem. 71, 235-239.
- [66] Zamora M. C. et chirifi j. 2006. Determination of water activity change due to crystallization in honey from Argentina. Food Control. 17:59-64.
- [67] Zerrouk S., Boughediri L., Carmen MS., Fallico B., Arena E., Ballistreri G. : (2013)., Pollen spectrum and physicochemical attributes of sulla (Hedysarum coronarium) honeys of Médéa region (Algeria). Albanian Journal of Agricultural Science., 12 (3) : 511-517.
- [68] Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P. 2002. Cahier de formation Biologie médicale, Les moisissures d'intérêt médical, France : Bioforma. 160p

Annexe

Tableau de Chataway (Annexe 1)

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g
1.5044	13.0	1.4880	19.4
1.5038	13.2	1.4875	19.6
1.5033	13.4	1.4870	19.8
1.5028	13.6	1.4865	20.0
1.5023	13.8	1.4860	20.2
1.5018	14.0	1.4855	20.4
1.5012	14.2	1.4850	20.6
1.5007	14.4	1.4845	20.8
1.5002	14.6	1.4840	21.0
1.4997	14.8	1.4835	21.2
1.4992	15.0	1.4830	21.4
1.4987	15.2	1.4825	21.6
1.4982	15.4	1.4820	21.8
1.4976	15.6	1.4815	22.0
1.4971	15.8	1.4810	22.2
1.4966	16.0	1.4805	22.4
1.4961	16.2	1.4800	22.6
1.4956	16.4	1.4795	22.8
1.4951	16.6	1.4790	23.0
1.4946	16.8	1.4785	23.2
1.4940	17.0	1.4780	23.4
1.4935	17.2	1.4775	23.6
1.4930	17.4	1.4770	23.8
1.4925	17.6	1.4765	24.0
1.4920	17.8	1.4760	24.2
1.4915	18.0	1.4755	24.4
1.4910	18.2	1.4750	24.6
1.4905	18.4	1.4745	24.8
1.4900	18.6	1.4740	25.0
1.4895	18.8		
1.4890	19.0		
1.4885	19.2		

Annexe

Tableau de grille de brix (Annexe 2) :

Brix %	n_d^{20}	Brix %	n_d^{20}	Brix %	n_d^{20}	Brix %	n_d^{20}
0	1,33299	24	1,37058	48	1,41587	72	1,47031
1	1,33442	25	1,37230	49	1,41795	73	1,47279
2	1,33587	26	1,37404	50	1,42004	74	1,47529
3	1,33732	27	1,37579	51	1,42215	75	1,47781
4	1,33879	28	1,37755	52	1,42428	76	1,48055
5	1,34027	29	1,37933	53	1,42642	77	1,48291
6	1,34175	30	1,38112	54	1,42858	78	1,48548
7	1,34325	31	1,38292	55	1,43075	79	1,48808
8	1,34477	32	1,38474	56	1,43294	80	1,49069
9	1,34629	33	1,38658	57	1,43515	81	1,49333
10	1,34722	34	1,38842	58	1,43738	82	1,49598
11	1,34937	35	1,39029	59	1,43962	83	1,49866
12	1,35093	36	1,39216	60	1,44187	84	1,50135
13	1,35249	37	1,39406	61	1,44415	85	1,50407
14	1,35407	38	1,39596	62	1,44644	86	1,50681
15	1,35567	39	1,39789	63	1,44875	87	1,50955
16	1,35727	40	1,39982	64	1,45107	88	1,51233
17	1,35889	41	1,40177	65	1,45342	89	1,51514
18	1,36052	42	1,40374	66	1,45578	90	1,51797
19	1,36217	43	1,40573	67	1,45815	91	1,52080
20	1,36382	44	1,40772	68	1,46055	92	1,52368
21	1,36549	45	1,40974	69	1,46266	93	1,52658
22	1,36718	46	1,41177	70	1,46539	94	1,52950
23	1,36887	47	1,411381	71	1,46784	95	1,53246