

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

# THÈSE

En vue de l'obtention  
du diplôme de DOCTORAT en Sciences  
En Biochimie

Option : Biochimie appliquée

## Caractérisation physico-chimique et appellation botanique des miels Algériens (Cas des ruches langstroth)

Présentée par: M<sup>me</sup> Radia DRAIAIA

Directeur de thèse : M. Azzedine Chefrour

Professeur, Université Souk Ahras

### Membres de Jury:

Président : M. Mahfoud Messarah

Professeur, Université d'Annaba

Examinatrice : M<sup>me</sup> Yasmina Ait Kaki

Professeur, Université d'Annaba

Examinatrice : M<sup>me</sup> Salima Bennadja

Professeur, Université d'Annaba

Examineur: M. Abdellah Ouldjaoui

MCA., Université Oum El Bouaghi

Examineur: M. Mouloud Boulkhessaim

MCA., Université Oum El Bouaghi

Année Universitaire : 2015-2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ  
كُلِي مِنَ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ  
فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (69).

صدق الله العظيم

### سورة النحل الآية: (68) و (69).

Dans le Coran, Dieu, dont le nom est béni et exalté, dit

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

Sourat Les abeilles 16, Aya 68 et 69.



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

Isocrate

(orateur attique  
grec : 436-338 av. J.-C.)



## REMERCIEMENTS

J'adresse mes vifs remerciements et toute ma gratitude à mon encadreur Professeur **Azzedine Chefrour** pour son aide précieuse surtout pour l'étude mellisopalynologique, son soutien, sa patience qu'il m'a apporté en vue de concrétiser ce travail et je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance pour les encouragements.

Il m'est agréable d'exprimer toute ma reconnaissance et mes remerciements à Monsieur **Messarah Mahfoud** Professeur à l'université de Annaba pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et pour nous avoir honoré de présider le jury de cette thèse malgré ses nombreuses autres obligations.

J'exprime ma gratitude à Mesdames **Yasmína Ait Kaki** et **Salima Bennadja** Professeur à l'université d'Annaba d'avoir accepter d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à Monsieur **Abdellah Ouldjaoui** et à Monsieur **Mouloud Boulkhessaim** maîtres de conférences à l'université Oum el Bouagui d'avoir accepter d'examiner ce travail

J'exprime ma reconnaissance à mon oncle professeur **Gouasmia Abdelkarim** pour ses conseils et ses remarques qui m'ont beaucoup aidé à améliorer la rédaction de ce mémoire, qu'il trouve ici l'expression de mes vifs remerciements.

Je remercie vivement monsieur **Hadef**, professeur, directeur de laboratoire Chimie analytique, Département de Pharmacie à l'université d'Annaba pour la confiance qu'il m'a témoignée en



acceptant de m'accueillir au sein du laboratoire, ainsi que pour la disponibilité dont il a fait preuve à mon égard.

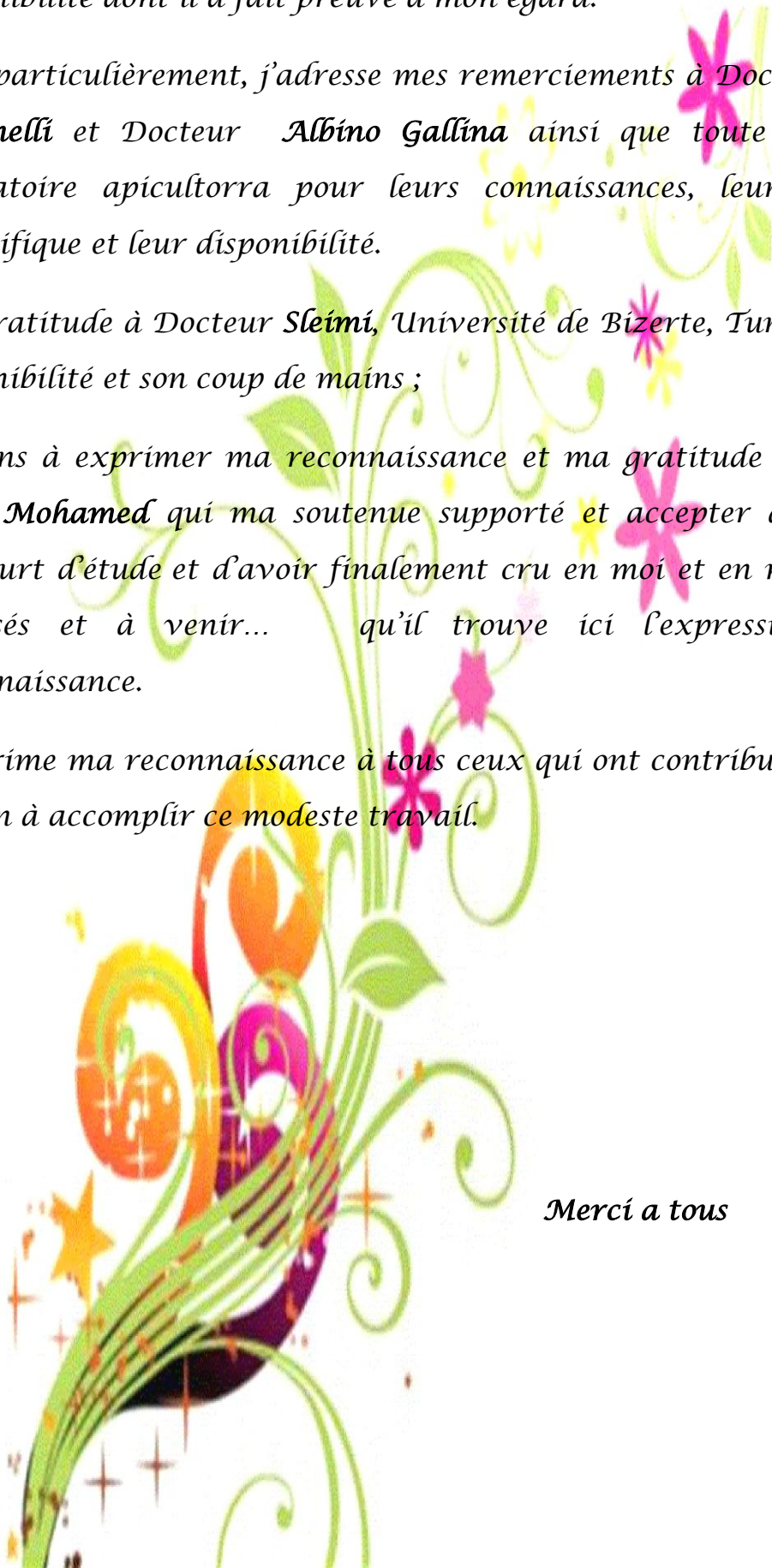
Tout particulièrement, j'adresse mes remerciements à Docteur **Franco Mutinelli** et Docteur **Albino Gallina** ainsi que toute l'équipe de laboratoire apicultorra pour leurs connaissances, leur générosité scientifique et leur disponibilité.

Ma gratitude à Docteur **Sleimi**, Université de Bizerte, Tunisie pour sa disponibilité et son coup de mains ;

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à mon cher mari **Mohamed** qui ma soutenue supporté et accepter durant mon parcourt d'étude et d'avoir finalement cru en moi et en mes objectifs ...passés et à venir... qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.

**Merci a tous**



## *Dédicace*

*A la mémoire de mon grand père AHMED que dieu  
repose son âme en paix*

*A mes très chers parents ceux qui m'ont donnés la  
vie, qui m'ont étaient la source de l'amour, de la  
tendresse, et du courage, qui m'ont et qui vont  
me soutenir Inchalah durant toute ma vie, en témoignage de  
mon profond amour et respect :*

*Saliha et Beddiaf*

*A mon cher mari Mohamed*

*A mes filles Nourssine et Alla*

*A mes sœurs et mon frère*

*A mes beaux parents*

*A mes grandes mères, tantes et oncles*

## TABLE DES MATIERES

|                        |    |
|------------------------|----|
| Remerciements          |    |
| Liste des figures      | I  |
| Liste des tableaux     | IV |
| Liste des abréviations | V  |

|                     |          |
|---------------------|----------|
| <b>INTRODUCTION</b> | <b>1</b> |
|---------------------|----------|

### **PARTIE THEORIQUE**

#### **CHAPITRE I : PARLON D'APICULTURE EN ALGÉRIE ET LES PRODUITS DE LA RUCHE**

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.1 Généralité sur l'apiculture en Algérie</b>                                 | <b>4</b>  |
| 1.1.1 Races d'abeilles en Algérie et leur origine, classification et répartition. | 4         |
| 1.1.2 Grandes zones apicoles en Algérie                                           | 7         |
| <b>1.2 Produits de la ruche</b>                                                   | <b>15</b> |
| 1.2.1 Pollen                                                                      | 15        |
| 1.2.2 Gelée royale                                                                | 17        |
| 1.2.3 Propolis                                                                    | 21        |
| 1.2.4 Cire d'abeille                                                              | 24        |
| 1.2.5 Venin d'abeille                                                             | 25        |

#### **CHAPITRE II : MIEL, OR SUCRÉ ET PRODUIT SACRÉ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 L'avis des écrits religieux                                             | 29 |
| 2.2 Définition du Miel                                                      | 31 |
| 2.3 Différents types de miel                                                | 32 |
| 2.4 Le miel de la ruche aux pots                                            | 37 |
| 2.5 Le miel est un aliment ou un remède ?                                   | 39 |
| 2.5.1 Valeur alimentaire et diététique                                      | 39 |
| 2.5.2 Valeur thérapeutique                                                  | 40 |
| 2.6 Propriétés biologiques                                                  | 42 |
| 2.6.1 Propriété antibactérienne                                             | 42 |
| 2.6.2 Propriété anti-oxydante                                               | 42 |
| 2.7 Cas d'intoxication                                                      | 43 |
| 2.8 Facteurs qui influencent la qualité d'un miel au cours de l'entreposage | 45 |

### **CHAPITRE III : PROPRIETES PHYSICO-CHIMIES DU MIEL**

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1 Composition du miel                                                                                                    | 48 |
| 3.2 Propriétés physico-chimiques du miel                                                                                   | 48 |
| 3.2.1 Propriétés physiques                                                                                                 | 48 |
| 3.2.2 Propriétés chimiques                                                                                                 | 50 |
| 3.3 Qualité de miel et source de contamination et adultération                                                             | 60 |
| 3.3.1 Contaminations environnementales et leur détection dans le miel                                                      | 60 |
| 3.3.2 Contaminations humaines et leur détection dans le miel                                                               | 62 |
| 3.3.3 Adultération et Normes                                                                                               | 64 |
| 3.3.3.1 Adultération                                                                                                       | 64 |
| 3.3.3.2 Limites Maximales Résiduelles et la réglementation relative à la composition moyenne du miel « qualité et normes » | 65 |

### **PARTIE PRATIQUE**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>OBJECTIFS DU TRAVAIL</b> | 66 |
|-----------------------------|----|

### **CHAPITRE IV : CARACTERISATION PHISICOCHEMIQUE ET APPELLATION BOTANIQUE DE QUELQUE ECHANTILLON DE MIELS ALGERIENS**

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1 Introduction                                                                   | 67 |
| 4.2 Présentation et répartition des miels étudiés                                  | 67 |
| 4.2.1. Matériels biologique                                                        | 67 |
| 4.2.2. Matériel et méthodes pour les analyses physicochimiques                     | 68 |
| 4.2.2.1 Mesure de l'indice de réfraction, teneur en eau et teneur en matière sèche | 68 |
| 4.2.2.2 Mesure de densité                                                          | 68 |
| 4.2.2.3 Détermination de la conductivité électrique                                | 69 |
| 4.2.2.4 Dosage des cendres (Matières Minérales)                                    | 69 |
| 4.2.2.5 Potentiel hydrogène (pH)                                                   | 69 |
| 4.2.2.6 Dosage de l'acidité : L'acidité libre, combinée et totale                  | 71 |
| 4.2.2.7 Dosage de l' Hydroxy MéthylFurfural (HMF)                                  | 71 |
| 4.2.2.8 Mesure de l'indice diastasique                                             | 72 |
| 4.2.2.9 Dosage des protéines                                                       | 73 |
| 4.2.2.10 Dosage des sucres                                                         | 74 |
| 4.2.3. Méthodes d'analyse pollinique                                               | 75 |
| 4.2.3.1 Connaissances préalables pour l'analyse                                    | 75 |



|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.3.1.1 Principe et historique pour l'analyse                                       | 75  |
| 4.2.3.1.2 Problèmes posés par l'analyse pollinique                                    | 77  |
| 4.2.3.2 Méthodologie                                                                  | 77  |
| 4.2.3.2.1 Confection des préparations pour l'analyse quantitative et qualitative      | 78  |
| et qualitative                                                                        |     |
| 4.2.4. Analyses statistique                                                           | 79  |
| 4.3 Résultats et discussion                                                           | 80  |
| 4.3.1. Résultats analyses physicochimique                                             | 80  |
| 4. 3.1.1. Teneur en eau                                                               | 80  |
| 4. 3.1.2. Teneur en matière sèche                                                     | 83  |
| 4.3.1.3. Densité                                                                      | 85  |
| 4.3.1.4. Dosage de conductivité électrique                                            | 88  |
| 4.3.1.5. Dosage de la matière minérale (cendre)                                       | 90  |
| 4.3.1.6. Potentiel d'hydrogène (pH)                                                   | 93  |
| 4.3.1.7. Dosage d'acidité : Acidité libre, combinée et totale                         | 97  |
| 4.3.1.8. Taux d'HMF                                                                   | 102 |
| 4.3.1.9. Mesure de l'indice diastasique                                               | 106 |
| 4.3.1.10. Dosage des protéines                                                        | 109 |
| 4.3.1.11. Dosage du saccharose                                                        | 111 |
| 4.3.1.12. Dosage des sucres totaux                                                    | 114 |
| 4.4 Résultats de la méliissopalynologie                                               | 116 |
| 4.4.1. Analyse quantitative                                                           | 116 |
| 4.4.2. Analyse des spectres polliniques                                               | 119 |
| 4.4.2.1. Taxons présents dans les miels d'étude                                       | 119 |
| 4.4.2.2. Classement des taxons en fonction de leur présence par rapport à la totalité | 121 |
| des échantillons                                                                      |     |
| 4.4.2.3. Familles présentes dans n échantillons                                       | 138 |
| 4.4.2.4. Catégories des miels en fonction de leur contenu pollinique                  | 142 |
| 4.5 Etude statistique                                                                 | 147 |
| 4.5.1. Matrice de corrélation                                                         | 147 |
| 4.5.2. Dendrogramme de Ward et la distance euclidienne                                | 148 |
| <b>CHAPITRE V : QUALIFICATION ET RECHERCHE DE CONTAMINATION</b>                       |     |
| 5.1 Principe                                                                          | 151 |
| 5.2 Méthodologie                                                                      | 152 |
| 5.2.1. Matériel biologique                                                            | 152 |
| 5.2.2. Matériel expérimental                                                          | 152 |

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.2.1. Détermination l'intensité de couleur : $ABS_{635nm}$    | 152 |
| 5.2.2.2. Dosage des sucres                                       | 155 |
| 5.2.2.3. Résidus de Streptomycines                               | 156 |
| 5.2.2.4. Résidus de Tétracyclines                                | 157 |
| 5.2.2.5. Dosage des métaux lourds                                | 158 |
| 5.3 Résultats et discussion                                      | 159 |
| 5.3.1. Intensité de couleur : $ABS_{635nm}$                      | 159 |
| 5.3.2. SUCRE : glucose, fructose, saccharose et sucre réducteurs | 161 |
| 5.3.3. Recherche et dosage d'antibiotique                        | 166 |
| 5.3.4. Dosage de métaux lourds                                   | 169 |
| <b>CHAPITRE VI : DISCUSSION GENERALE</b>                         | 182 |
| <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>                                | 190 |
| <b>RESUME</b>                                                    | 196 |
| <b>SUMMARY</b>                                                   | 197 |
| <b>ملخص</b>                                                      | 198 |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>                               | 199 |
| <b>ANNEXES</b>                                                   | 246 |
| <b>PRODUCTION SCIENTIFIQUE</b>                                   |     |

## Liste des figures

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure1</b> : <i>Apis mellifera</i> dans la classification systématique                                                       | 5  |
| <b>Figure2</b> : Répartition géographique des 4 espèces du genre <i>Apis</i>                                                     | 5  |
| <b>Figure3</b> : Expansion de l'espèce <i>Apis mellifera</i> L                                                                   | 6  |
| <b>Figure4</b> : Ruche de type Dadant Dadant-Blatt et schéma de ruche Langstroh                                                  | 15 |
| <b>Figure5</b> : Pelotes de pollen                                                                                               | 16 |
| <b>Figure 6</b> : Larves baignant dans de la gelée royale                                                                        | 19 |
| <b>Figure 7</b> : Photos représentant une abeille récoltant la propolis                                                          | 21 |
| <b>Figure 8</b> : différentes couleurs et apparence de la propolis                                                               | 21 |
| <b>Figure 9</b> : Appareil inoculateur de l'ouvrière                                                                             | 25 |
| <b>Figure 10</b> : Appareil vulnérant et des glandes associées de l'ouvrière                                                     | 25 |
| <b>Figure 11</b> : Dard d'ouvrière - extrémité observée au microscope électronique à balayage                                    | 25 |
| <b>Figure 12</b> : Dard implanté dans une peau Humaine                                                                           | 26 |
| <b>Figure 13</b> : Peinture néolithique rupestre de la <i>Cueva de la Araña</i>                                                  | 29 |
| <b>Figure 14</b> : Scène de récolte de miel dans l'Égypte antique.                                                               | 30 |
| <b>Figure 15</b> : Exemples de nectaires Modifié                                                                                 | 33 |
| <b>Figure 16</b> : Producteurs de miellat blanche                                                                                | 34 |
| <b>Figure 17</b> : Méthode conventionnelle du traitement du miel                                                                 | 38 |
| <b>Figure 18</b> : Structure de HMF                                                                                              | 55 |
| <b>Figure19</b> : Schéma représentant la formation de l'hydroxyméthylfurfural                                                    | 56 |
| <b>Figure 20</b> : La formation du HMF à partir de glucose et de fructose.                                                       | 57 |
| <b>Figure21</b> : Carte de distribution des régions d'étude                                                                      | 70 |
| <b>Figure22</b> : Courbe d'étalonnage des protéines                                                                              | 74 |
| <b>Figure23</b> : Variation de la teneur en eau pour les échantillons analysés                                                   | 81 |
| <b>Figure24</b> : Etude de variation de la teneur en eau selon les régions d'étude                                               | 82 |
| <b>Figure25</b> : Distribution des échantillons étudiés selon les normes du Codex pour la teneur en eau                          | 82 |
| <b>Figure26</b> : Variation de taux de Brix° des miels étudiés                                                                   | 84 |
| <b>Figure 27</b> : Régression linéaire de la teneur en eau (%) et le taux de matière sèche (Brix°) pour les échantillons étudiés | 84 |
| <b>Figure 28</b> : Etude de variation de teneur en matière sèche selon les régions d'étude                                       | 85 |
| <b>Figure 29</b> : Variation de la densité des miels étudiés                                                                     | 86 |
| <b>Figure 30</b> : Etude de variation de la densité selon les régions                                                            | 87 |

|                                                                                                                                                |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figure 31:</b> Variation de la conductivité électrique des miels étudiés                                                                    | <b>88</b>  |
| <b>Figure 32:</b> Etude de variation de la conductivité électrique selon les régions                                                           | <b>89</b>  |
| <b>Figure 33 :</b> Distribution des échantillons étudiés selon les normes du <i>Codex</i> pour la conductivité électrique                      | <b>90</b>  |
| <b>Figure 34:</b> Variation de la teneur en cendre des miels étudiés                                                                           | <b>91</b>  |
| <b>Figure 35 :</b> Etude de variation des cendres selon les régions                                                                            | <b>92</b>  |
| <b>Figure36:</b> Va Régression linéaire de la teneur en cendres (%) et la conductivité électrique (CE; mS / cm) pour les échantillons étudiées | <b>93</b>  |
| <b>Figure 37:</b> Variation des pH des miels étudiés                                                                                           | <b>94</b>  |
| <b>Figure38 :</b> Distribution des échantillons étudiés selon les normes du <i>Codex</i> pour le pH                                            | <b>95</b>  |
| <b>Figure39 :</b> Etude de variation du pH selon les régions                                                                                   | <b>96</b>  |
| <b>Figure40 :</b> Variation de l'acidité libre des miels étudiés                                                                               | <b>98</b>  |
| <b>Figure41 :</b> Etude de variation de l'acidité libre selon les régions                                                                      | <b>99</b>  |
| <b>Figure42 :</b> (a)Variation de l'acidité des lactones des miels étudiés, (b) Variation en fonction de région                                | <b>100</b> |
| <b>Figure43 :</b> Variation de l'acidité totale des miels étudiés                                                                              | <b>100</b> |
| <b>Figure 44 :</b> Etude de variation de l'acidité totale selon les régions Algérienne                                                         | <b>101</b> |
| <b>Figure 45:</b> Variation de teneur en HMF des miels étudiés                                                                                 | <b>103</b> |
| <b>Figure 46 :</b> Distribution des échantillons étudiés selon les normes du <i>Codex</i> pour la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF)        | <b>103</b> |
| <b>Figure 47 :</b> Etude de variation de la teneur en HMF selon les régions Algérienne                                                         | <b>105</b> |
| <b>Figure 48 :</b> (a)Variation de l'activité diastasique des miels étudiés, (b) Variation en fonction de quatre régions                       | <b>108</b> |
| <b>Figure 49 :</b> Distribution des échantillons étudiés selon les normes du <i>Codex</i> pour l'activité diastasique                          | <b>108</b> |
| <b>Figure 50:</b> Variation de la teneur en protéine des miels étudiés                                                                         | <b>110</b> |
| <b>Figure 51:</b> Etude de variation de la teneur en protéine selon les régions Algérienne                                                     | <b>111</b> |
| <b>Figure 52:</b> Variation de saccharose des miels étudiés                                                                                    | <b>112</b> |
| <b>Figure53:</b> Etude de variation de la teneur en saccharose selon les régions Algérienne                                                    | <b>113</b> |
| <b>Figure 54:</b> Distribution des échantillons étudiés selon les normes du <i>Codex</i> pour le saccharose                                    | <b>114</b> |
| <b>Figure 55 :</b> Variation de sucres totaux des miels étudiés                                                                                | <b>115</b> |
| <b>Figure56:</b> Etude de variation de la teneur en saccharose selon les régions Algérienne                                                    | <b>115</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                 |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figure 57:</b> Présentation de l'analyse quantitative selon la classification de Maurizio (1968) et Battesti (1990)                                                                                                                                          | <b>120</b> |
| <b>Figure58:</b> Graphe représentant familles présents dans n échantillon                                                                                                                                                                                       | <b>139</b> |
| <b>Figure 59:</b> Diagramme pollinique de l'échantillon M4: Miel monofloral (Eucalyptus)                                                                                                                                                                        | <b>143</b> |
| <b>Figure60 :</b> Diagramme pollinique de l'échantillon M6 : Miel monofloral (Eucalyptus)                                                                                                                                                                       | <b>143</b> |
| <b>Figure 61 :</b> Diagramme pollinique de l'échantillon M13 : Miel polyfloral (région Centre)                                                                                                                                                                  | <b>144</b> |
| <b>Figure 62 :</b> Diagramme pollinique de l'échantillon M13 : Miel polyfloral (région Nord - Est)                                                                                                                                                              | <b>145</b> |
| <b>Figure63 :</b> Diagramme pollinique de l'échantillon M58 : Miel polyfloral (région Sud)                                                                                                                                                                      | <b>146</b> |
| <b>Figure64 :</b> Classification hiérarchique des différents variables pour l'ensemble des échantillons de miels                                                                                                                                                | <b>149</b> |
| <b>Figure 65 :</b> Échelle de <i>Pfund</i> ® utilisée pour l'étude de la couleur des miels                                                                                                                                                                      | <b>154</b> |
| <b>Figure66 :</b> Variation de l'intensité de couleur en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                      | <b>160</b> |
| <b>Figure67 :</b> Distribution des échantillons selon <i>Pfund</i>                                                                                                                                                                                              | <b>160</b> |
| <b>Figure 68:</b> Chromatogrammes de sucre de miel algérien (exemple de l'échantillon E1).                                                                                                                                                                      | <b>160</b> |
| <b>Figure 69:</b> Variation la teneur en fructose en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                          | <b>163</b> |
| <b>Figure 70 :</b> Variation la teneur en glucose en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                          | <b>163</b> |
| <b>Figure 71:</b> Variation la teneur en sucre réducteurs en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                  | <b>164</b> |
| <b>Figure 72:</b> Variation la teneur en saccharose en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                        | <b>165</b> |
| <b>Figure 73 :</b> Variation la teneur en saccharose en fonction des échantillons étudiés                                                                                                                                                                       | <b>166</b> |
| <b>Figure 74 :</b> Chromatogrammes de résidus de tétracycline par LC / MS de miel algérienne (a) (b) Exemple de l'échantillon E10, E13 avec présence de trace d'oxytétracycline (c), Échantillon E3 montrent une absence de résidu,(d) Standard de tétracycline | <b>167</b> |
| <b>Figure 75:</b> Chromatogrammes de streptomycine par HPLC dans miels algériens (a) Standard de streptomycine. (B) Exemple de miel algérien (E19) exempt de la streptomycine.                                                                                  | <b>168</b> |
| <b>Figure76:</b> Les teneurs en Zinc (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                      | <b>170</b> |
| <b>Figure 77:</b> Les teneurs en Fer (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                      | <b>172</b> |
| <b>Figure78:</b> Les teneurs en Chrome (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                    | <b>173</b> |
| <b>Figure 79:</b> Les teneurs en manganèse (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                | <b>175</b> |
| <b>Figure80:</b> Les teneurs en Cobalt (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                    | <b>177</b> |
| <b>Figure 81:</b> Les teneurs en plomb (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                    | <b>178</b> |
| <b>Figure 82:</b> Les teneurs en nickel (mg/Kg) dans les échantillons de miel                                                                                                                                                                                   | <b>180</b> |



## Liste des tableaux

|                                                                                                                             |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Tableau1 :</b> Composition de la gelée royale et besoin nutritifs                                                        | <b>20</b>  |
| <b>Tableau 2:</b> Composition de matière sèche du venin d'abeille                                                           | <b>28</b>  |
| <b>Tableau 3:</b> Différences de comparaison et certains paramètres physicochimique de miel de nectar et de miel de miellat | <b>36</b>  |
| <b>Tableau 4:</b> Noms de certaines plantes dont le nectar donne lieu à des miels toxiques                                  | <b>44</b>  |
| <b>Tableau5 :</b> Influence de la richesse en levures sur la fermentation des miels plus au moins riches en eau             | <b>46</b>  |
| <b>Tableau6 :</b> Durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/Kg de miel en fonction de la température de stockage      | <b>58</b>  |
| <b>Tableau 7:</b> Types de contamination des miels                                                                          | <b>61</b>  |
| <b>Tableau8 :</b> Dosage des protéines et réalisation de la gamme d'étalonnage                                              | <b>73</b>  |
| <b>Tableau9 :</b> Nombre des espèces présentes et leurs fréquences relatives dans n échantillons de miels.                  | <b>123</b> |
| <b>Tableau 10:</b> Fréquences relatives des familles botaniques dans les échantillons de miels                              | <b>140</b> |
| <b>Tableau11 :</b> Représentation géographique des échantillons de miels                                                    | <b>153</b> |
| <b>Tableau12 :</b> Couleur miel exprimée en absorbance et l'échelle <i>Pfund</i>                                            | <b>154</b> |
| <b>Tableau 13:</b> Résultats des sucres pour les échantillons étudiés                                                       | <b>162</b> |

## Liste des abréviations

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AOAC : Association of Official Agricultural Chemists

DA : Diastase Activity (Gothe)

DJMTP : Dose Journalière Maximale Tolérable Provisoire

DLUO : Date Limite d'Utilisation Optimale

DN : Diastase Number (Gothe)

EC : Electrical Conductivity (mS/cm)

EU : Union Européenne

F: Ruche fixe

HMF : Hydroxymethylfurfural

HPLC : High Performance Liquid Chromatographic

IHC : International Honey Commission

JECFA : Joint Expert Committee for Food Additives (Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires)

LMR : Limite Maximale Résiduelle

M:Moderne

NI : Pollen indéterminé

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

T:Traditionnelle

Tr: ruche transhumante



# *Introduction*





### Introduction

Plusieurs institutions internationales *Codex Alimentarius* (CL 1998/ 12 –S) , le projet de l'Union Européenne 96 / 0114(CNS) et le EU, 2001/110) définissent le miel comme une substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche.

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.

Au-delà de ses valeurs sus mentionnées, le miel jouit d'un statut important quelque soit la religion, représentant le symbole de la prospérité et aussi symbole d'abondance et de bénédiction (Sorkhi et al., 2012). L'islam aussi n'échappe pas à la règle et consacre une sourate aux abeilles et au miel.

Le miel est un mélange complexe et présente de très grandes variations dans la composition et les caractéristiques en raison de son origine géographique et botanique, ses principales caractéristiques en fonction de l'origine florale ou le nectar butiné par les abeilles (Kebede Nigussie et al., 2012; Saxena, 2010). La composition et la qualité du miel dépendent aussi de plusieurs facteurs environnementaux (Jones et al., 2011), de la maturité de miel, le mode de production, les conditions climatiques, le traitement et les conditions de stockage (Was et al., 2011). De même, la qualité et la composition du miel sont affectées négativement par d'autres facteurs tels que la suralimentation avec du saccharose et d'autres variantes de saccharose, la récolte avant la maturation du produit, les conditions de stockage malsaines et l'utilisation des médicaments vétérinaires galvaudé (Sahinler, 2004).

Le miel est composé principalement de sucre (glucose et fructose); son troisième grand composant est l'eau (Singh, 2012). Le miel contient également certains constituants mineurs tels que les protéines, enzymes, acides et des acides organiques, lipides, vitamines, (Blasa et al., 2006; Ball, 2007; Zerrouk et al., 2011), les alcaloïdes, auterquinone glycosides , les glycosides cardiotoniques, des flavonoïdes et les composés réducteurs (Singh, 2012).

Selon le *Codex* et de l'UE, le miel est un produit naturel et devrait être exempté de contaminant. D'autre part, la contamination du miel peut se produire par l'utilisation commune des antibiotiques comme la Streptomycine et son dérivé dihydrostreptomycine





(DHSTR) souvent associé à la tétracycline. Ces derniers sont utilisés comme médicaments vétérinaires ou des produits phytosanitaires à large spectre de formulation anti-infection (Brujnsvoort et al., 2004) parce qu'ils sont des traitements contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Zhu et al., 2001).

Pour garantir la nomination de miel et aussi protéger la santé humaine, l'utilisation des traitements antimicrobiens dans l'apiculture est habituellement strictement réglementée ou interdit. Les normes pour les antibiotiques ne sont pas mentionnées à titre ce qui signifie que la présence d'antibiotiques dans les produits de la ruche, miel, est non autorisée.

L'Algérie est un grand pays, disposant d'un climat favorable à l'éclosion et à l'essaimage des abeilles, mise sur une production de miel de plus en plus importante; avec un objectif d'atteindre les 100 000 tonnes de miel par an en 2015 selon les autorités algériennes. Cependant, la production Algérienne de miel est estimée en moyenne à 33 000 quintaux en 2011 avec un rendement de 4- 8 kg / ruche (Oudjet, 2012), ce qui est moins que les besoins de la consommation locale alors qu'il est censé être à l'origine d'un important débouché à l'exportation.

Cette faible production affecte le prix qui reste élevé. Par conséquent, malgré que le miel soit très utilisé par la population comme première thérapeutique, médecine traditionnelle, nourri par l'aspect sacré du Coran, la consommation Algérienne du miel reste aussi faible que la production. Ce manque de production est le résultat de causes multiples telles que l'absence de réglementation nationale, le manque d'une organisation professionnelle (Bendeddouche et Dahmani, 2011) et l'absence d'organisme certificateur spécialisé dans la labellisation du miel Algérien, et ce malgré l'existence d'un organisme public connu sous le nom d'Algerec. qui est chargé d'accréditer les organismes certificateurs.

Compte tenu des propriétés médicales et nutritionnelles de ce produit et sa rareté sur le marché, il est exposé à la fraude (Chefrou et al., 2009). Pour cela, les commissions internationales et européennes ont proposé des méthodes d'analyses suivies par les organismes de normalisation tels que le *Codex Alimentarius* ou les normes européennes pour le miel contrôle de la qualité afin d'assurer que le miel est authentique en ce qui concerne les exigences législatives.

L'étude de la qualité du miel et de l'évaluation de l'authenticité, concernant la production (visé à empêcher une falsification) et d'authenticité concernant l'origine géographique ou botanique (visé à prévenir les faux étiquetages), est un important axe de recherche appliquée avec un grand impact significatif sur l'industrie et la protection des consommateurs. L'authenticité du miel est définie par le *Codex Alimentarius*, la Directive du miel EU et quelques législations nationales de plusieurs pays occidentaux.

En fait, de nombreuses études ont été signalées sur les paramètres physico-chimiques et palynologique des miels de partout dans le monde (Al-Khalifa et Al Arify, 1999; Azeredo





et *al.*, 2003; Terrab et *al.*, 2002; Küçük et *al.*, 2007; Saxena et *al.*, 2010 ; Gomes et *al.*, 2010 ; Gairola et *al.*, 2013 ; Nayik et Nanda, 2015) et également en Algérie (Ouchemoukh et *al.*, 2007 ; Chefrour et *al.*, 2009 ; Makhoulfi et *al.*, 2010 ; Bendeddouche et Dahmani, 2011 ; Zerrouk et *al.*, 2011 ; Amri et Ladjama, 2013 ; Draiaia et *al.*, 2014). Par ailleurs, à notre connaissance très peu de travail de recherche sur la contamination des miels Algérien par les antibiotiques et les métaux lourds a été fait.

Globalement, ce travail s'inscrit dans le but d'accroître la connaissance de la qualité du miel Algérien. Nous traiterons dans un premier temps des généralités sur l'apiculture en Algérie et les différents produits de la ruche ;

Nous aborderons par la suite les données bibliographiques sur les aspects religieux et culturels du miel, définition, production, différents types, afin de mieux comprendre les usages de ce produit sacré comme alicament compte tenu de ces propriétés. Tout en prenant en compte la présence de cas d'intoxication par ce produit naturel et vivant. Puis un aperçu sur les facteurs qui influencent la qualité d'un miel au cours de l'entreposage.

Un troisième chapitre traite la physicochimie du miel, on se basant sur la qualité du produit et source de contamination et adultération et l'autre partie traitera les objectifs tracés pour la présente étude avec la conduite apicole.

Le chapitre 4 consiste à la caractérisation physico-chimique et l'appellation botanique de quelque échantillon de miels Algérien. Cette présente étape consacrée à la caractérisation de la qualité des miels Algériens (67échantillons) vise les objectifs suivants :

- ❖ Conformité de la qualité des miels aux normes du *Codex Alimentarius* ;
- ❖ Recherche de l'origine florale des miels, à l'aide de la méliissopalynologie, afin d'établir une appellation d'origine contrôlée (origine botanique et géographique) ;
- ❖ Conduite apicole et ses effets sur le produit final.

La recherche d'éventuelle contamination par les antibiotiques (Streptomycines, Tétracyclines) et de métaux lourds (Co, Fe, Cr, Cu, Zn, Pb, Mn, Ni) sera traité dans le chapitre 5 sur 22 échantillons.

Enfin, des conclusions qui résultent de ce travail ainsi que des perspectives relatives à la préparation d'un miel de qualité sont données dans la partie conclusion générale.





# *PARTIE THEORIQUE*









## 1.1. Généralité sur l'apiculture en Algérie

### 1.1.1 Races d'abeilles en Algérie et leurs origines, classifications et répartitions

Dans l'arbre phylogénétique des animaux, les insectes forment une classe de l'embranchement **des arthropodes** définie par des téguments chitineux. Chez les insectes, l'ordre des **hyménoptères** comprend plus de cent mille espèces (Rossant, 2011). On trouve dans cet ordre les abeilles du genre *Apis* (Pham-Délègue, 1999). Les hyménoptères présentent des comportements étonnamment complexes, disposant d'un système nerveux et d'organes sensoriels particulièrement développés, représentant ainsi l'un des groupes les plus évolués parmi les insectes. L'existence d'un aiguillon et de comportements évolués (comme bâtir un nid avec des matériaux spécifiques) distingue certains hyménoptères classés dans l'infra-ordre des **Aculéates**. Les **Apoïdes**, sous embranchement des Aculéates, sont caractérisés par la présence de nombreux poils sur leurs cuticules et d'une longue langue, par une alimentation à base de nectar et de pollen et par un système pour stocker le pollen sur les pattes arrière ou sur la face ventrale de l'abdomen. On distingue les Apoïdes inférieurs qui sont tous solitaires, et les Apoïdes supérieurs qui comprennent la famille des **Apidae** et qui possèdent tous un degré de socialité. Actuellement, la tribu des Apini contient un seul genre *Apis*, et une seule espèce à laquelle appartient l'abeille domestique.

De plus, c'est l'espèce la plus intéressante à élever, car elles assurent les meilleurs rendements. Elles sont caractérisées par un comportement hautement social. Les principales races d'*Apis mellifera* sont : *Apis mellifera mellifera* (abeille noire d'Europe occidentale), *Apis mellifera ligustica* (abeille Italienne), *Apis mellifera carnica* (abeille présente des Alpes à la mer Noire), *Apis mellifera caucasica* (abeille Caucasienne), *Apis mellifera intermissa* (pays du Maghreb), *Apis mellifera adansonii* (pays d'Afrique tropicale) etc. (Le Conte, 2002 ; Pham-Délègue, 1999) (Fig.1).

L'abeille mellifère du genre *Apis* est répartie sur la totalité du globe terrestre. L'aire géographique d'extension d'*Apis mellifera* couvre ainsi les continents Africain, Européen et Asiatique à l'exception du Sud Est asiatique que se partagent les trois autres espèces d'abeille (Fig.2).



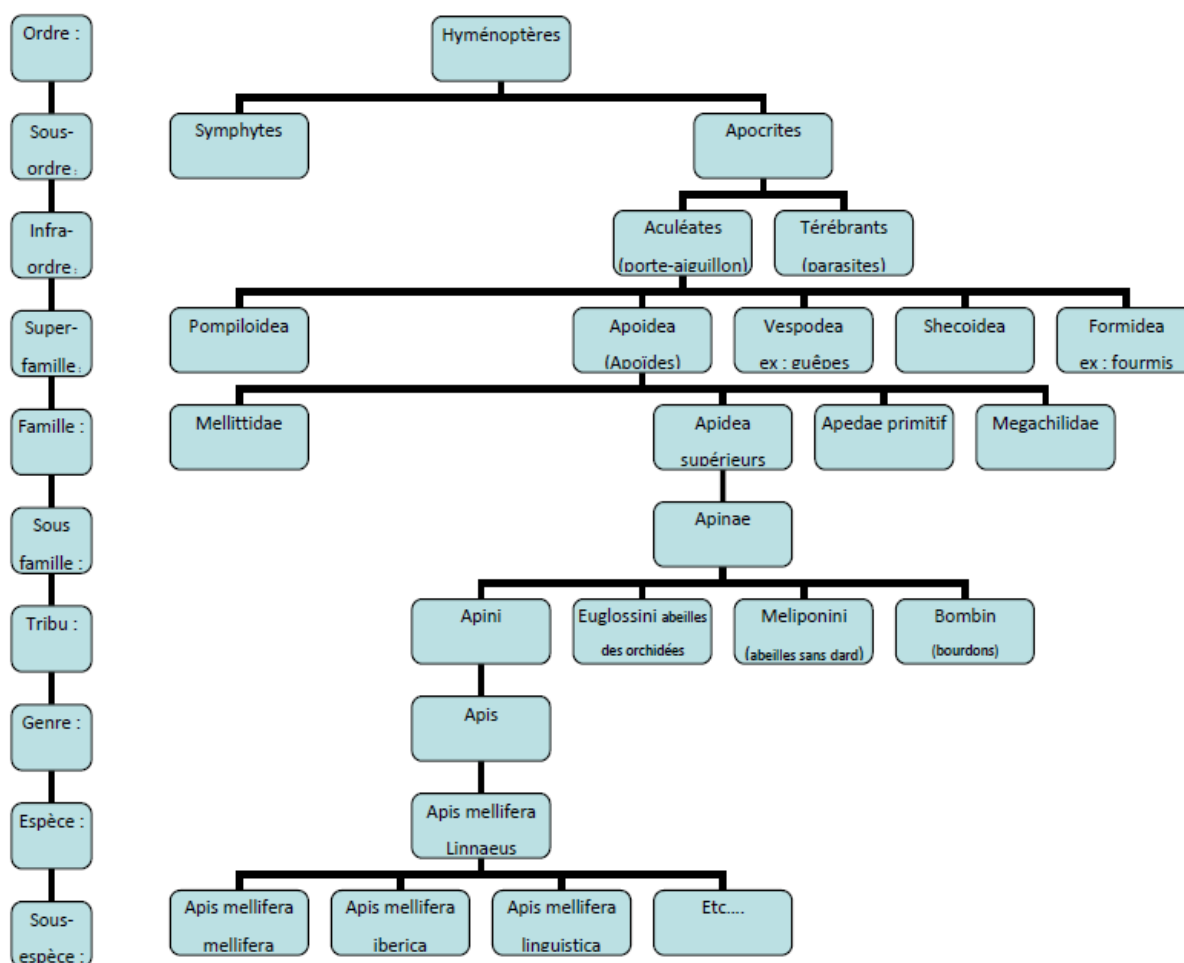


Figure 1 : *Apis mellifera* dans la classification systématique (Le Conte, 2002).

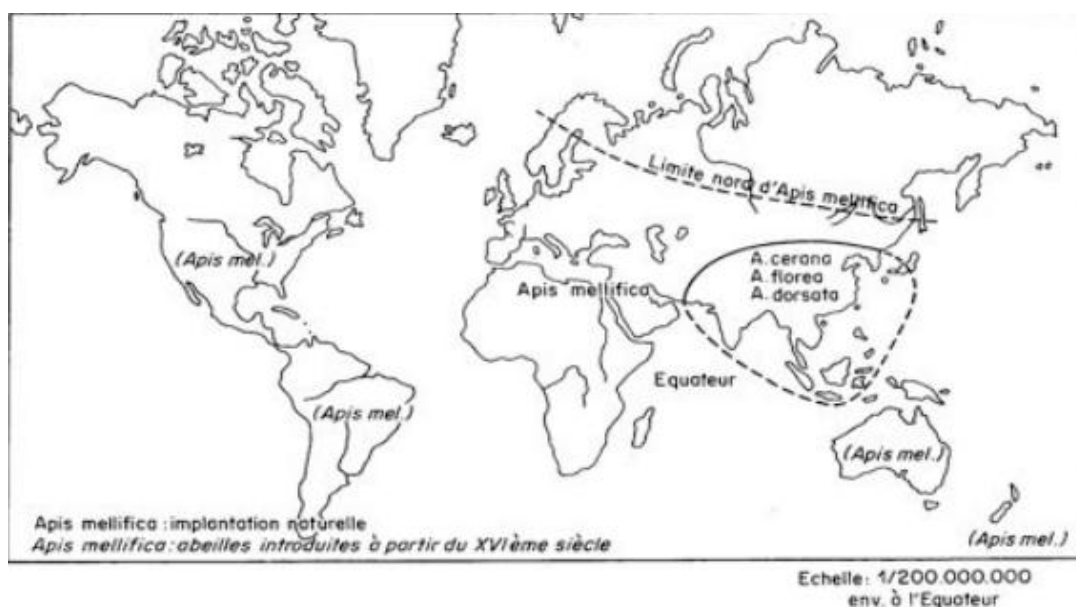


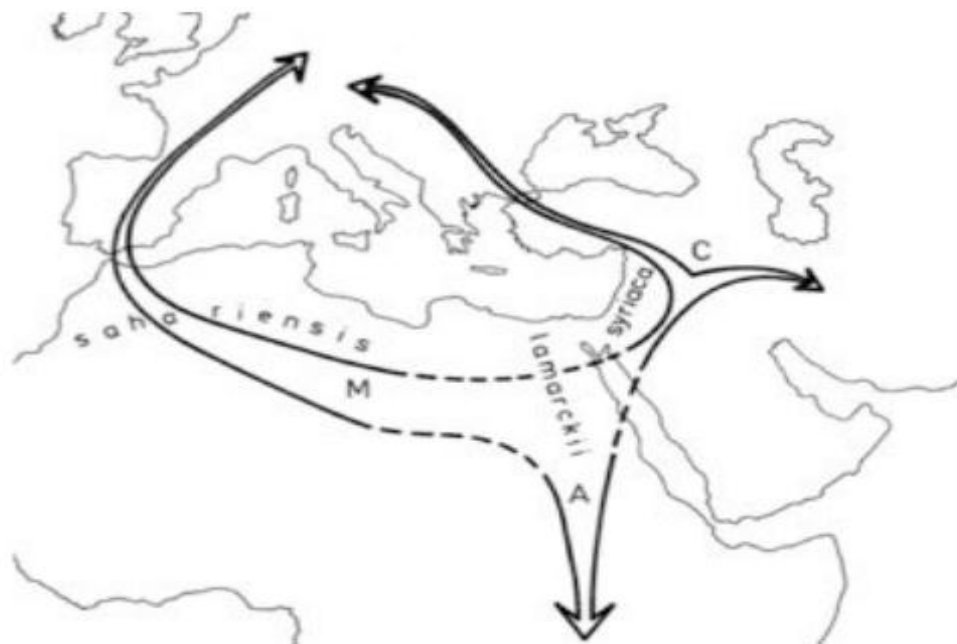
Figure 2: Répartition géographique des 4 espèces du genre *Apis*. D'après (Ruttner, 1988)





Elle a su s'adapter à tous les environnements, excepté bien sur les plus hostiles et pauvres en fleurs comme les pôles Nord et Sud, le Groenland et toute la Russie du Nord-Est.

La figure 2 et 3 illustre les foyers de répartition des différentes espèces du genre *Apis*. L'aire géographique d'extension d'*Apis mellifera* couvre ainsi les continents Africain, Européen et Asiatique à l'exception du Sud Est asiatique que se partagent les trois autres espèces d'abeilles.



**Figure 3:** Expansion de l'espèce *Apis mellifera* L (Selon Ruttner et al., 1978)

Le cheptel apicole Algérien est composé de deux sous espèces :

- L'abeille la plus répandue pour l'apiculture algérienne est la sous-espèce ***Apis mellifera intermissa*** dite abeille tellienne ou «abeille noire du tell » dont l'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien (Chefrou, 2007).

C'est une petite abeille de couleur sombre, elle est réputée pour être agressive et essaimer souvent (Winston, 1991). C'est une sous-espèce adaptée au climat méditerranéen, qui résiste aux fortes chaleurs estivales mais moins aux hivers un peu rudes. Elle se répartit dans tout le Maghreb.





- S'ajoute la sous-espèce *A. mellifera sahariensis* **ou abeille jaune**, que l'on retrouve dans le Sud ouest du pays (Bechar et Ain Sefra). Sa mise au rang de race a été contestée par [Ruttner \(1968\)](#) qui la considérait à l'époque comme une forme de transition entre *Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica adonsonii*.

Toutefois, selon [Ruttner et ses collaborateurs \(1978\)](#), *Apis mellifica sahariensis* est considérée comme une race à part entière. Dans l'absolu elle n'est plus représentée que dans quelques poches isolées géographiquement. Elle est pourtant plus rustique, et se caractérise par une résistance accrue aux fortes amplitudes de températures qui sévissent dans ses aires de répartition.

De plus, elle possède une langue plus longue pour atteindre les poches nectarifères au fond des fleurs de la végétation dont le palmier dattier et plusieurs espèces d'arbres fruitiers. Le maïs, l'orge alimentent les populations et, le long des routes et des pistes, sont plantés des eucalyptus et des tamarix. Dans les étendues désertiques croissent des genêts, des saxifrages, des composées épineuses, des trèfles qui fleurissent à des époques différentes et assurent une importante production de miel de très bonne qualité ([Chefrou, 2007](#)).

### 1.1.2. Grandes zones apicoles en Algérie

Malgré les vertus alimentaires et thérapeutiques des produits de l'apiculture, connues et reconnues depuis la nuit des temps, et malgré l'importance de la filière apicole sur le plan socioéconomique, elle reste toujours un parent pauvre de l'agriculture Algérienne.

La production nationale en miel est estimée en moyenne à 33 000 qx pour l'année 2011 avec un rendement de 4 à 8Kg/ruche, ce qui est très faible par rapport aux potentialités mellifères qu'offre notre pays ([Oudjet, 2012](#)). En plus de la production nationale, l'Algérie importe en moyenne 150 000 tonnes de miel par an, qui provient généralement de la Thaïlande, de la Turquie, d'Arabie Saoudite, la Chine et des Etats-Unis. Mais la filière apicole algérienne est déterminée, dans le cas où les réserves sont levées, à s'orienter et à orienter les excédents de production vers les marchés extérieurs.

L'activité apicole est intimement dépendante des ressources mellifères dont dispose le pays et qui sont très riches et variées ([Oudjet, 2012](#)). L'apiculture est pré-dominante dans les régions suivantes :





- **Zone de littorale:** miel d'agrumes et eucalyptus ;
- **Zone de montagne:** Kabylie: miel toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère ;
- **Hauts plateaux:** miel de sainfoin, romarin et jujubier ;
- **Maquis et forêts :** miel toutes fleurs et miellat.

#### 1.1.2.1 Répartition et modèle des ruchers en Algérie

En 1996, le ministère de l'Agriculture a recensé 1,335 millions de ruches modernes et 35 milles ruches traditionnelles réparties sur tout le territoire national surtout dans les zones littorales, forestières et steppiques. Sur les 1,335 million de ruches que compte l'Algérie, 1,25 million unités sont déclarées par les services agricoles pendant l'année 2002 avec une production moyenne de 8 kg de miel/ruche/an (Chefrou, 2007).

Actuellement, l'Algérie, qui dispose d'un climat chaud et ensoleillé favorable à l'éclosion et à l'essaimage des abeilles, mise sur une production de miel de plus en plus importante; avec un objectif d'atteindre les 100 000 tonnes de miel par an <sup>1</sup>en 2015. C'est ce que soutiennent les responsables de la filière apicole et les apiculteurs algériens. On ne doit pas manqué de souligner qu'une évolution significative de la production de cette filière au cours de ces dernières années avec une production de 48.000 tonnes en 2009 contre 33.000 tonnes en 2008 <sup>1</sup>, L'Algérie produit 13 variétés de miel en plus d'autres produits apicoles comme la cire au naturel ou transformée à des objets de décoration..

Une grande partie des ruches sont installées au Nord et au Nord Est et a l'Ouest du pays dans les régions apicoles de : Blida, Tizi Ouzou, Bejaia, Jijel, Skikda, Annaba, El Tarf, Souk Ahras, Guelma, Tébessa, Khenchla et Constantine , Média , Djelfa .

Les Wilayates de Blida et de Tizi-Ouzou disposent de réserves naturelles et d'une biodiversité importante et nécessaire au développement de l'apiculture même si la flore

---

<sup>1</sup>« 48.000 tonnes de miel en deux années, Le ciment en hausse de 7% », A A, publié dans **Le Midi Libre** le 27 - 11 – 2010 : <http://www.djazairess.com/fr/lemidi/1011270902>.







mellifère est encore mal inventoriée. Les deux Wilayates bénéficient en effet de la proximité de la réserve de biosphère du Parc national de Chréa et du Parc national du Djurdjura. Dans la Mitidja (Wilaya de Blida), le problème de l'épandage de pesticides et autres produits phytosanitaires toxiques qui déciment des colonies entières d'abeilles commence cependant à être évoqué. La race d'abeille rencontrée dans ces régions est l'*Apis Mellifera* (Bourkache et Perret, 2014).

A l'instar des autres régions de la Mitidja, la wilaya de Blida recèle de potentialités mellifères et nectarifères importantes et diversifiées qui augurent des perspectives prometteuses de la filière.

Selon la DSA, la wilaya de Blida occupe la première place au niveau national en matière de production mellifère couvrant ainsi 60% des besoins du marché national en miel<sup>2</sup>. La production mellifère issue de 40 356 ruches (avec une récolte de 4 980 q de miel, en 2009, alors qu'elle était de 1 600 q en 2000), elle a enregistré un bond très appréciable. Une dynamique encouragée par l'existence de 47 pépinières de production d'essaims. Selon le responsable chargé de la production au niveau de la Direction des services agricoles, une production de 5.760 quintaux de miel durant l'année 2010 dans la wilaya de Blida a été observée. Mais cette réalité chiffrée prend une toute autre signification lorsque l'on apprend que la demande nationale ou locale n'est pas satisfaite<sup>2</sup>.

La wilaya de Tizi- Ouzou compte 101.800 ruches pleines détenues par 4340 apiculteurs, dont la majorité possède plus de 20 unités. Sur cet élevage apicole, il a été destiné 38000 ruches pour la production du miel et 47000 pour les essaims, alors que le reste est représenté par de jeunes essaims immatures<sup>3</sup>.

---

<sup>2</sup> « 5.760 quintaux de miel attendus cette année », K. A. publié dans **Le Midi Libre** le 3 Mai 2010. [http://www.lemidi-dz.com/index.php?operation=voir\\_article&id\\_article=midi\\_centre@art4@2010-05-03](http://www.lemidi-dz.com/index.php?operation=voir_article&id_article=midi_centre@art4@2010-05-03)

<sup>3</sup> « Tizi Ouzou / Production de miel en baisse : On ne se lèchera pas les doigts... », R. L. /APS. Publié dans infosoir, <http://www.infosoir.com/imp.php?id=1246>







La filière apicole a connu un développement remarquable durant ces dernières années, grâce aux subventions à hauteur de 70% accordées sur le Fonds national du développement agricole, mais cela reste insuffisant par rapport au potentiel mellifère de la région, estimée à pas moins de 500 000 ruches, selon une étude du Bureau national du développement économique rural (Bneder) <sup>4</sup>.

Selon le responsable des petits élevages au niveau de la direction locale des services agricoles (DSA ) dans la wilaya de Tizi-Ouzou a accusé, cette saison, un recul de l'ordre de 48% comparativement au volume obtenu l'année précédente, soit 1 600 quintaux de miel réalisée cette année comparativement au volume de 2 995 quintaux produit au titre de la saison écoulée, soit un écart d'environ . Le rendement par ruche est estimé, cette année à 4,2 kg contre 8,2 kg pour la saison écoulée<sup>5</sup>. Ce manque s'explique essentiellement par le raccourcissement du cycle de floraison induit par le déficit pluviométrique accusé en période printanière, où le nectar n'a pas été abondant pour permettre aux abeilles de butiner à leur aise , cela est aussi associé a un manque de pratique de la transhumance hors wilaya, pour l'heure, que par une infime minorité d'apiculteurs soucieux de compenser ce manque .

Cependant, les ruchers ont enregistré, cette année, un taux de mortalité de l'ordre de 18%, correspondant à une perte de 16 200 ruches, pour des causes liées, entre autres, à l'intoxication (des abeilles) par des pesticides utilisés dans l'agriculture, l'épuisement des ruches par leur surexploitation, en plus des pertes générées par le varroa<sup>6</sup>.

---

<sup>4</sup> « Tizi Ouzou / Production de miel en baisse : On ne se lèchera pas les doigts... », R. L. /APS. Publié dans infosoir, <http://www.infosoir.com/imp.php?id=1246>

<sup>5</sup> Rabah Mokhtari « Une foire du miel pour redynamiser l'apiculture à Tizi Ouzou ». <http://www.lnr-dz.com/index.php?page=details&id=39653>. [Consulté le 04/01/2015]

<sup>6</sup> « Tizi Ouzou / Production de miel en baisse : On ne se lèchera pas les doigts... », R. L. /APS. Publié dans infosoir, <http://www.infosoir.com/imp.php?id=1246>

---





Selon la D.S.A. de Skikda, 2003, durant la campagne apicole 2002-2003, la production du miel a été estimée à 229 500Kg récoltés à partir de 18 536 ruches. Le nombre de colonies mises à l'essaimage est de 15 360, avec un taux de mortalité de 17% du patrimoine (Chefrour, 2007). Pour cette année le nombre de ruches a atteint les 115 000 ruches, soit une faible hausse par rapport à l'année précédente avec 100 000 ruches. Les principales localités productrices sont constituées par Sidi Mezghiche, Ramdane Djamel et Collo, qui produisent essentiellement du miel d'eucalyptus, souligne-t-on à la direction des services Agricole.

La production a connu une hausse de 62 000 quintaux de miel contre 61 000 de l'année écoulée, soit mieux que 2012 où une production de 3 300 quintaux a été réalisée, selon les chiffres communiqués par le DSA<sup>7</sup>.

En outre, pour la wilaya d'Annaba et selon des données récentes de la chambre d'Agriculture d'Annaba (D.S.A. de Annaba) le nombre de ruches est estimé à 19 000 en 2014.

Une appréciable augmentation de la production apicole a été enregistrée dans la wilaya d'Annaba durant la collecte de miel pour l'année 2013-2014. Cette augmentation est passée de 370 quintaux de miel, avec un rendement de 2,87kg/ruche selon les déclarations officielles de la chambre d'agriculture durant l'année agricole 2006-2007 à 780 quintaux de miel en 2012/2013 et à 810 quintaux en 2013-2014<sup>8</sup>.

Ce résultat a été atteint grâce aux efforts déployés par les apiculteurs de la wilaya qui ont notamment adopté des méthodes plus modernes dans l'exploitation de leurs ruches. De ce fait, le rendement moyen de la wilaya en miel a atteint les 8 kilogrammes par ruche et il y a des pics où l'on a enregistré jusqu'à 20 kilogrammes de miel par ruche lors de la présente

---

<sup>7</sup> Zaïd Zoheir, « [Le miel en fête à Skikda](http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/11/09/article.php?sid=170748&cid=4) » 09 Novembre 2014 (<http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/11/09/article.php?sid=170748&cid=4>) [Consulté le 15/12/2014]

<sup>8</sup> Bouacha A., « [Engouement pour l'apiculture](http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/10/18/print-4-169821.php) », <http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/10/18/print-4-169821.php> [Consulté le 17/12/2014]





campagne, en dépit des mauvaises conditions climatiques qui influent négativement sur les rendements, selon la même source<sup>9</sup>.

La direction locale des services agricole (DSA) de la wilaya de Souk ahras, a indiqué qu'une production de près de 4.500 quintaux pour la saison 2012-2013<sup>10</sup>, plaçant cette collectivité territoriale au troisième rang national, selon le directeur des services agricoles (DSA). La production de miel était "d'à peine 200 quintaux" il y a trois ans dans cette wilaya. Cette hausse de la production de miel est résultante de l'augmentation du nombre d'éleveurs dans la wilaya qui est passé de 41 apiculteurs en 2011 à 83 en 2012, a signalé le chargé de la production et du soutien technique à la DSA. Cette évolution "significative" de la production de miel est le fruit du développement "considérable" du rucher de la wilaya qui compte actuellement 6.000 ruches dont 1.000 nouvellement installées ainsi que 800 apiculteurs activant, notamment, dans les communes de Souk Arhas, de Merahna, de Sidi Fredj, de Taoura, de Heddada, de Machrouha, de Zaârouria et de Henancha .

Le nombre des apiculteurs déclaré dans la wilaya d'El Tarf est arrivé à 243 apiculteurs dont 12 femmes recensées. Ces apiculteurs sont répartis sur cinq grandes régions apicoles avec un nombre total de 10 160 ruches (les deux types d'élevage sont pratiqués) (Chefrou, 2007). Récemment on compte quelque 50.000 ruches et 940 apiculteurs.

L'apiculture dans la wilaya d'El Tarf est principalement pratiquée dans les environs de Boutheldja, précisément à Cheffia, Bougous et Ben M'Hidi où le bourdonnement des abeilles peuple des milliers d'hectares d'eucalyptus.

Selon le président de la chambre de l'Agriculture, la production de miel a enregistré un léger recul dans la wilaya de Tarf, passant de 1.600 quintaux en 2013 à 1.400 quintaux pour l'année 2014, considérée comme meilleur année de production, dans la commune de Boutheldja.

Cette baisse de la production est due aux conditions climatiques défavorables.

---

<sup>9</sup> Bouacha A., « [Engouement pour l'apiculture](http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/10/18/print-4-169821.php) », <http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2014/10/18/print-4-169821.php> [Consulté le 17/12/2014]

<sup>10</sup> Hamma S., « Souk Ahras : 4.500 quintaux de miel attendus », [http://www.lemaghreb.dz.com/?page=detail\\_actu&rubrique=International&id=57577](http://www.lemaghreb.dz.com/?page=detail_actu&rubrique=International&id=57577). [Consulté le 04/01/2015]





Concernant la wilaya de Guelma, la DSA estime actuellement le nombre de ruchers exploités dans la wilaya de Guelma à 53.100 unités, contre 46.000 pour la campagne précédente, ajoutant que l'ensemble des ruches se répartissent en 39.300 modernes et 13.800 traditionnels. La représentante de la DSA souligne qu'entre 2009 et 2013, les exploitations ont acquis 2.910 ruches modernes supplémentaires.

Guelma a produit au terme de la campagne 2012-2013 une quantité de 2.177 quintaux de miel, dépassant les prévisions de la filière apicole (la Direction des services agricoles).

Selon la responsable du bureau de la vulgarisation agricole et de la formation de la DSA, les prévisions pour l'année 2012-2013 étaient arrêtées à 1.120 quintaux, tenant compte que les années précédentes n'avaient pas enregistré plus de 1.500 quintaux. Selon la même responsable, le succès de cette année revient au résultat du plan de réhabilitation de la filière apicole qui a mis en œuvre l'aide de l'Etat aux producteurs, ajouté à des conditions climatiques favorables et à une bonne couverture végétale, notamment à proximité des forêts de la région.

Selon la DSA de la wilaya de Médéa, cette dernière compte un totale de 1.400 apiculteurs déclarés pour un total de 35.621 ruches, soit une moyenne de 25 ruches pour chaque apiculteur.

Une appréciable augmentation de la production apicole a été enregistrée dans la wilaya de Médéa durant la collecte de miel pur dont la production durant ces 5 dernières années, a été de 1.436 Kg en 2010, 1.347 Kg en 2011, 1.643 Kg en 2012, 1.652 Kg en 2013 et finalement 1.230 Kg en 2014. Une baisse de production cette année qui s'explique par les mauvaises conditions climatiques représentées par la faiblesse de la pluviométrie.

Tandis que, La wilaya de Batna compte actuellement entre 2.500 et 3 mille apiculteurs, dont 203 ont adhéré à la Coopérative apicole de wilaya créée en 1974 et restructurée en 1989.

Pratiquée comme activité secondaire depuis fort longtemps, l'apiculture a pris un essor considérable dans la wilaya dès 2000, année durant laquelle la wilaya comptait 24 mille





ruches contre 60 mille en 2009<sup>11</sup>.

On observant les données communiquées par la majorité des services DSA nous pouvant dire que sur tout le territoire Algérien la production de miel durant l'année 2014 a révélée une faible baisse .

Cette diminution est due à plusieurs facteurs dont les plus importants sont :

- les maladies des abeilles (nosémose, maladies virales, loque Européenne, loque Américaine). Ce sont les maladies les plus redoutées par les apiculteurs. En réalité c'est plutôt, les acariens, fausse teigne, parasitoses, varroase et les prédateurs qui sont les plus redoutables;
- les pesticides utilisés par les agriculteurs ;
- les conditions climatiques ;
- le manque de formation des apiculteurs sur les nouvelles techniques apicoles (Frisch, 1964 ; Jean-prost 1972 ; Fronty, 1980 ; Bertrand, 1983 ; Gout et Jardel, 1998 ; Philippe, 1999 ; Chefrou, 2007).

### 1.1.3 Différents types de ruches :

L'abeille est le seul insecte élevé par les humains. L'apiculteur met à disposition de la colonie une caissette en bois, la ruche, dans laquelle les abeilles trouvent les conditions idéales pour vivre en société, élever la couvée, emmagasiner le miel et se protéger durant l'hiver. A travers les siècles, l'homme a utilisé d'abord les ruches à rayons fixes formées d'une seule pièce, puis de plusieurs pièces (ruches à calottes ou à hausses). La ruche contient des cadres de bois sur lesquels l'apiculteur a fixé des feuilles de cire (Rossant, 2011).

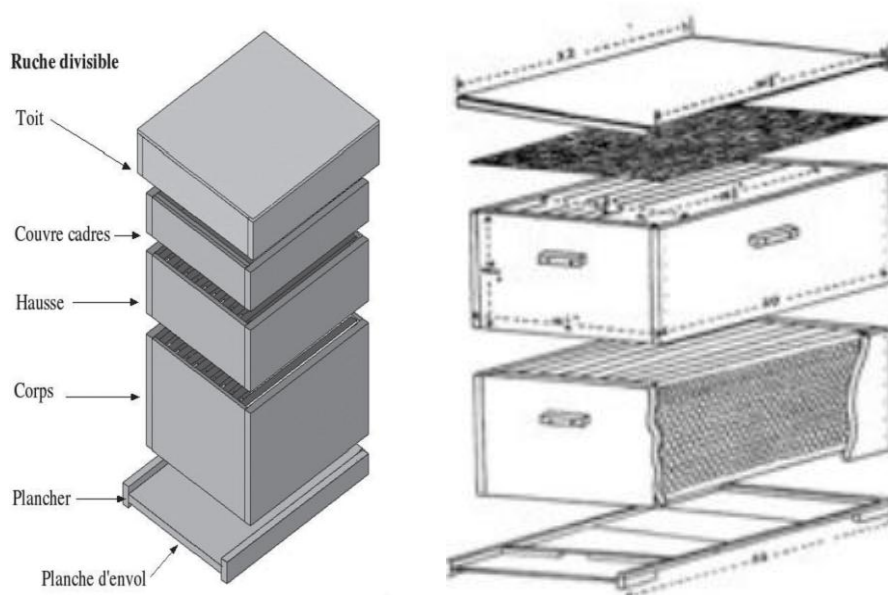
Enfin sont apparues les ruches à cadres mobiles actuellement répandues dans tout le monde apicole, les cadres supportant les rayons. Les ruches à rayons fixes, bien que largement utilisées à travers les âges, posaient des problèmes pour la récolte du miel.

<sup>11</sup> L.N., « Batna : Production de miel en hausse », [http://www.lemidi-dz.com/index.php?operation=voir\\_article&id\\_article=midi\\_est%40art3%402010-02-21](http://www.lemidi-dz.com/index.php?operation=voir_article&id_article=midi_est%40art3%402010-02-21). [Consulté le 04/01/2010]





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. Aujourd'hui, les apiculteurs utilisent généralement des ruches Dadant (Fig. 4), Langstroth et Voirnot ([Pham-Délègue, 1999](#)).



**Figure 4 :** Ruche de type Dadant Dadant-Blatt

À droite : schéma de ruche Langstroth ([Croustilles, 2014](#))

## 1.2. Produits de la ruche

La ruche procure plusieurs types de produits et qui possèdent de nombreuses propriétés.

### 1.2.1 Pollen

Le pollen est la seule source naturelle en matière azotée de la ruche. C'est le gamète mâle des plantes à fleurs, il va servir à féconder les ovules situés dans les ovaires de la plante. Un grain de pollen contrairement aux cellules, possède deux noyaux : un noyau végétatif et un noyau reproducteur. Le pollen se présente sous forme de graines microscopiques enfermées dans les anthères des étamines ([Chefrour, 2007](#); [Saury, 1981](#)). Ils sont transportés sur d'autres fleurs, soit par le vent (pollen légers), soit par les insectes (pollen lourd).

Le pollen est récolté par les abeilles durant presque toute l'année ([Prost, 1987 ; 2005](#)).

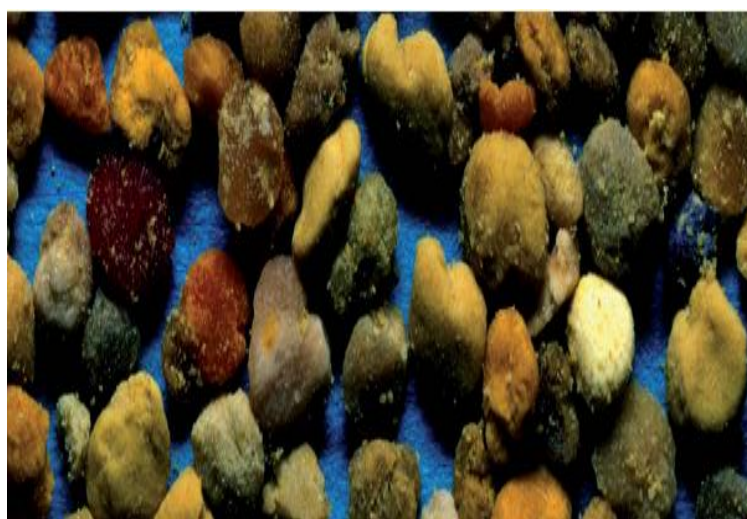




Les abeilles perdent une partie de leur récolte (10% environ) qui tombe dans un terroir où l'apiculteur la recueille. Dans la ruche, le pollen est stocké dans les alvéoles, comme le miel il ne subit pas des transformations même s'il est souvent mélangé au miel dans les mêmes alvéoles pour former ce que l'on appelle (pain d'abeille) (Gout et Jardel ,1998).

### A) Composition :

La composition du pollen dépend fortement de source végétale, avec d'autres facteurs tels que les conditions climatiques, le type de sol et des activités d'apiculteurs (Morais et al., 2011).



**Figure 5 :** Pelotes de pollen (Bogdanov, 2006)

Les principales composantes de pollen sont des hydrates de carbone, des fibres brutes, les protéines et les lipides dans des proportions comprises entre 13% et 55%, 0,3% et 20%, 10% et 40%, 1% et 10%, respectivement (Villanueva et al., 2002). De nombreux composants mineurs sont aussi présentes, des minéraux et oligo-éléments, les vitamines et les caroténoïdes, composés phénoliques, flavonoïdes, des stérols et des terpènes (Cousin, 2010 ; Lefief-Delcourt, 2010 ; Bogdanov, 2011 ; Aličić et al., 2014).

Le pollen contient aussi la proline, l'acide aspartique, la phénylalanine et l'acide glutamique, ces derniers sont les acides aminés primaires de pollen (Roldán et al., 2011).

De nombreuses vitamines sont aussi présentes, surtout celles du groupe B. On trouve aussi les vitamines C, D et E, ainsi que de la provitamine A en faible quantité.







Sa richesse en protides lui vaut le nom de « steak des abeilles ». On dit que 100 grammes de pollen apportent autant de protéines que sept œufs ou 400 grammes de viande de bœuf (Cherbuliez et Domerego, 2003).

### **B) Intérêt et propriétés générales :**

Le Pollen a des vertus tonifiantes et stimulantes ainsi que des propriétés antibiotiques. Le pollen d'abeille est utilisé dans la médecine traditionnelle pour soulager ou guérir les rhumes, la grippe, les ulcères, le vieillissement prématuré, anémie, colite, réactions allergiques, entérite, prostatite chronique et d'autres maladies (Kao et al., 2011).

Il est considéré comme un aliment de santé naturel qui constitue une source potentielle d'énergie et des composants fonctionnels pour la consommation humaine (Silva et al., 2006), avec un large éventail de propriétés thérapeutiques, comme antimicrobien (Basim et al., 2006; Carpes et al., 2007; Morais et al., 2011) , antifongique, anti-oxydant (Aličić et al., 2014) , hépatoprotecteur, activités chimioprotecteurs et / ou chimio-prévention et anti-inflammatoires (Pascoal et al., 2013), les activités de piégeage des radicaux libres (Silva et al., 2006; Leja et al., 2007), l'inhibition de la peroxydation lipidique et la suppression de la réponse cellulaire et humorale (Xu et al., 2009). Ces effets thérapeutiques et l'activité biologique de pollen d'abeille sont en relation avec son potentiel antioxydant élevé en raison de la présence de polyphénols, y compris, les flavonoïdes (Rzepecka-Stojko et al., 2012).

#### **1.2.2 Gelée royale**

La gelée royale a un aspect gélatineux, de couleur blanchâtre, fortement acide (Fronty, 1997), sécrétée par les jeunes abeilles nourricières. Dans la ruche, ces abeilles produisent et distribuent la gelée royale toute leur vie, de l'éclosion jusqu'au stade nymphale (Prost, 1987).

La gelée royale est une substance élaborée par des glandes spéciales qui l'ont trouvée par paires à droite et à gauche de la tête (Daniele et Casabianca, 2012).

Elle constitue la nourriture exclusive :

-De tout les larves de la colonie sans exception, dès leurs éclosion et jusqu'au troisième jour de leur existence ;





-Des larves choisies pour devenir reines ;

- La nourriture unique et exclusive de la reine pendant toute son existence. De ce fait, sa vie est jusqu'à 50 fois plus longue que celle d'une ouvrière, bien qu'au départ la reine et l'ouvrière soient génétiquement et anatomiquement identiques.

En effet, une reine peut vivre 5 à 6 ans contre 45 jours pour une ouvrière, et seule l'alimentation due à la gelée royale fait la différence (Millet, 2006). On peut dire que la gelée royale est directement responsable de la longévité à celui d'une ouvrière stérile, pourtant elle est deux fois plus grande, elle est jusqu'à 4 à 5 ans, alors que l'ouvrière ne dépasse guère un mois (Prost, 1987).

#### A) Composition :

D'après Bogdanov (2006), la composition de la gelée royale fraîchement récoltée est composée d'eau dans une proportion allant de 60 à 70 %. Les protéines (9-18%), des glucides (7-18%), des lipides (3-8%), minéraux (0,8-3%), de vitamines (Sabatini et al., 2009), beaucoup de vitamines du groupe B en particulier, de la vitamines B12, C, D (Philippe, 1999) E et K sont en quantités plus faibles et les acides aminés (Tab.1). Selon la littérature la composition de la gelée royale peut varier en fonction de l'état métabolique et de l'état physiologique des abeilles ouvrières (Balkanska et al., 2013) ainsi que sur l'âge des larves (Brouwers et al., 1987 ; Lercker et al., 1993), la course des abeilles et de la saison (Sano et al., 2004) et les conditions de la régions(Biondi et al., 2003; Chen et Chen, 1995).





**Figure 6:** Larves baignant dans de la gelée royale (Bogdanov, 2006)

Il existe de nombreuses substances à l'état de traces comme l'acétylcholine, des facteurs antibactérien et antibiotique, une enzyme glucose-oxydase, de l'œstradiol, testostérone, progestérone et une gammaglobuline.

#### **B) Intérêts et propriétés générales :**

En effet, son extraordinaire composition qualitative et quantitative lui confère des propriétés régénératrices et reconstructrices de la peau, non seulement sur le vieillissant de l'épiderme, mais également pour l'ensemble des inconvénients d'ordre esthétiques tels que : la déshydratation, la séborrhée accrue, les rides persistantes, etc. Des cures de gelée royale par voie orale peuvent également être conseillées pour lutter contre le vieillissement (Legrand, 1987).

En réalité peu de recherches scientifiques ont mis en évidence les bienfaits de la gelée royale sur la santé humaine. Quoiqu'il en soit, quelques expérimentations *in vitro* et *in vivo* ont permis de constater que la gelée royale présentant des effets physiologiques et pharmacologiques chez les mammifères, y compris les activités vasodilatatrices, hypotensives activité antihypercholestérolémique et des fonctions anti-inflammatoires (Fujii, 1995 ; Mateescu, 1999).





**Tableau 1:** Composition de la gelée royale et besoins nutritifs \*

(Bogdanov, 2004 ; Bogdanov et *al.*, 2006)

| <b>Composants</b>                       | <b>Teneur<br/>Minimum-maximum</b> | <b>Dose journalière<br/>recommandée<sup>1</sup></b> |
|-----------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Composants principaux</b>            | <b>g/100g</b>                     | <b>g/jours</b>                                      |
| Eau g/100g                              | 60-70                             |                                                     |
| Protéine et acides aminés libres g/100g | 9-18                              | 48-56                                               |
| Lipide g/100g                           | 4-8                               | 80                                                  |
| dont :10-hydroxy-2-décénoïque g/100g    | 1.4-6.0                           |                                                     |
| Sucres totaux g/100g                    | 11-23                             | Env. 300-340 <sup>2</sup>                           |
| <b>Sels minéraux</b>                    | <b>mg/100g</b>                    | <b>mg/jour</b>                                      |
| Total                                   | 800-3000                          |                                                     |
| Potassium                               | 200-1000                          | 2000                                                |
| Magnésium                               | 20-100                            | 800-900                                             |
| Calcium                                 | 25-85                             | 300-350                                             |
| Fer                                     | 1-11                              | 12-15                                               |
| Zinc                                    | 0.7-8                             | 10-15                                               |
| Cuivre                                  | 0.33-1.6                          | 1.5-3                                               |
| <b>Vitamines</b>                        | <b>mg/100g</b>                    | <b>mg/jour</b>                                      |
| Niacine                                 | 4.5-19                            | 15-18 EN <sup>2</sup>                               |
| Pyridoxine(B <sub>2</sub> )             | 0.2-5.5                           | 1.6-1.8                                             |
| Thiamine(B <sub>1</sub> )               | 0.1-1.7                           | 1.1-1.3                                             |
| Riboflavine                             | 0.5-2.5                           | 1.5-1.7                                             |
| Acide pantothénique                     | 3.6-23                            | 6                                                   |
| Acide folique                           | 0.01-0.06                         | 0.15-0.3                                            |
| Biotine                                 | 0.15-0.55                         | 0.03-0.1                                            |

\*Pour les adultes, selon la "Deutsche Gesellschaft Für Ernährung" (Société allemande de nutrition), 2001





En plus, d'après une étude clinique japonaise, compte tenu de l'action de la gelée royale sur la production d'estrogène (Suzuki et al., 2007) chez les femmes ménopausées se qui signifie qu'elle améliore les symptômes de la ménopause (Kushima et al., 1973 ; Narita et al. , 2006).

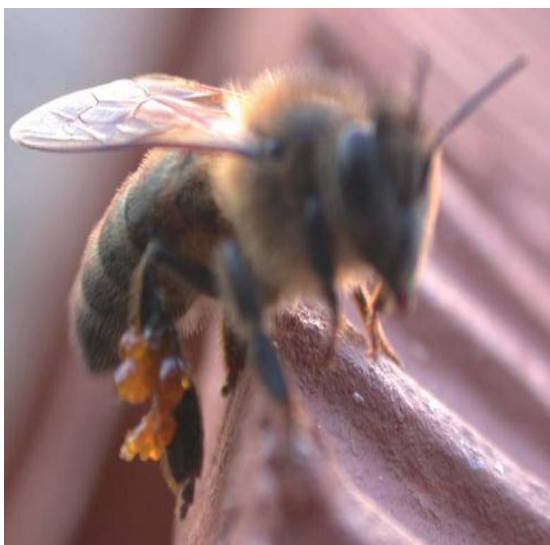
### 1.2.3 Propolis

Le terme propolis vient de grec ; *pro polis* qui signifie «devant la ville» (Ravazzi, 2003).

La propolis est une substance résineuse collectée par les abeilles mellifères (Fig. 7) à partir des bourgeons et des exsudats des arbres et des plantes. Cette substance est ensuite mélangée avec du pollen et des enzymes secrétées par les abeilles (Lu et al., 2005).

La couleur de la propolis est variable selon la source florale (Fig. 8) et l'âge de la colonie. Elle peut être de couleur verte, rouge ou brune sombre (Marcucci, 1995; Sforcin, 2007).

Dans la ruche, il a un rôle multifonctionnel en tant que matériau pour la construction, l'entretien, et la défense (Burdock, 1998).



**Figure 7 :** Photos représentant une abeille récoltant la propolis (Bogdanov et al., 2006 )



**Figure 8 :** Différente couleurs et apparence de la propolis (Bogdanov et al., 2006)

#### A) Composition :

Nommé colle d'abeille, la composition chimique de la propolis est très complexe et variable, elle dépend fortement des sources végétales disponibles autour de la ruche. En outre, la composition de la propolis est dépendante de la saisonnalité, l'altitude, le type de capteur, la disponibilité de la nourriture, et l'activité développée pendant l'exploitation de la propolis





(Toreti et al., 2013). Plus de 300 composés chimiques ont été identifiés dans la propolis de différentes régions (Bankova et al., 2000 ; Calhelha et al., 2014). Les principales classes chimiques et des composés bioactifs présents dans la plupart propolis sont les composés phénoliques, y compris les acides phénoliques, les flavonoïdes et leurs dérivés (Falcao et al., 2010). La composition de propolis dépend de la végétation, de la saison et du site de collecte (Kumazawa et al., 2004 ; Ahn et al., 2007).

La propolis est constituée globalement de 55% de résines et de baumes, de 40% d'huile essentielles et de 5% de pollen (Scazzocchio et al., 2006).

La propolis contient de très nombreux éléments comme de la vitamine A, les vitamines du groupe B, des acides aminés, des flavonoïdes, des acides gras, des aldéhydes aromatiques tels que de la vanilline et isovanilline, et des oligo-éléments comme du fer, du magnésium, du sélénium, du cuivre... Il y a environ 50 à 55% de résines, 30 à 35% de cire (mélange de cire végétale et de cire d'abeille), 3% de pollen, 7% d'huiles essentielles ainsi que 5% d'éléments divers (Fournier, 2009).

## **B) Intérêts et propriétés générales :**

La propolis a un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques qui ont été intensément étudiés dans des expériences cellulaires et sur les animaux et il peut donc être considéré comme un médicament de la ruche (Munstedt et Bogdanov, 2009). La Propolis a une puissante activité antibiotique. Elle est à la fois bactériostatique, bactéricide, fongicide et antivirale (Cedikova et al., 2014) par la présence en flavonoïdes et molécules aromatiques. On utilise la propolis comme cicatrisant et anesthésiant local, pour soigner les rhumes et les maux de gorge, en stomatologie (aphtes en application locale, prévient caries et gingivites...).

Récemment, les chercheurs sont intéressés à étudier la propolis et le cancer (Chan et al., 2013). La propolis et ses composantes, à savoir, l'acide caféique, l'acide caféique phénéthyle ester (CAPE), l'acide 3,5-diprényle-4-hydroxycinnamique (artepillin C), et d'autres, sont fréquemment mentionnés dans la littérature comme substances antitumorale et agents immunomodulateurs (Watanabe et al., 2010, Chan et al., 2013). En effet, grâce aux travaux *in vitro* et *in vivo*, il est possible de définir différents mécanismes d'action de la colle d'abeille et de ses composants, tels que la suppression de la prolifération des cellules cancéreuses par





l'intermédiaire de ses effets anti-inflammatoires, ce qui réduit les populations de cellules souches du cancer, le blocage oncogène spécifique des voies de signalisation, exercer des effets anti-angiogéniques, et moduler le microenvironnement tumoral (Oršolić, 2010 ; Chan et al., 2013 ; Calhelha et al., 2014). Récemment, une nouvelle recherche sur l'évaluation de l'effet de l'extrait éthanolique de propolis (EEP) sur la motilité du sperme humain, l'activité respiratoire mitochondriale, et le potentiel de membrane pour tester le potentiel thérapeutique de ce produit naturel dans le traitement de asthénozoospermie (Cedikova et al., 2014). Cette étude démontre, pour la première fois, que l'extrait éthanolique de propolis augmente l'activités respiratoire mitochondriale complexes II et IV sans affecter le potentiel de la membrane mitochondriale. Les données obtenues suggèrent que la propolis améliore l'efficacité respiratoire mitochondriale totale dans les spermatozoïdes humains *in vitro* présentant ainsi le potentiel d'améliorer la motilité des spermatozoïdes (Cedikova et al., 2014).

La propolis peut se présenter sous plusieurs formes : comprimé, gomme, pâte ou tablette à mâcher, gélule, dentifrice, pommade, baume à lèvres, sirop, savon, spray buccal et nasal, poudre à diluer dans de l'eau, extrait liquide mélangé à de l'alcool ou sans alcool, etc.

Plusieurs chercheurs (Millet, 2006; Lefief-Delcourt, 2010) indiquent qu'il n'y a pas de contre-indications à l'utilisation de la propolis, si ce n'est quelques rares cas de sensibilisation. Néanmoins, les données expérimentales récentes suggèrent que les extraits phénoliques de la propolis comprennent des substances phytochimiques a forte cytotoxicité affichée par la plupart contre des lignées cellulaires tumorales, la propolis a également montré une toxicité pour des cultures non tumorale primaire du foie c'est-à-dire des cellules normales (PLP2).

Da Silva Frozza et ses collaborateurs (2013) ont également étudié la cytotoxicité des extraits de propolis brésilienne rouges pour deux lignées de cellules tumorales (cellules Hep-2 et HeLa) et des cellules de rein embryonnaire épithéliales humaines normales (cellules HEK-293), des rapports aussi élevés valeur de  $CI_{50}$  pour les cellules HEK-293 par rapport à des lignées cellulaires de tumeur (Calhelha et al., 2014).

D'après ces résultats et malgré les bienfaits de la propolis, les chercheurs suggèrent que les propriétés et les composants de ce produit devraient être étudiés plus pour leurs propriétés bioactives. Dans les autres cas, la proximité des doses cytotoxiques *in vitro* pour la tumeur







et lignées cellulaires normales doivent être prises en considération et confirmé par des tests *in vivo*. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer quels composés sont impliqués dans la cytotoxicité contre les cellules normales afin de développer de nouvelles formulations de propolis sans ces composés à utiliser de manière sélective contre les cellules tumorales (Calhelha et al. , 2014).

#### 1.2.4 Cire d'abeille

La cire est la substance grasse sécrétée par les glandes cirières des jeunes ouvrières. Elle se compose d'esters 71%, acides libres 40%, sures 12%, eau 3%, divers autre éléments (Kameda et Tamada, 2009).

Elle résiste parfaitement à l'hydrolyse et à l'oxydation naturelle et elle est totalement insoluble dans l'eau. Les acides et les sucs digestifs des animaux ne peuvent la détruire (Muller et Hepburn, 1994).

##### A) Composition :

La cire est tellement stable qu'elle se conserve très longtemps sans altération en étant conservée dans un récipient hermétique. C'est un corps gras constitué de près de 300 composants, au deux tiers par des esters formés par l'union d'un acide gras et d'un alcool, d'un poids moléculaire élevé, comme les palmitates, et un peu moins d'un tiers par des acides gras libres, des hydrocarbures saturés, des alcools libres... Il y a aussi des traces de pigments, de propolis... et la proportion d'eau s'élève à 2%. La cire est particulièrement riche en vitamine A.

##### B) Intérêts et propriétés générales :

La Cire est très employée en cosmétologie, elle nettoie l'épiderme, nourrit et adoucit le derme. Elle a des vertus cicatrisante et anti-inflammatoire, utilisées dans le traitement de brûlures, crevasses, plaies et vergetures et favorise le transit intestinal. Elle est aussi employée dans les affections rhumatismales comme emplâtre et en dentisterie pour les empreintes et moulages des dents. Elle est très utile dans la formulation des suppositoires et donne un aspect lisse et brillant à certains comprimés (Fournier, 2009).



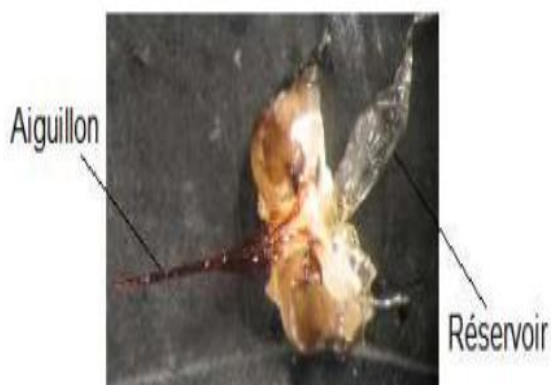


### 1.2.5 Venin d'abeille

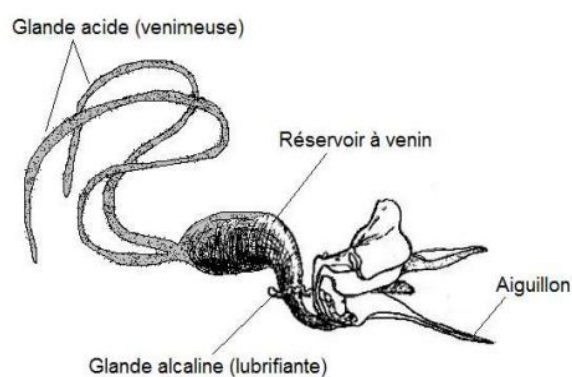
Le venin est un mélange de plusieurs composés, produits de deux glandes, la glande venimeuse et la glande lubrifiante, stockés dans un réservoir (Fig.9 et Fig.10).

Le rôle précis de la glande lubrifiante (ou glande de Dufour) est encore mal connu. La glande venimeuse, quant à elle, produit un poison si violent qu'une injection de 0,3 mg en sous-cutané chez l'homme suffit pour provoquer une douleur très vive (Gharbi, 2011).

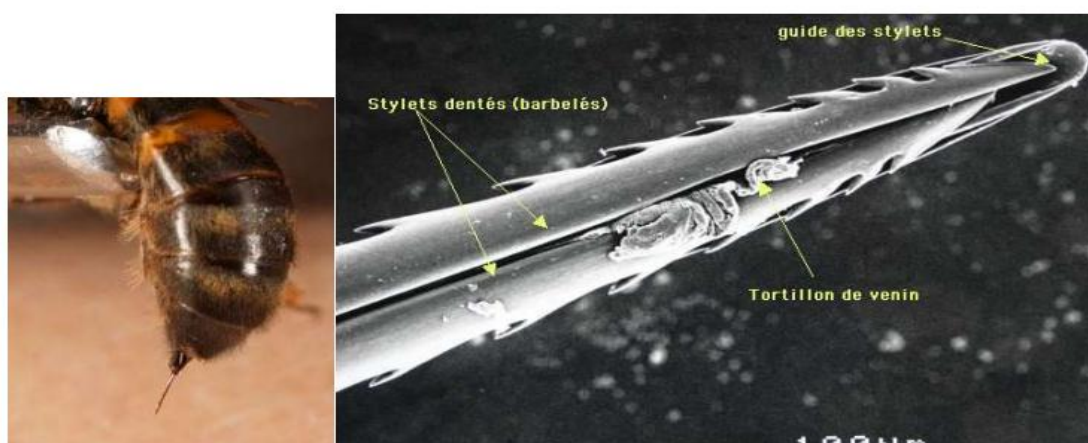
La glande venimeuse est dite acide et la glande lubrifiante alcaline du fait du pH de leurs sécrétions.



**Figure 9 :** Appareil inoculateur de l'ouvrière  
(Gharbi, 2011)



**Figure 10 :** Appareil vulnérant et des glandes associées de l'ouvrière (Gharbi, 2011)



**Figure 11 :** Dard d'ouvrière - extrémité observée au microscope électronique à balayage  
(Gharbi, 2011)





La forme en barbelé du dard potentialise la piqûre mais signe l'arrêt de mort de l'ouvrière qui l'utilise (Fig.11).

En effet, les dents de l'aiguillon contribuent à léser les chairs de l'intrus mais l'empêche d'en sortir. Ainsi, quand une ouvrière pique, les forces qu'elle exerce pour se dégager contraignent l'appareil inoculateur à rester sur la peau de l'intrus, c'est l'autotomie (Jean-Prost 2005 ; Gharbi, 2011) (Fig.12). L'abeille se retrouve avec un abdomen ouvert à son extrémité, et finit par mourir. Des contractions du réservoir injectent petit à petit son contenu dans la chair de l'agresseur (Jean-Prost 2005 ; Gharbi, 2011).

Cependant, une abeille pèse environ 85 mg et son sac à venin environ 4 mg. Lorsqu'une abeille pique, elle injecte une quantité de venin de 0,15 à 0,30 mg au moyen de son aiguillon (Bruneau, 2002).



**Figure 12** : Dard implanté dans une peau Humaine (Gharbi, 2011)

La dose de venin est variable car les muscles continuent à actionner les glandes à venin plusieurs minutes après la piqûre. Il faut enlever rapidement le dard. La qualité du venin des abeilles dépend de leur âge, de leur race, de leur alimentation. Les volumes et la qualité du venin délivrés par une piqûre varient en fonction de l'espèce et de l'âge de l'insecte. L'allergénicité globale du venin augmente avec l'âge de l'insecte (Picaud, 2013).





### A) Composition :

Le venin contient environ 85% d'eau, 15% de différentes substances comme des essences, des enzymes, Venin d'abeille est connu pour contenir des quantités importantes de plusieurs activités enzymatiques, y compris la phosphatase acide,  $\alpha$ -glucosidase, estérases et peptidases (Hoffman, 2006). Des protéines, des sucres, des phospholipides, des hydrates de carbone, des amines, des acides (Tab. 2) ainsi que des composés anti-inflammatoires tels que l'apamine et la mellitine.

La composition des protéines dépend du nectar butiné, du pollen consommé et de l'âge des abeilles (Cousin, 2010). Une abeille injecte en moyenne par piqûre 50 à 140  $\mu$ g de protéines (Hoffman et Jacobson, 1984; Picaud, 2013).

Le venin se compose de beaucoup d'eau, une histamine, la mélinite, protéines relativement simple, une lysolécine, l'apamine (Prost, 1987). La composition du venin est très complexe et peut varier d'une espèce à une autre.

### B) Intérêts et propriétés générales :

Les propriétés anti-inflammatoires du venin sont connues depuis l'Antiquité. Des textes chinois vieux de 2 000 ans en font mention. De même, (460-377 av. J.-C.), Hippocrate, le père de la médecine, considérait le venin comme un remède idéal pour traiter l'arthrite et les problèmes d'articulations.

Plus précisément, la mellitine que le venin contient, bloque le transfert de l'influx nerveux.

Ils agissent comme des inhibiteurs du système nerveux (ce qui soulage la douleur) et stimulent les corticosurrénales, favorisant ainsi la sécrétion de cortisol plasmatique (anti-inflammatoire physiologique), ce qui explique leurs effets positifs sur les affections rhumatismales (Domerego, 2002).

Aux doses thérapeutiques, il empêche l'apparition de crampes, diminue la vasodilatation des capillaires au niveau du cerveau et la tension artérielle. Il inhibe surtout la réaction inflammatoire et abaisse le seuil de la douleur dans certaines maladies telles que les myalgies, la sciatique. Ainsi, le venin d'abeille a montré des capacités à neutraliser les radicaux libres, en particulier l'ion hydroxyle (Yiangou et al. 1993).





**Tableau 2 :** Composition de matière sèche du venin d'abeille. Selon (Bogdanov et Matzke, 2003 ; Bogdanov et *al.*, 2006)

| Substance                         | Quantité en % |
|-----------------------------------|---------------|
| <b>Protéines</b>                  |               |
| Phospholipase A                   | 10-12         |
| Hyaluronidase                     | 1-3           |
| Phosphatase, glucosidase          | 1-2           |
| <b>Peptides</b>                   |               |
| Melittine                         | 50-55         |
| Sécapine, peptide MCD             | 1.5-4         |
| Tertiapamine, apamine, procamine  | 2-5           |
| Autres petits peptides            | 13-15         |
| <b>Amines biogènes</b>            |               |
| Histamine                         | 0.5-2         |
| Dopamine                          | 0.2-1         |
| Noradrénaline                     | 0.1-0.5       |
| <b>Sucre (glucose, fructose)</b>  | 2             |
| <b>Phospholipides</b>             | 5             |
| <b>Acides aminés</b>              |               |
| Substances volatiles (phéromones) | 4-8           |
| Sels minéraux                     | 3-4           |

Aussi, il a une action immunostimulatrice car après injection, le venin agit comme antigène. En effet, l'organisme répond en mobilisant le système immunitaire qui réoriente les défenses vers une autre cible. On parle d'immunomodulation. Ce mécanisme serait à la base d'une des propriétés thérapeutiques du venin d'abeille. Cette action est retrouvée dans l'étude de Sayed et ses collaborateurs (2009). Il possède aussi une action anti-tumorale, antimicrobienne (Samy et *al.*, 2006), antifongique, antivirale et antiallergique (Bogdanov et *al.*, 2006).





## *CHAPITRE 2*





## 2.1. Histoire de l'utilisation du miel et l'avis des écrits religieux

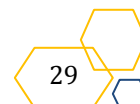
L'abeille est l'une des plus importantes et complexe créatures de dieu, elle jouit d'un statut important. Cette créature est capable de synthétiser plusieurs produits dont le miel. En effet, l'abeille et le miel ont depuis la nuit du temps fasciné les hommes. On sait que le miel est un aliment connu depuis fort longtemps: sur les parois de la grotte de l'Araignée (*Cueva de la Araña*) près de Valence en Espagne, on a retrouvé des peintures préhistoriques (Fig.13) montrant que l'homme pratiquait la cueillette d'essaims. On y voit un homme suspendu à des lianes, portant un panier pour recueillir sa récolte, la main plongée dans un tronc d'arbre à la recherche de rayons de miel.



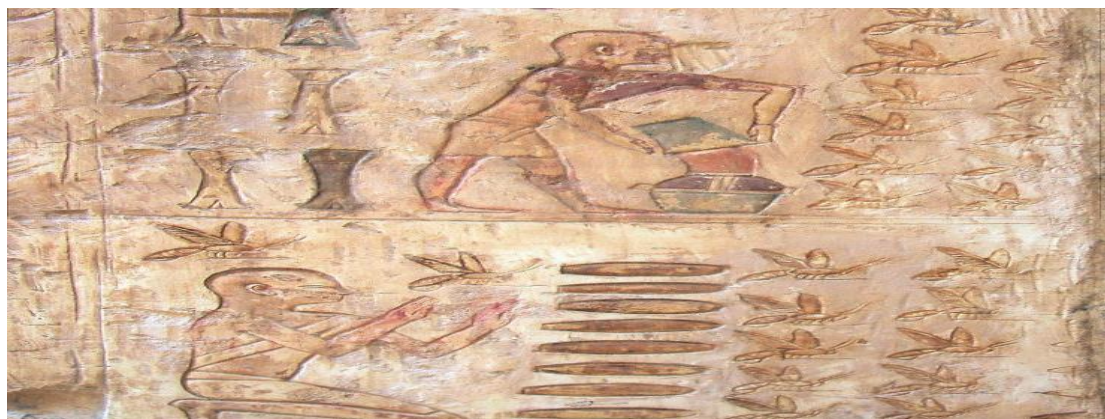
**Figure 13:** Peinture néolithique rupestre de la *Cueva de la Araña* (Valence, Espagne; -5000 av. J.-C.) Représentant la “cueillette” du miel par une silhouette féminine (Michez, 2007)

On lui reconnaît aussi depuis la plus haute Antiquité des propriétés médicinales préventives et curatives qui ont été longtemps utilisées empiriquement. Dès 2700 avant J.C., des tablettes d'argile mésopotamiennes mentionnent le miel non pas comme un aliment, mais comme un médicament (Hoyet, 2005).

Les égyptiens connaissaient bien le miel (Fig.14) dont ils se servaient mélangé à de la propolis pour embaumer leurs morts et les empêcher de se putréfier. Ils l'utilisaient également pour panser les blessures et pour soigner les yeux.





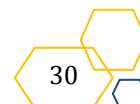


**Figure 14:** Scène de récolte de miel dans l’Egypte antique.

(Encyclopédie universelle a l’article abeille) (<http://www.encyclopedia-universelle.com/>).

Les Grecs et les Romains appliquaient le miel sur la peau pour ses propriétés adoucissantes, régénératrices, nourrissantes et hydratantes. Hippocrate (460-377 avant J.-C.), «père spirituel» de la médecine, disait que l’usage du miel conduisait à la plus grande vieillesse et il le prescrivait pour combattre la fièvre, les blessures, les ulcères et les plaies purulentes (Domerego, 2002). Au Moyen Age, le miel était utilisé pour la fabrication du pain d’épices, mais aussi pour la réalisation de pansements sans désinfection préalable des blessures. Dans la tradition musulmane, des fleuves de miel coulent au paradis (Lefief-Delcourt, 2010). L’abeille a pris une place importante dans notre religion islamique, elle jouit d’un statut important. Les abeilles et le miel qu’elles produisent, étant cités deux fois dans le Coran, acquièrent une importance capitale tant la religion est interconnectée avec les habitudes de la population.

Dans le coran notre dieu consacre une sourate «An-Nahl» (abeille en arabe) et dont les versets 68 et 69 sont donc dédiés aux abeilles et au miel. En effet, le fait de consacrer une sourate entière à cet animal montre son importance pour la religion musulmane. Le premier verset est comme suit: « *Et voilà ce que ton Seigneur révéla aux abeilles: Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres, et les treillages que les hommes font.*» Ce premier verset évoque, sous forme d’allégorie, les abeilles comme une société organisée, établie dans les habitats végétaux puis les ruches. Il transparaît que c’est donc Allah qui indique aux abeilles leur lieu de séjour et par la suite leur nourriture (Crousilles, 2014).





Le second verset s'attache plus au comportement de récolte et au produit final comme suit : «Puis mangez de toute espèce de fruits, et suivez les sentiers de votre Seigneur, rendus faciles pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour des gens qui réfléchissent.» Ibn Abbas nous annonce que le prophète Mohamed (PBUH), a dit «Conservez avec vous les deux remèdes, le miel et le Coran» [rapporté par Ibn Majah]. Sans oublier la parole de Dieu: *«De leur ventre sort une liqueur, aux couleurs variées dans laquelle il y a une guérison pour les gens»* An-Nahl (69).

On remarque déjà l'aspect thérapeutique du miel. D'ailleurs, ce propos est largement appuyé par la parole du prophète Mohammed, rapportée par Ibn Abbas, qui a déclaré que le miel à un effet thérapeutique sur une maladie physique, «La guérison réside dans 3: une gorgée de miel, une scarification, ou une cautérisation avec du feu; et j'interdis le feu à ma communauté.» [Rapporté par Al-Bokhari]. Ainsi, le Coran est une guérison, une miséricorde pour les croyants et aussi efficace pour le traitement de la maladie. De ceci, il est nécessaire de suivre le conseil du prophète Mohamed (la paix et les bénédictions de Dieu soient sur lui): utilisez le miel comme une matière essentielle, soit pour la nourriture ou pour la guérison, et c'est confirmé par expérience. Cette dernière a montrée aussi, que la lecture de quelques versets coraniques tel que: [Sourate Al Fatiha (sept fois)] et le verset [dans laquelle il y a une guérison pour les gens (sept fois)], sur la boisson du miel, augmente le pouvoir guérissant de cette matière mystérieuse, et Dieu sait mieux.

La religion chrétienne n'échappe donc pas à la règle puisque le miel a été mentionné dans le Talmud, les anciens et nouveaux testaments de la Bible (Al-Waili et al., 2012), les textes bibliques considèrent le miel comme symbole d'abondance et de bénédiction (Sorkhi et al., 2012).

### 2.2. Définition du miel:

Les organisations internationales (Codex Alimentarius, 1981; Pharmacopée européenne, 2008) sont d'accord pour définir le miel comme une substance sucrée, naturelle, produite par les abeilles. Les matières premières sont le nectar des plantes ou le miellat, une substance sucrée et collante excrétée par les pucerons et autres insectes suceurs et souvent déposé sur les





feuilles et les tiges. Les abeilles recueillent ces matériaux, et vont les transformer en miel, en les combinant avec des matières spécifiques qui leurs sont propres. Enfin, le miel est déshydraté et stocké dans les rayons de cire pour l'affinage et la maturation.

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, par définition, un produit 100% naturel, l'homme n'intervenant absolument pas dans sa fabrication proprement dite.

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).

### 2.3. Différents types de miel

La variété des types de miel est considérable, mais il est possible d'opérer des classements simplificateurs en utilisant divers critères (Emmanuelle et al., 1996) dont les principaux sont:

- **Classification en fonction de l'origine florale:**

Deux types sont connus: miel de nectar et miel de miellat et la majorité des miels proviennent d'une flore bien diversifiée.

- Miel de fleurs ou de nectars, obtenus à partir du nectar des plantes.

Le nectar est essentiellement une source de sucre pour l'abeille. En effet, le nectar est une solution de sucre de concentrations variables: de 5 à 80%. Environ 95% des matières sèches sont des sucres, le reste sont acides aminés (0,05%), minéraux (0,02 à 0,45%), de petites quantités d'acides organiques, des vitamines et composés d'arôme.

La composition en sucres est également typique pour chaque espèce végétale. Des études à grande échelle sur plus de 900 espèces ont relevé que les nectars floraux et extra-floraux contenaient principalement du glucose, du fructose et du saccharose en proportions très variables entre les espèces (Dechaume-Moncharmont, 2003).



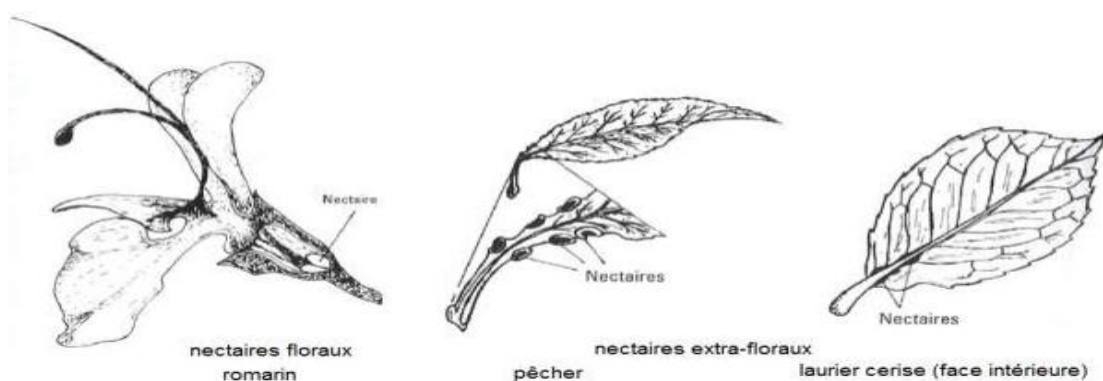


La plupart des plantes nectarifères sont constituées principalement de fructose et de glucose (60-85%); mais dans certaines installations le nectar est principalement le saccharose (par exemple la lavande) (De la Fuente et al., 2011; Ulloa, 2012).

La concentration en sucre dépend de différents facteurs climatiques telles que la température, l'humidité du sol et de la saison. Lorsque l'humidité est élevée, la quantité de nectar est plus grande, mais la concentration en sucre est plus petite.

Les abeilles butinent pour leurs besoins énergétiques. Plus la valeur de sucre d'une usine, plus il est visité par les abeilles pour butiner (Weryszko-Chmielewska et Chwil, 2007; Bentabol et al., 2011; Ulloa, 2012).

Sachant que, le nectar des plantes a une composition qui dépend bien entendu de l'espèce florale mais aussi des conditions hygrométriques de l'air et du sol et des conditions climatiques en général. L'eau représente de 40 à 80% de sa composition. Enfin, des minéraux, des protides et lipides s'ajoutent à sa composition (Domerego et al., 2009; Prost, 2005).



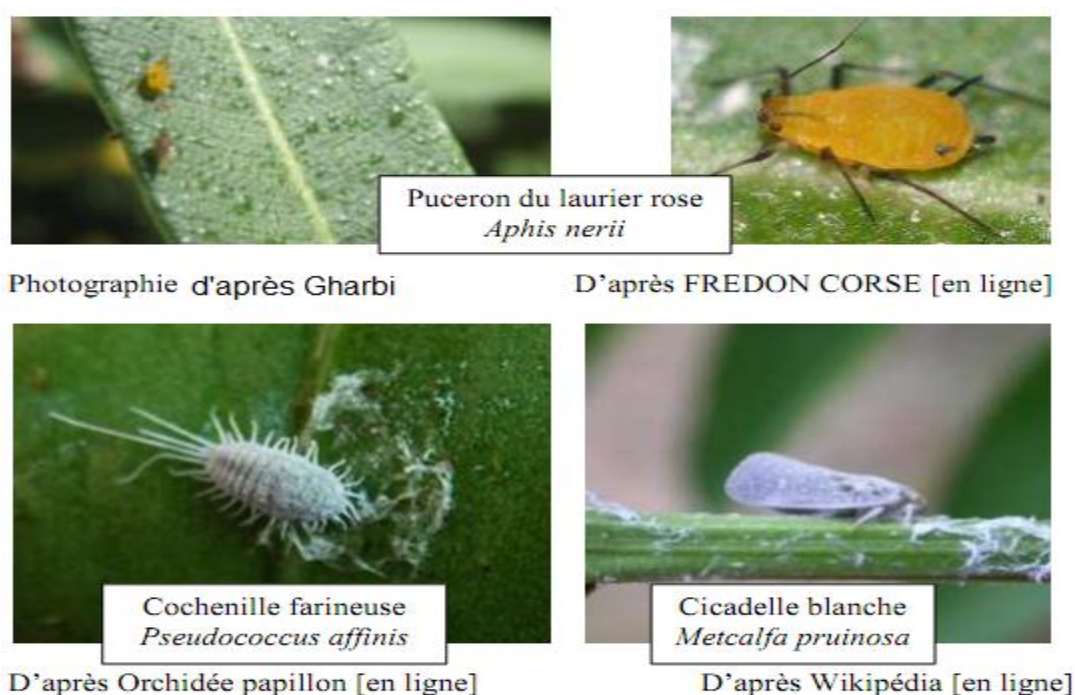
**Figure 15:** Exemples de nectaires Modifié (d'après Prost, 2005)

La sécrétion de nectar, appelée miellée, varie en fonction de nombreux facteurs dont les principaux sont: la nutrition de la plante, les conditions météorologiques (pluies suivies de soleil), le moment de la journée où les nectaires sécrètent, la situation géographique et le moment où la fécondation florale a eu lieu. En effet, le nectar sécrété «sert» à attirer les insectes pour la pollinisation. En cas de fécondation, la sécrétion de nectar devient inutile et cesse. Tous ces facteurs de variation sont par conséquent responsables de grandes différences de rendement en miel d'une année à une autre (Prost, 2005).





Miel de miellat, obtenu à partir des sécrétions des insectes suceurs (*Hemiptera*, surtout les pucerons), ou à partir des sécrétions provenant des plantes (Serra, 1988). En effet, le miellat est un liquide sucré que butinent les abeilles et autres insectes sur les feuilles et/ou l'écorce de divers arbres ou arbustes: sapin, mélèze, épicéa, pin, cèdre, érable, chêne, tilleul, mais aussi sur les céréales dont le maïs. Le miellat n'est autre que la substance excrétée par des Hémiptères parasites des végétaux (pucerons, cochenilles, cicadelles) qui se nourrissent de la sève élaborée, riche en substances nutritives (Fig.16).



**Figure 16 :** Producteurs de miellat blanche (Gharbi, 2011)

Cependant, d'autres plantes, par exemple coton, de luzerne et de tournesol peuvent également fournir de miellat (Sanz et al., 2005; Bentabol et al., 2011).

Le miellat est une solution avec différentes concentration en sucre (5-60%), contenant principalement du saccharose, outre les sucres supérieurs (oligosaccharides). Il existe également de plus petites quantités d'acides aminés, des protéines, des minéraux, des acides et des vitamines. En outre, de miellat contient des cellules algales et fongiques, mais ils ne sont pas spécifiques de l'origine de miellat. Certains insectes produisent des quantités élevées de la mélézitose, un trisaccharide (Bentabol et al., 2011). De nombreux facteurs







influencent la production de miellat, également appelée miellée. Lorsque le nectar abonde, les butineuses le préfèrent au miellat (Doner, 1977). Cependant, le miellat est une source alimentaire intéressante quand les conditions climatiques sont défavorables à la récolte du nectar (Clément et al., 2009). Cependant, le flux de miellat dépend aussi des conditions météorologiques favorables pendant la période de miellée (Bentabol et al., 2011; De la Fuente et al., 2011; Ulloa, 2012).

Le tableau (3) montre les différences de composition entre le nectar et le miel de miellat pour certains paramètres physico-chimiques de ces sortes de miels.

- Les miels peuvent provenir de façon prédominante d'une plante déterminée (tournesol, acacia,...) qu'on appelle miels unifloraux, mais il est impossible d'empêcher tout mélange avec le miel provenant de fleurs secondaires ou ceux issus d'un nombre de fleurs différentes appelés aussi miels multifloraux (Philippe, 1988). Cependant, les miels polyfloraux ne sont pas susceptibles d'avoir une appellation florale précise.

- **Classification en fonction de l'origine géographique :** Certains miels polyfloraux ont acquis une réputation qui est liée à leur origine géographique, ils sont désignés d'après le lieu de récolte, exemple miel de montagne, miel de forêt, ...

- **Classification selon la couleur, le parfum et la saveur:** On distingue une coloration très variable, du presque incolore au presque noir. Elle varie selon l'espèce butinée (teneur en différents sucres) et la rapidité de la sécrétion (miel clair si sécrétion rapide) (Gonnet et Vache, 1985).

Il existe des miels de parfum et de suavité extrême et il existe aussi des miels possédant une agréable saveur le cas du miel d'oranger.

- **Classification en fonction du mode de production et/ ou présentation:**
  - Miel en rayons, emmagasiné dans les alvéoles operculées de rayons fraîchement construits par les abeilles, sans couvain.
  - Miel avec morceaux de rayons.
  - Miel égoutté, obtenu par égouttage des rayons désoperculés (Bogdanov, 2009).
  - Miel centrifugé, obtenu par centrifugation des rayons désoperculés.





**Tableau 3:** Différences de la composition et de certains paramètres physico-chimiques de miel de nectar et de miel de miellat (g/100 g). selon (Bogdanov, 2009; Bentanol et *al.*, 2011)

| Composés                      | Miel de nectar | Miel de miellat |
|-------------------------------|----------------|-----------------|
| Eau                           | 15- 20         | 15- 20          |
| Hydrate de carbones           | 72- 85         | 73- 83          |
| Fructose                      | 30 -45         | 28 - 40         |
| Glucose                       | 20 -40         | 22.9 - 40.7     |
| Saccharose                    | 0.1 - 4.8      | 0.2 - 7.6       |
| Mélezitose                    | <0.1           | 0.3 - 22.0      |
| Erlose                        | 0.56           | 0.16- 1.0       |
| Tréhalose                     | 1.2- 2.4       | 1.2 - 2.9       |
| Turanose                      | 1.0- 2.1       | 0.7- 2.2        |
| Autres disaccharide (maltose) | 28             | 16              |
| Autres oligosaccharides       | 0.5- 1.0       | 0.1- 6.0        |
| Sucres totaux                 | 79.7           | 80.5            |
| Acides                        | 0.2 - 0.8      | 0.8- 1.5        |
| Activité de l'eau             | 0.56- 0.61     | 0.57- 0.61      |
| Minéraux                      | 0.1- 0.5       | 0.6 - 2         |
| Acides aminées, protéines     | 0.2 - 0.4      | 0.4 - 0.7       |
| pH                            | 3.5 - 4.5      | 5.5- 6.5        |
| Rotation optique              | Lévogyre (-)   | Dextrogyre(+)   |
| Activité diastasique (Gothé)  | 8.9 - 35.9     | 4.5 - 25.8      |







- Miel pressé, obtenu par pressage des rayons, avec ou sans chauffage (45°C au maximum).
- Miel filtré, obtenu par élimination des matières étrangères, ce qui entraîne l'élimination de quantités significatives de pollen. La dénomination «miel filtré» doit être apposée sur ce produit (Gonnet et Vache, 1985).

## 2.4. Le miel : de la ruche aux pots

Une fois la source de nectar ou de miellat choisie, les butineuses la diluent avec de la salive. Ceci facilite l'aspiration du liquide, devenu moins visqueux, par les muscles pharyngiens (Maurizio 1968; Marchenay et Berard 2007; Gharbi, 2011).

Le jabot des abeilles peut se remplir d'un butin pouvant atteindre 40 à 70 mg, soit presque leur propre poids. Les abeilles effectuent 20 à 50 voyages par jour, depuis la ruche jusqu'à la plante dans un rayon de 500m à 2 km depuis la ruche. Le nectar aspiré est alors accumulé dans le jabot de la butineuse où il commence sa transformation. Puis dans le tube digestif, des enzymes appelées les gluco-invertases, transforment le saccharose en glucose et fructose.

Elles le rapportent à la colonie où elles peuvent soit le dégorger dans une alvéole proche de l'entrée, soit le transmettre à une ouvrière d'intérieur par trophallaxie (Prost, 2005; Marchenay et Bérard, 2007; Bruneau, 2009; Gharbi, 2011).

Il est ensuite déposé dans une alvéole qui sera operculée par une couche de cire afin d'assurer sa conservation. La concentration en eau est encore de 50% et va diminuer progressivement par évaporation grâce à la chaleur régnant dans la ruche et à la ventilation assurée par les abeilles ventileuses.

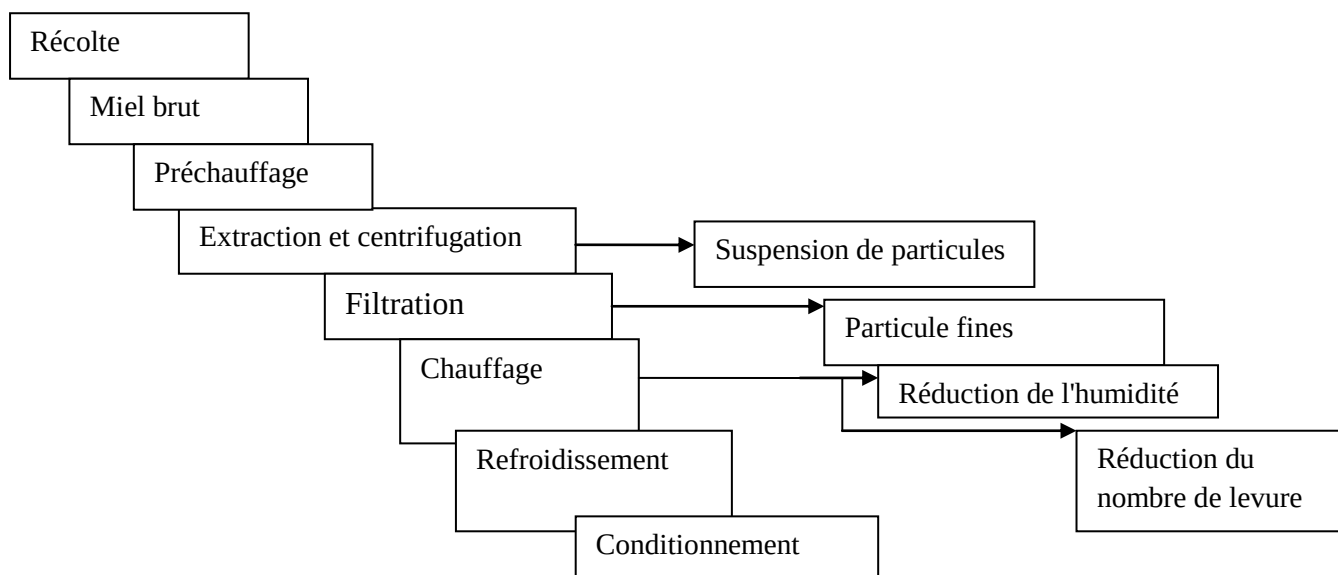
On obtient ainsi une substance concentrée en sucres simples (80%) et pauvre en eau (18%) qui constitue pour la ruche une réserve alimentaire énergétique ne s'altérant pas dans le temps. Les abeilles bâtisseuses vont également s'en servir pour former la cire nécessaire à la construction des cellules de la ruche; ce qui fournit une enceinte scellée idéale à la bonne conservation du miel (Bruneau, 2009). Pour produire 1kg de miel, il faudrait en moyenne que les butineuses visitent 20.000.000 de fleurs (Marchenay et Bérard, 2007; Gharbi, 2011).

En effet, nous devons citer les étapes de production avec quelques conseils pour gagner un miel de bonne qualité. Néanmoins, la récolte du miel suit un schéma type (Prost, 2005; Peacock, 2008; Lequet, 2010; Gharbi, 2011):

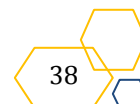




- Il faut tout d'abord commencer la récolte en récupérant les cadres garnis de miel. Les alvéoles sont ensuite désoperculées manuellement avec un couteau ou plus souvent mécaniquement et le miel est extrait des cellules par force centrifuge. En suite, tenir en considération les méthodes de récolte du miel parce qu'ils ont des effets différents sur la qualité finale et l'acceptabilité du produit. Ainsi, dans une recherche de [Babarinde et ses collaborateurs \(2011\)](#), sur l'étude de l'effet de deux méthodes de récolte sur la qualité physico-chimique et microbiologique des miels Nigériens, basait sur la comparaison d'un miel traditionnel (miel dans bûches de bois) et des miels extraits par les méthodes modernes d'extraction, alors, les résultats ont révélés que les miels récoltés en utilisant une méthode moderne avaient une meilleure qualité, sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques.
- Le miel doit être, ensuite, épuré par filtration, centrifugation ou décantation afin d'enlever les débris et les impuretés car le miel est un produit semi-solide, contient les pollens, la cire d'abeille, et d'autres matières indésirables, en plus des levures, qui doivent être éliminés afin d'obtenir une meilleure qualité du produit et durée de vie. La chaleur ou le traitement thermique de miel élimine les micro-organismes responsables de l'altération et réduit la teneur en humidité à un niveau qui retarde l'initiation de processus de fermentation. Le schéma du processus général de transformation du miel est représenté par la figure 17.



**Figure 17:** Méthode conventionnelle du traitement du miel d'après ([Subramanian et al., 2007](#) avec modifications)





Le miel est laissé au repos pendant trois à quatre jours à une température de 20°C dans un maturateur hermétiquement fermé afin que l'ensemble des impuretés remonte à la surface et constitue une écume qui sera retirée.

Par conséquent, le miel est traité avant l'emballage en pots ou autres récipients. Le type de matériel utilisé et les étapes suivies dans le traitement, cependant, dépendront de l'ampleur des opérations (Subramanian *et al.*, 2007; Babarinde *et al.*, 2011).

Finalement, après l'étape de maturation, les pots ou les récipients sont remplis un à un et fermés immédiatement, il doit être conservé idéalement à 14°C, à l'abri de la lumière, dans un endroit sec et aéré.

### 2.5. Valeurs du miel.

#### 2.5.1. Valeur alimentaire et diététique

Le miel est une véritable substance naturelle très riche en sucres simples directement assimilables par l'homme, doué d'un pouvoir sucrant plus important que le sucre blanc ordinaire composé uniquement de saccharose, tout en ayant un apport calorique moindre.

En effet, le pouvoir sucrant du fructose et glucose contenus dans le miel est en moyenne de 1,3 par rapport à une base de 1 pour le saccharose du sucre de canne ou de betterave. 100 g de miel apportent en moyenne 300 calories, alors que 100 g de sucre saccharose en apportent 400 kcal/100g. Son pouvoir sucrant est moins important que celui du miel: pouvoir sucrant de 1,0 contre 1,3 pour le miel (Domerego *et al.*, 2009). C'est à dire que pour sucrer également quelque chose, où il vous faut 10 g de sucre, contre 7,5 g de miel, et qu'au lieu d'absorber 40 calories, vous n'en prenez que 22, soit presque la moitié (Donadieu, 1984).

La richesse du miel en fructose et glucose est à l'origine de son importante action dynamogénique et stimulante du cœur recherchée par les sportifs et les gens fatigués, ainsi que de sa puissance calorique qui lui permet de satisfaire aux besoins énergétiques de l'organisme dans des conditions optimales sous un volume très réduit de nourriture, ce qui est d'un grand intérêt dans tous les cas de perte de l'appétit (surtout chez les enfants et les personnes âgées) et dans certains régimes alimentaires médicaux (celui de l'insuffisance rénale par exemple).



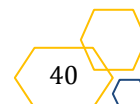


### 2.5.2. Valeur thérapeutique

Avant toute chose, l'ouvrage «L'authentique de la Médecine Prophétique» d'Ibn Al-Qayyim mentionne les nombreux avantages thérapeutiques du miel. *«Il évacue les débris des veines, des intestins et autres. Il dissipe l'humidité par ingestion ou application (externe), il est aussi utile aux vieillards, aux personnes flegmatiques et à l'humeur froide et humide. Il est nourrissant, facilite les selles, conserve la texture des pâtes et de tout ce qu'on y dépose, fait disparaître le goût des remèdes répugnants, purifie le foie et la poitrine, c'est un diurétique et il convient à la toux glaireuse».*

Toujours selon Ibn-Al Qayyim, le Prophète (Sala Allahu Alayhi wa Salam) prenait du miel avec de l'eau froide. C'était un bon remède pour préserver sa santé et s'entretenir. Par ailleurs, selon des conditions d'authentification élaborées par l'extraits de Bokhari et de Moslim «*Usez des deux matières thérapeutiques: **Le miel et le Coran***» (Ibn Mâja, et Al Hâkim).

Plusieurs effets thérapeutiques positifs ont été relevés à partir de l'utilisation du miel grâce a ces nombreux composants lui confèrent plusieurs propriétés intéressantes. Le miel joue un rôle anti-inflammatoire par la neutralisation des radicaux libres, libérés par l'activité de phagocytose, dans le cas où un stimulus inflammatoire persiste, stimulant ainsi la production de cytokines ce qui amplifie la réponse inflammatoire. (Molan, 2009; Van Den Berg et al., 2008). Toutefois, le miel a aussi des propriétés anticancéreuses prouvées par les travaux Orsolić et ses collaborateurs (2003), qui ont observé que chez des souris et des rats, l'administration orale et quotidienne de miel durant les 10 jours avant l'inoculation de cellules cancéreuses de carcinome mammaire et colique a permis d'inhiber la formation de métastases avec des doses de 2 g/kg pour les souris et 1 g/kg pour les rats (Orsolić et al., 2003). La recherche de Attia et ses collaborateurs (2008), notamment effectuaient chez la souris, avec une administration orale de miel (10, 100 ou 1000 mg/100g de poids vif) a montré une action préventive *in vitro* et *in vivo* sur le développement de la tumeur «*Ehrlich ascites tumor*», injectée en intra-péritonéal. La prolifération tumorale et la viabilité des cellules tumorales ont été inhibées. Ainsi selon la même recherche ils ont montré l'induction d'une augmentation des cellules de la moelle osseuse et des macrophages péritonéaux.





Les capacités de phagocytose des macrophages et les fonctions des lymphocytes B et T ont également été augmentées. Par conséquent, le miel est doué d'une action immunostimulatrice importante.

Dans un autre rayon, le miel comprend aussi une action antivirale, Zeina et ses collaborateurs (1996) ont montré une action, *In-vitro*, du miel sur le virus de la rubéole.

De même, *in vivo*, le miel utilisé dans l'étude d'Al-Waili (2004) a révélé une activité antivirale supérieure à celle de l'acyclovir® sur des lésions dues au virus de l'herpès simplex labial et génital (types 1 et 2) chez l'homme (Gharbi, 2011).

En plus, le miel comprend la capacité d'améliorer la croissance et l'activité des bifidobactéries dans le lait et les bifidobactéries intestinales *in vitro*. Cela a été signalé et suggéré qu'il peut être dû à la composition d'hydrate de carbone unique et mélange complexe d'oligosaccharides présents dans le miel (Chick et al., 2001; Kajiwarra et al., 2002). Les bifidobactéries spp. y compris *Bifidobacterium longum* probiotiques sont les organismes vivants qui affectent l'hôte d'une manière bénéfique (Montrose et Floch, 2005; Jan Mei et al., 2010).

Enfin, outre ses activités sus mentionnées, le miel jouit d'une propriété nettoyante et désinfectante, cicatrisante des plaies et autres...

Les divers bienfaits de ce produit noble, miel, font de lui un trésor requis pour tout musulman désireux de se soigner selon les préceptes de la *Sunna* et le *Coran*. Il n'est donc pas étonnant que notre prophète **Mohamed** (Sala Allahu Alayhi wa Salam) en prenait régulièrement.

Dieu dont le nom est béni et exalté a raison de dire: **«De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour des gens qui réfléchissent».**

Cependant, la croyance est la condition indispensable à la guérison, car seul Dieu guérit.

**«Nous faisons descendre du Coran, ce qui est une guérison et une miséricorde pour les croyants»** (verset 82 de la Sourate Al-Isra).





## 2.6. Propriétés biologiques

Le miel est considéré comme un produit naturel qui fait partie de la médecine traditionnelle depuis la nuit du temps. Le rôle bénéfique de miel est partiellement attribuable activités de ses composants bioactifs.

La quantité et le type de ses composés dépend largement de la source florale / variété de miel, les facteurs saisonniers et environnementaux, ainsi que les conditions de traitement et de stockage (Gheldof et *al.*, 2002; Silici et *al.*, 2010; Lachman et *al.*, 2010; Khalil et *al.*, 2010; Ulloa, 2012).

### 2.6.1. Propriété antibactérienne

Le miel a des propriétés antibactériennes connues depuis plus d'un siècle. Quoiqu'utilisé dans de nombreuses cultures depuis des millénaires, son efficacité avait été constatée sans reconnaissance de ses propriétés antibactériennes (Assie, 2004).

Le miel est un bactériostatique et bactéricide. Son activité est attribuée à l'osmolarité élevée, l'acidité et à la composition chimique (tel que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les substances volatiles, des composés phénoliques, de cire d'abeille, nectar, pollen et propolis).

Les variations dans le type et le niveau de l'activité antimicrobienne du miel sont associés à leur origines floral, l'emplacement géographique de la source florale, l'âge et la santé de la colonie (White, 1956; Bogdanov, 1997). L'activité antibactérienne du miel de nectar est plus influencée par la chaleur, de la lumière et le stockage que le miel de miellat (Bogdanov, 2009).

L'action antibactérienne du miel est déterminée par plusieurs facteurs et quatre d'entre eux sont mis en avant: l'osmolarité, le pH acide, la présence du système peroxyde d'hydrogène, la présence du système non-péroxyde.

### 2.6.2. Propriété anti-oxydante

De jour en jour la demande de produits naturels augmente pour une alimentation saine, à la fois en raison des effets négatifs possibles d'additifs alimentaires synthétiques sur la santé





humaine et de la perception du consommateur accrue de ce problème au cours des dernières années (Baltrušaitytė et al., 2007; Ertürk et al., 2014). Le miel est à la tête de la liste de ces types de produits naturels.

Selon des études récentes, les substances antioxydantes disponibles dans diverses sources naturelles et les aliments peuvent effectivement représenter un moderne «fontaine de jouvence». Les preuves suggèrent que les vitamines C et E et le bêta-carotène, un précurseur de vitamine A, peut réduire le risque de certaines formes de cancer, les maladies cardiaques, accidents vasculaires cérébraux, et les cataractes et peut ralentir le processus de vieillissement.

## 2.7. Cas d'intoxication

Le miel est en effet susceptible de contenir des spores de *Clostridium botulinum*, agent du botulisme, bactérie présente dans l'environnement, le sol et les poussières. Le pollen et le nectar sont les sources de contamination. Les abeilles sont alors porteuses, dans leur tube digestif, de spores de *Clostridium botulinum* qui peuvent contaminer le miel. Pour les enfants de moins d'un à deux ans, le risque est de développer un botulisme en ingérant le miel car leur système digestif encore immature permet à cette bactérie de proliférer et donc de produire de la toxine botulique. Il faut souligner que la quantité de germes contaminants dans le miel est très faible et que pour les miels à usage médical un contrôle strict est exercé (Salomon et al., 2010).

D'après Faliu (1994), des intoxications par le miel ont été observées depuis des siècles et sur plusieurs continents, mais elles sont extrêmement rares. Toutes les plantes toxiques butinées ne donnent pas obligatoirement des miels toxiques, car il faut d'une part que le poison se retrouve dans le nectar (c'est le cas le plus fréquent), le pollen ou le miellat, et que, d'autre part, les plantes toxiques butinées soient très abondantes pour que le miel contienne une quantité suffisante de toxine susceptible de provoquer des symptômes (Lequet, 2010).

Par conséquent, le miel produit à partir de fleurs de certaines plantes peut causer des intoxications engendrant divers symptômes tels que des étourdissements, une faiblesse, transpiration, nausées, vomissements, hypotension, choc, et l'arythmie et parfois la mort (Al-Waili et al., 2012).







En fait, certaines substances sont toxiques pour les humains mais ne sont pas toxiques pour les abeilles (Adrienne, 1995). Le nectar de certaines plantes toxiques (Tab.4) produit du miel qui est parfois mortelle.

Cependant, un autre cas de toxicité de miel est du fait que la fermentation du miel produit de l'éthanol qui est toxique. En effet, il existe de nombreux rapports qui discutent le miel toxique, mais peu d'études d'observation dans la littérature scientifique ont été signalés jusqu'à présent (Al-Waili et al., 2012).

**Tableau 4:** Noms de certaines plantes dont le nectar donne lieu à des miels toxiques.  
(Al-Waili et al., 2012)

| Nom de plante                                                                                                        | Origine et effets                                                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Rhododendron ponticum</i><br>( <i>Azalea pontica</i> ).                                                           | contient des alcaloïdes qui sont toxiques pour les humains                                                                                   |
| <i>Andromeda</i>                                                                                                     | fleurs contiennent grayanotoxines qui sont psychoactives et toxiques pour les humains (membres et paralyser diaphragme et entraîner la mort) |
| <i>Kalmia latifolia</i> , la brousse de calicot, laurier de montagne, ou en bois de cuillère du nord des États-Unis. | Les espèces alliées produire la maladie ou la mort. Originaire du nord des Etats -Unis                                                       |
| Wharangi brousse, <i>Melicope ternata</i> ,                                                                          | en Nouvelle-Zélande et le miel produit est toxique et fatale.                                                                                |
| <i>Datura</i>                                                                                                        | plantes au Mexique et en Hongrie.                                                                                                            |
| <i>Tutu (Coriaria arborea)</i>                                                                                       | en Nouvelle-Zélande, produire Tutin qui est un membre du groupe de la picrotoxine de poisons                                                 |
| <i>Nerium Oleander</i>                                                                                               | Dans la région méditerranéenne                                                                                                               |
| Fleurs <i>belladone</i> , jusquiame<br>( <i>Hyoscyamus niger</i> )                                                   | plantes en Hongrie                                                                                                                           |
| <i>Serjania lethalis</i>                                                                                             | au Brésil                                                                                                                                    |
| <i>Gelsemium sempervirens</i>                                                                                        | dans le Sud-Ouest américain.                                                                                                                 |





## 2.8. Facteurs qui influencent la qualité d'un miel au cours de l'entreposage:

Selon le type de miel, les conditions de son entreposage, le miel va au fil du temps subir des modifications plus ou moins importantes susceptibles de lui faire perdre une partie de sa valeur alimentaire ou de détériorer ses caractères organoleptiques.

Parmi les nombreux facteurs influençant la qualité du miel on peut citer:

### 2.8.1 Vieillissement:

On a toujours eu l'idée que le miel est une denrée non périssable de conservation pratiquement non définie en se référant à des échantillons de gâteaux de cire datant de la période égyptienne contenant du miel encore consommable, mais cette idée a été controversée par plusieurs auteurs qui ont signalé que le miel ayant subi un long vieillissement à température ambiante peut s'altérer à cause des réactions chimiques ou des dégradations biologiques.

On peut résumer les principaux effets mesurables d'un vieillissement sur le miel de la manière suivante:

- La coloration s'intensifie.
- La teneur en HMF augmente
- L'acidité libre augmente.
- Le taux des sucres réducteurs baisse sensiblement.
- L'activité enzymatique diminue surtout l'invertase et l'amylase les deux indicateurs des conditions de conservation et de chauffage des miels d'*A. mellifera* (Patricia et al., 1996).
- Les arômes disparaissent et sont remplacés peu à peu par des substances colorées d'odeur désagréable et de goût amer.

### 2.8.2 Lumière:

Il ne semble pas que l'action de la lumière sur le miel ait fait l'objet d'études très approfondie, cependant Millum (1956) indique que la lumière décolore le miel.





### 2.8.3 Fermentation:

Tous les miels naturels contiennent des levures et des champignons microscopiques responsables des fermentations alcooliques (Molan, 1992). Ces levures ne peuvent se multiplier que si la teneur en eau du miel est suffisamment élevée; une forte concentration en sucres ne les tue pas mais inhibe leur développement.

A partir de 18% d'eau, un miel est suffisamment riche en levure dites saccharophiles vivantes pour que le démarrage de la fermentation soit possible. La fermentation du miel est donc un phénomène essentiellement lié à la teneur en eau (Yolanda et al., 2005), à la température et à la présence de germes susceptibles de se multiplier au sein de la masse du produit (Emmanuelle et al., 1996).

La richesse en germes constitue un facteur important pour la fermentation du miel, elle est très variable d'un échantillon à l'autre (Tab.5).

Un miel fermenté ne doit en aucun cas être utilisé pour la consommation humaine ou pour nourrir les abeilles (Ramirez et al., 2000).

**Tableau 5:** Influence de la richesse en levures sur la fermentation des miels plus ou moins riches en eau (Chauvin, 1968)

| Teneur en eau du miel | Effet de la richesse en levure. Le nombre de germes de fermentation est exprimé par gramme de miel. |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Moins de 17,1%        | Pas de fermentation quelque soit la richesse en levures                                             |
| 17,1 à 18,0 %         | Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 1000.                                    |
| 18,1 à 19,0 %         | Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 10.                                      |
| 19,4 à 20,0 %         | Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 1                                        |
| Plus de 20 %          | Risque élevé de fermentation dans tous les cas                                                      |





#### 2.8.4 Conservation :

Le miel est une denrée alimentaire peu périssable qui justifie l'étiquetage d'une date d'utilisation optimale (**DUO**) permettant sa consommation après cette date indicative car non limité par une date limite de consommation.

Cette faculté de conservation s'explique par:

- L'effet osmotique: sa faible teneur en eau (de l'ordre de 20%) n'est pas favorable au développement des germes, l'apiculteur veille à récolter un miel mûre c'est à dire operculé garantissant sa teneur en eau basse (Bogdanov et al., 2003).
- Son pH acide joue un rôle conservateur défavorable au développement bactérien.
- La présence d'un facteur antiseptique: l'inhibine une enzyme qui dégrade le glucose en présence d'eau pour former sa forme oxydée et l'antiseptique bien connue qu'est le peroxyde (Bogdanov et al., 2003).

#### 2.8.5 Influence du chauffage :

Le chauffage des miels est une étape très importante car il aide à éviter les granulations et les fermentations (Gupta et al., 1992). Ainsi, le traitement thermique à 60°C durant une heure et demie peut éviter et prévenir la granulation durant le stockage à la température ambiante et 60 et 90 jours, respectivement pour une conservation à 5°C (Singh et Bath , 1998).

Le chauffage des miels provoque la formation de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) (Saki, 1972; White, 1992), il est apparent que la température et la période de chauffage doivent être contrôlées, car un taux excessif d'HMF est considéré comme indicateur de surchauffage et provoque la perte de la fraîcheur des miels (Schade et al., 1958; Huidobro et al., 1995; White, 1994).

On connaît l'invertase et l'amylase comme indicateurs des conditions de conservation et de chauffage des miels d'*A. mellifera* (Patricia et al., 1996; White, 1994), car le contenu des deux enzymes peut diminuer considérablement par la température et les conditions de stockage prolongé (Serrano et al., 2007; Huidobro et al., 1995; Garcia, 2001; White, 1978).





# *CHAPITRE 3*



### **3.1. Composition du miel**

Le miel est un produit naturel et aussi un mélange complexe qui présente de très grandes variations dans la composition (Annexe 1) et les caractéristiques en raison de son origine géographique et botanique (Mateu et al., 1993), ses principales caractéristiques en fonction de l'origine florale ou le nectar butiné par les abeilles (Kebede et al., 2012; Saxena et al., 2010). Ainsi, les types de miels sont définis par leur caractéristique sensorielle telle que la couleur, la saveur, l'arôme, la viscosité et la tendance à cristalliser au cours du processus de conservation. Les miels diffèrent également entre eux du point de vue de leur composition chimique (acidité, contenu de sucres, rapport quantitatif entre les différents sucres, teneur en acides organiques, en minéraux et en composés azotés) (Ramirez et al., 2000). La fabrication demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur sa composition chimique.

Cependant, la composition ainsi que la qualité du produit sont affectés négativement par les autres facteurs tels que la suralimentation avec du saccharose et d'autres variantes de sucre, la récolte avant l'échéance, les conditions de stockage malsaines et l'utilisation exagérée des médicaments vétérinaires (Sahinler et al., 2004).

### **3.2. Propriétés physico-chimiques du miel**

#### **3.2.1 Propriétés physiques**

Ce sont essentiellement des propriétés mécaniques, électriques et thermiques très importantes parce qu'elles conditionnent l'aspect physique du miel qui diffère d'un miel à un autre.

##### **3.2.1.1 Viscosité :**

La capacité d'écoulement d'un miel correspond à la viscosité. Celle-ci est liée à la teneur en eau, plus l'écoulement est lent plus sa valeur augmente. Il existe des facteurs qui déterminent la viscosité comme la composition biochimique, la température et la teneur en eau (Emmanuelle et al., 1996).





### **3.2.1.2 La conductibilité électrique :**

La conductivité représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel (Terrab et al., 2003) et elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine du miel à la place de la teneur en cendres. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée et il existe une relation linéaire entre ces grandeurs de mesure (Piazza et al., 1991). On l'utilise souvent pour différencier le miel de nectar du miel de miellat, de même que pour la caractérisation de miels mono floraux (Bogdanov et al., 2004).

### **3.2.1.3 Conductivité thermique :**

La conductivité thermique est une mesure du transfert de chaleur. Elle est aussi désignée en tant qu'indice thermique. La conductivité du miel est relativement faible. Pour un miel liquide, elle s'élève à  $12 \times 10^{-4} \text{ cal/cm} \times \text{s} \times \text{degré}$ , pour un miel cristallisé à  $12,9 \times 10^{-5} \text{ cal/cm} \times \text{s} \times \text{degré}$  (Bogdanov, 1995).

### **3.2.1.4 pH :**

La mesure de l'acidité est donnée par le pH d'autant plus bas que la solution est acide. La valeur du pH est l'une des facteurs utilisés pour expliquer la survie et le développement des microorganismes (Terrab et al., 2003; Garcia, 2001). Certains miels sont plus fragiles que d'autres en fonction de leur acidité naturelle (Cavia et al., 2005). En effet, tous les miels dont le pH est inférieur à 4 se dégradent plus vite que ceux de caractéristique inverse (Emmanuelle et al., 1996).

### **3.2.1.5 Acidité :**

L'acidité et le pH sont influencés par l'origine botanique et ont indirectement une relation de la fermentation du miel (Crane, 1975 ; White, 1978). Tous les miels ont un caractère acide. L'acidité du miel est masquée par sa douceur, mais elle est considérable, c'est un critère de qualité important car elle représente un outil de mesure indirect de la fraîcheur de miel (Yolanda et al., 2005).







### **3.2.1.6 Densité :**

Le rapport exprimé en nombre décimale de la masse volumique d'un miel homogène à la masse volumique de l'eau pure ([Gonnet, 1982](#)) exprime ce que nous appelons la densité d'un miel. Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm<sup>3</sup>.

### **3.2.1.7 Indice de réfraction :**

Toutes les substances transparentes sont caractérisées par une propriété optique appelée indice de réfraction qui est le ratio de la vitesse de la lumière dans le vide absorbée et le reste transmise ([Martin, 1997](#)).

## **3.2.2 Propriétés chimiques**

### **3.2.2.1 L'eau :**

#### **1. Activité de l'eau ( $a_w$ ) :**

L'activité de l'eau est le facteur le plus déterminant pour la conservabilité d'une denrée alimentaire. Les valeurs  $a_w$  du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' $a_w$  est  $< 0,60$  peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement ([Bogdanov, 1995](#)).

#### **2. Teneur en eau :**

La teneur en eau des miels varie assez largement en fonction de leur origine florale, de la saison, de l'intensité de la miellée, de la force des colonies d'abeilles et de la façon dont l'apiculteur aura fait la récolte ([Louveaux, 1985](#)). En plus, la teneur en eau dans le miel produit par les colonies d'abeilles est influencée par certain nombre de facteurs, influent sur la valeur finale de ce paramètre dans le miel, comme une faible humidité de l'air, une moyenne abondance de flux de nectar, une bonne résistance de la colonie et la ventilation de la ruche ([Semkiw et al., 2008](#); [Gallina et al., 2010](#)).

En règle générale, la teneur en eau se situe dans la plupart des cas entre 15-20 g/100 g de miel. Pour des raisons de conservabilité, la teneur en eau ne devrait pas dépasser 19 g/100 g de miel, étant donné que dans le cas contraire il existe un risque de fermentation à la surface ([Yolanda et al., 2005](#)).





Un taux d'humidité élevé pourrait accélérer la cristallisation dans certains types de miel (Yanniotis *et al.*, 2006; Subramanian *et al.*, 2007).

### **3.2.2.2 Acides organiques :**

Les travaux de recherches de Louveaux (1985) ont montré que tous les miels ont une réaction acide, ils ne contiennent pas de l'acide formique provenant de la glande à venin, mais un mélange d'acides organiques dont certains sont présents dans le nectar alors que d'autres résultent des multiples réactions dont le miel est le siège au cours de son élaboration.

Le miel contient un grand nombre d'acides organiques, l'acide principal est l'acide gluconique et on trouve aussi l'acide formique, tartrique, malique, citrique, succinique, butyrique, lactique et oxalique de même que différents acides aromatiques qui contribuent à donner au miel les arômes.

L'acidité contribue également, à côté du contenu élevé de sucre, à déterminer la stabilité du miel par rapport aux microorganismes (Garcia, 2001). Dans l'Union européenne, la quantité limite admise pour les acides s'élève à 40 milliéquivalents par kg de miel. Il peut arriver que cette teneur soit dépassée dans différentes sortes de miel (Bogdanov, 2003).

### **3.2.2.3 Glucides :**

En général, le miel est une solution de sucres sursaturée; se sont les principaux constituants de miel, qui représente environ 90 à 95 g / 100 matière sèche; ils sont produits par les abeilles à partir du nectar, qui sont transformés par l'action de plusieurs enzymes (Mora et Marioli, 2001; Ulloa, 2012).

On distingue : Les sucres simples représentés par les monosaccharides réducteurs ou hexoses qui répondent à la formule globale  $C_6H_{12}O_6$  tels le glucose (dextrose) et le fructose (lévulose) qui sont les deux sucres les plus abondants dans le miel (Doner, 1977). Viennent ensuite les disaccharides, formés par l'association de deux monosaccharides, principalement, le maltose et le saccharose (respectivement 7,3 et 1,3 %) et d'autres sucres présents à l'état de traces, les sucres supérieurs, ne représentent en moyenne que 1,5 % du miel, mais avec une marge de variation assez importante puisque certains miels peuvent en contenir jusqu'à 8 % et plus (Louveaux, 1985).





On trouve actuellement une quinzaine de sucres différents dans le miel en plus de ceux déjà nommés, on peut citer le turanose, maltose, isomaltose, mélézitose, erlose et raffinose, nigérose, kojibiose...etc (Mendes et al., 1998). En outre, les trisaccharides les plus abondantes (erlose, isopanose, panose) sont des dérivés de saccharose et le raffinose comme mélézitose, qui ont été utilisées pour la distinction entre le nectar et le miel de miellat Bogdanov et al., 2004; Kaskoniene et al., 2010; Ulloa, 2012).

Ainsi, certains tétrasaccharides ont également été identifiés dans certains échantillons de miel (Mateo et Bosch-Reig, 1997; Sanz et al., 2004; Cotte et al., 2004; Ruiz-Matute et al., 2010; Ouchemoukh et al., 2010; De la Fuente et al., 2011; Kamal et Klein, 2011).

Les hydrates de carbones présent dans le miel sous forme mineur peuvent être utilisés pour la détermination de l'origine florale car ils peuvent se comporter comme des « finger-prints » de la source florale. C'est pour cela, que l'analyse des hydrates de carbones peut être un paramètre de qualité important des miels et pour la détermination de l'origine florale (Mora et al., 2001).

#### 3.2.2.4 Acides aminés et protéines :

Les substances azotées ne représentent qu'une infime partie du miel pur. Le taux d'azote du miel est en moyenne de 0,040% (White, 1956 ; Bergner et al., 1972; Anklam, 1998 ; Ball, 2007), ce qui traduit en protéines, donne environ 0,26 % . Le miel a un faible pourcentage de protéines (0,1-0,4%) (James et al., 2009 ; Buba et al., 2013), mais il existe des miels riches teneurs en protéines comme ceux de *Calluna vulgaris* (Ulloa , 2012). La composition de miel d'acides aminés est décrite par plusieurs auteurs comme une méthode appropriée pour déterminer la différenciation botanique des miels (Pérez et al., 2007). Les acides aminés représentent 1% (w / w), et la proline est le principal contributeur avec 50 à 85% des acides aminés totaux (Pérez et al., 2007; Bogdanov, 2009). Outre la proline, il existe 26 acides aminés tels que l'acide glutamique, alanine, l'arginine, la phénylalanine, Sixtine, glycine, la tyrosine, la leucine et l'isoleucine (Ulloa, 2012). En revanche, le tryptophane est presque inexistant ou seulement en infime proportion (Oryan et Zaker, 1998). Leurs proportions relatives dépendent de l'origine de miel (de nectar ou de miellat). Ainsi que, la présence également, de peptone, d'albumines, de globuline et de nucléoprotéines (Emmanuelle et al., 1996) qui peuvent être présentes dans le nectar ou issues des sécrétions de l'abeille pour être stockés dans les grains de pollen (Louveaux ,1985).





### **3.2.2.5 Matières minérales :**

Les substances minérales ou cendres représentent le résidu inorganique du miel après la carbonisation. Le résidu dépend des éléments constitutifs du terrain dans lequel poussent les plantes ou les abeilles cueillent nectar ou miellé. Les éléments sont le potassium qui représente la matière minérale principale car parmi les 0,26% de minéraux qui composent en moyenne les miels, ce dernier en représente environ la moitié (Bruneau, 2009). La teneur en minéraux dans le miel varie de 0,1% à 1,0%. Plus de 30 oligoéléments ont été décelés. Les autres éléments les mieux représentés dans le miel sont le fer, chlore, soufre, calcium, silicium, phosphore, sodium (Louveaux, 1985; Chauvin, 1968), le cuivre, le zinc et le manganèse (Terrab et al., 2004b; Lachman et al., 2007; Bogdanov, 2009).

La teneur en minéraux des miels est fortement corrélée à l'origine géobotanique du nectar (Stocker et al. 2005). En règle générale, les miels de miellat contiennent deux fois plus de minéraux que les miels de nectar (Bruneau, 2009).

Aujourd'hui, au lieu de la teneur en matières minérales (cendres), on détermine la conductivité électrique du miel (Bogdanov, 1993; Bogdanov et al., 2000 ).

### **3.2.2.6 Enzymes :**

Le miel renferme des enzymes qui proviennent d'origine double. Une partie d'entre eux provient du nectar et l'autre des sécrétions salivaires des abeilles (Louveaux, 1985 ; Serrano et al., 2007; Sibel et al., 2007).

Les principaux enzymes du miel sont : l'invertase ( $\alpha$ -1,4 glucosidase) (Nelson et al., 1924) l'amylase ( $\alpha$  amylase; diastase), glucose oxydase, catalase et la phosphatase (Huidobro et al., 1995; Vorlova et al., 2002 ). Invertase a été considérée comme responsable de la plupart des changements chimiques qui ont lieu lors de la conversion du nectar en miel (Persano Oddo et al., 1999; Bonvehí et al., 2000; Vorlová et Přidal, 2002; Babacan et Rand, 2005; Ulloa, 2012).

L' $\alpha$ -amylase une enzyme provenant de sécrétions salivaires des abeilles ou à sa présence dans le pollen ou le nectar; mais la théorie la plus largement acceptée attribue son origine dans le miel aux sécrétions salivaires des abeilles (Persano Oddo et al., 1990; Babacan et Rand, 2005).





On connaît surtout l'invertase et l'amylase comme indicateurs des conditions de conservation et de chauffage des miels d'*A. mellifera* (White, 1994; Patricia et al., 1996), car le contenu des deux enzymes peut baisser considérablement par la température et les conditions de stockage prolongées (White, 1978 ; Huidobro et al., 1995 ; Garcia, 2001) (Tab.10). Elles sont aussi importantes pour l'appréciation et l'indication de la fraîcheur du miel (Bogdanov, 2003; Nagai et al., 2009), l'invertase est responsable de l'hydrolyse des disaccharides ; l'amylase attaque l'amidon et le transforme en glucose (Louveaux, 1985 ; White, 1992).

Les autres enzymes tels que la catalase, la phosphatase et la gluco-oxidase transforment le glucose en acide gluconique. Ce dernier constitue le principal acide organique du miel (Bogdanov, 1997).

Le glucose oxydase est une enzyme principalement considérée comme responsable de l'effet antimicrobien de miel (avec la catalase), grâce à la production de peroxyde d'hydrogène et l'acide gluconique, de l'hydrolyse du dextrose (glucose) (Ulloa, 2012). Le peroxyde d'hydrogène a été identifié comme inhibiteur de la croissance bactérienne. Quant à l'acide gluconique, en équilibre avec le glucono-lactone, représente l'acide principal responsable des faibles valeurs de pH d'environ 4 pour le miel (Babacan et Rand, 2005; Bogdanov, 2009).

### 3.2.2.7 L'hydroxyméthylfurfural (HMF):

L'HMF est le dérivé de déshydratation des sucres (**hexoses**) (Hadorn et al., 1962). Cette substance apparaît dans le miel lors de la dégradation des sucres, principalement le fructose avec perte de 3 molécules d'eau (White, 1994 ; Wunderlin et al., 1998). L'hydroxyméthylfurfural (5-hydroxyméthyl-2-furaldéhyde) (HMF) (figure 18) se forme spontanément comme intermédiaire dans la réaction de Maillard (Machiels et Istasse, 2002 ; Gökmen et Senyuva, 2006), qui est pour rappel une réaction entre les résidus aminés des protéines ou des acides aminés et des sucres réducteurs, et comme produit typique de dégradation des hexoses lors de la caramélisation (figure19) (Wilmart et al., 2011) et pendant le traitement thermique (Risner et al., 2006; Turhan, 2009; Khalil et al., 2010a; Capuano et Fogliano, 2011 ; Ulloa, 2012) . La réactivité du glucose (aldose) est inférieure à celle du fructose (cétose), et le glucose peut former une structure cyclique très stable; par conséquent, son taux d'énolisation en solution

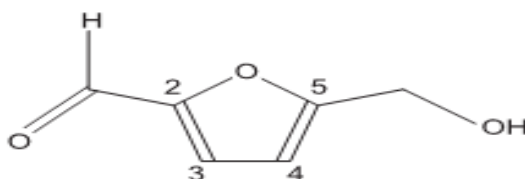




est inférieure à celle du fructose (Kuster, 1990). Comme l'énolisation est l'étape déterminante de la vitesse de formation de l'HMF, le fructose réagit beaucoup plus rapidement que le glucose (Fig. 20).

Cependant, le fructose forme un équilibre de mélanges de difructose et bloque ainsi les dianhydrides, les groupes internes les plus réactifs, conduisant à la formation de certains sous-produits (Kuster, 1990). Alors, le fructose est l'un des produits nobles du miel puisque des travaux de recherche indiquent qu'il a des effets protecteurs sur la décomposition de l'HMF en solution. Pour éviter sa décomposition on le conserve à une température de 4-8°C ; mais le fructose est aussi le plus fragile. Quand il est exposé à une température trop élevée et en milieu naturellement acide, il se décompose pour donner naissance à l'hydroxyméthylfurfural (White, 1994 ; Gonnet, 1992).

Le glucose constitue également un vrai oligosaccharide, qui contient encore des groupes réducteurs réactifs, ce qui entraîne un risque accru de cross-polymérisation avec des intermédiaires réactifs et HMF (Kuster, 1990).



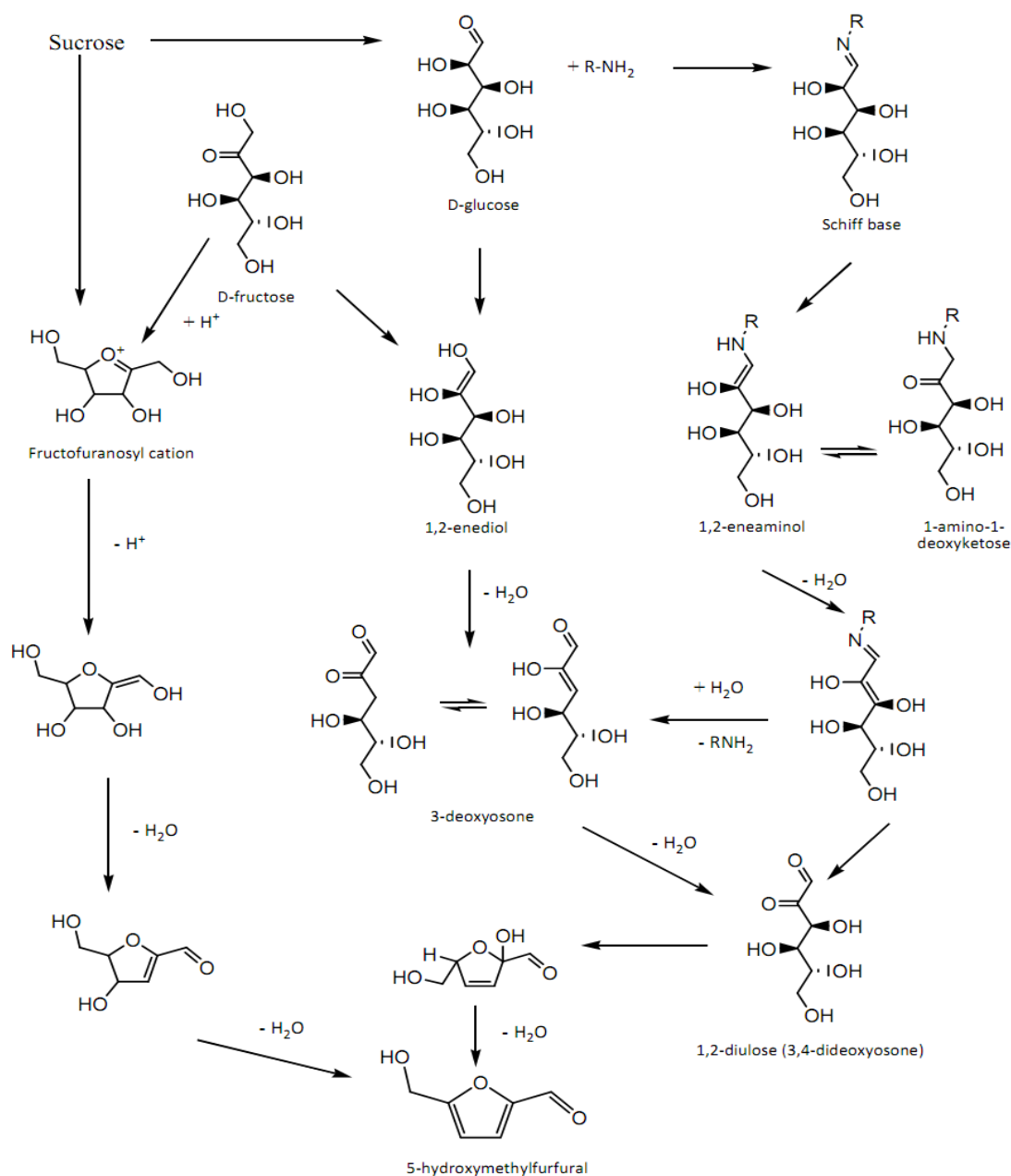
**Figure 18 :** Structure de HMF (Kowalski et al., 2013)

Ni les nectars ou miellats, ni les miels frais ne contiennent de l'HMF. Contrairement aux amylases et à d'autres substances présentes originellement dans les miels, la teneur en HMF n'est donc pas une propriété intrinsèque des miels. On ne peut donc pas l'utiliser comme moyen pour en déterminer l'origine botanique et cela bien que certains miels « prennent » plus facilement de l'HMF que d'autres. Par ailleurs, la présence de l'HMF est un excellent indice pour en apprécier la qualité des miels (Namita et al., 1992 ; Terrab et al., 2003). Même non chauffés, les hexoses contenus dans les miels à se transformer en HMF au cours d'un processus de vieillissement naturel. Sa teneur est donc un très bon indice de





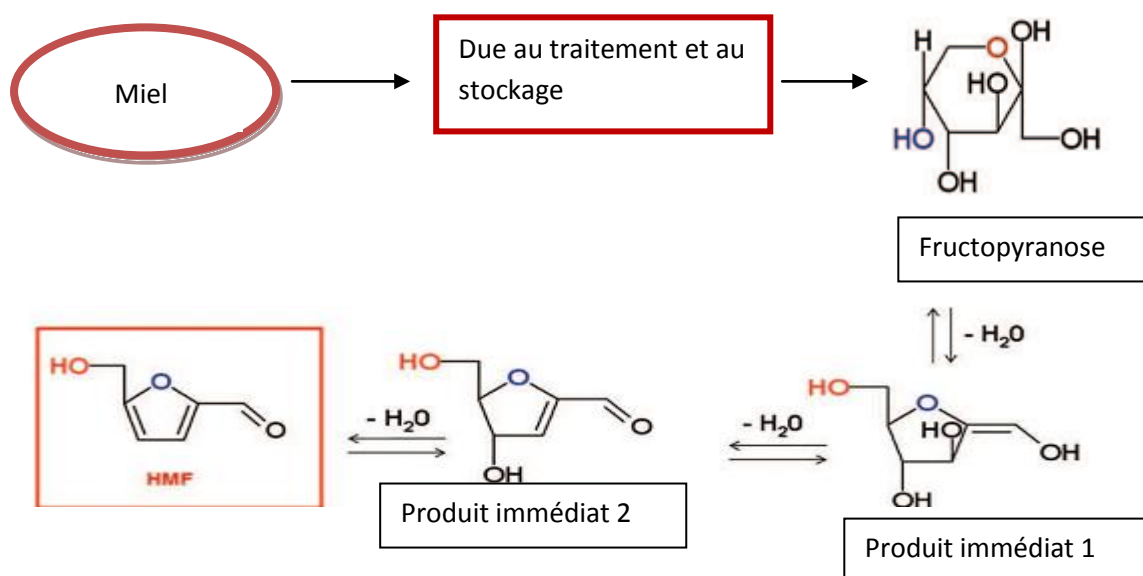
dégradation (Narpinder et al., 1998). A température ambiante (20°C) la réaction de déshydratation des sucres pour aboutir à la production d'HMF est très lente. Elle est d'autant plus rapide que les miels sont plus acides, c'est-à-dire que leur pH est plus bas (Schade et al., 1958 ; Hadorn et al., 1962 ; Saki et al., 1972).



**Figure 19.** Schéma représentant la formation de l'hydroxyméthylfurfural (Capuano et Fogliano, 2011)







**Figure 20.** La formation d' HMF à partir du glucose et du fructose. Le chlorure chromeux catalyse la conversion directe de fois du fructose (rendement de 90% ou plus) et de glucose (rendement 70% ou plus) dans HMF (Zahao *et al.*, 2007). HMF, 5-hydroxymethylfurfural. (Islam *et al.*, 2013)

La teneur d'HMF augmente en fonction de l'élévation de la température (Tab.6) et de la durée de stockage (White, 1994 ; Cosentino *et al.*, 1996 ; Piro *et al.*, 1996 ; Yilmaz *et al.*, 2001; Mora-Escobedo, 2006), sa teneur légale ne doit pas dépasser "40 mg/kg" selon les normes en dessous de "15 mg/kg" considéré comme de bonne qualité (Bogdanov *et al.*, 2003).

Bien que HMF soit bien connu comme produit due au traitement thermique, son impact sur la santé humaine est encore un sujet controversé. Il y a beaucoup de débat sur sa toxicité, génotoxicité, mutagène et cancérigène.

Il n'est pas clair si HMF représente un risque potentiel pour la santé. HMF est considéré comme un irritant pour les yeux, les voies respiratoires supérieures, la peau et les muqueuses. Les données des rapports de cas et des études épidémiologiques montrant une corrélation entre l'exposition à HMF et le risque de développement du cancer chez l'homme n'est pas disponible. Les études sur le rat et la souris, cependant, ont indiqué des propriétés cancérigènes potentielles de HMF (Kowalski *et al.*, 2013).



**Tableau 6 :** Durée nécessaire pour la formation de 40 mg HMF/Kg de miel en fonction de la température de stockage (White et al., 1964)

| Température (°C) | Durée pour la formation de 40mg HMF/ Kg |
|------------------|-----------------------------------------|
| 4                | 20-80 ans                               |
| 20               | 2-4 ans                                 |
| 30               | 0.5-1 an                                |
| 40               | 1-2 mois                                |
| 50               | 5-10 jours                              |
| 60               | 1-2 jours                               |
| 70               | 6-20 heures                             |

*In vitro*, il a été démontré que l'HMF subit une bioconversion en 5- sulfoxymethylfurfural (SMF) par la sulfonation de son groupe hydroxyle allylique. Cette réaction est catalysée par des sulfotransférases (SULT) en présence du donneur groupe sulfo-30-phosphoadénosine-phosphosulfate-50. Toutefois, Le SMF, un composé qui a été rapporté d'être mutagène dans un test d'Ames conventionnel et pour initier des tumeurs de la peau chez la souris (Surh et al., 1994; Lee et al., 1995; Glatt et Sommer, 2006 ; Islam et al., 2013).

Tous ces résultats indiquent que l'HMF est cancérigène chez les rongeurs. Cependant, un rapport de l'EFSA panneau disponibles à partir de son site Web (EFSA, 2011) a indiqué que l'effets de la 5-HMF observés chez les rongeurs ne sont pas attendus chez les humains (Islam et al., 2013). La principale préoccupation concernant l'HMF est lié à sa conversion en SMF.

Récemment, une étude a confirmée que le SMF est fortement néphrotoxique chez la souris (Bakhiya et al., 2009). En effet, les effets néfastes du 5-HMF à l'homme est donc un bon endroit pour l'enquête dans les études futures.

### 3.2.2.8 Constituants divers :

#### 1. Vitamines :

Le miel est relativement pauvre en vitamine si on le compare à d'autres aliments, et principalement aux fruits (Louveaux, 1985), qui n'ont pratiquement aucune signification





nutritionnelle (White, 1978). On n'y trouve aucune vitamine liposoluble (vitamine A et D), mais il s'agit essentiellement de traces de vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9) qui seraient apportées par le pollen.

Ce n'est toutefois pas le cas de la vitamine C qui se trouve occasionnellement à des faibles quantités, qui provient du nectar (Louveau, 1985). En outre, le traitement de miel, par filtration, réduit sa teneur en vitamines en raison de l'élimination presque complète du pollen, en plus la température de traitement joue également un rôle. Un autre facteur qui provoque la perte de vitamine est l'oxydation de l'acide ascorbique par du peroxyde d'hydrogène produit par la glucose oxydase et la catalase (White, 1956; Ball, 2007; Ciulu et al., 2011).

## **2. Lipides :**

Les lipides sont pratiquement inexistant dans le miel, cependant certains miels contiennent des acides gras tels que l'acide palmitique, oléique et linoléique (Gonnet, 1982). Les lipides peuvent provenir des microparticules de cire qui composent le miel (Domerego et al., 2009)

## **3. Couleur :**

La couleur est déterminée par des pigments d'origine végétale (carotène, xanthophylle, flavine) par des sels minéraux et des aminoacides. Elle est liée à l'origine botanique on la considère comme un paramètre important pour évaluer la qualité du miel uniflore (Terrab et al., 2003).

Le miel, vieillissant s'assombrit, sa couleur est mesurée en mm de l'échelle Pfund à l'aide d'un colorimètre. Cette échelle permet de classer le miel sur la base de la couleur.

## **4. Arômes :**

Selon Bogdanov (2003) plusieurs études sur les substances aromatiques ont permis d'isoler environ 100 à 150 différentes substances aromatiques dans le miel et certaines ont même été caractérisées du point de vue chimique. Elles jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel.





### **5. Hygroscopicité :**

Le miel tend à absorber l'humidité de l'air si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable. Ainsi, un miel "normal", contenant 18% d'eau, peut atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55% : son poids a alors augmenté de 84%.

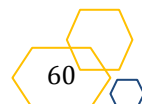
### **6. Cristallisation :**

Le miel est une solution extrêmement concentrée de sucres simples, contenant plus de matériel dissous que ce qui peut rester en solution (Manikis et al., 2001). Un miel initialement liquide peut donc au cours du temps cristalliser en formant des couches différentes. La cristallisation est donc un phénomène naturel qui n'altère en rien la qualité gustative et nutritive du miel. Le rythme et le taux de cristallisation se diffèrent d'un type de miel à un autre car leur tendance à cristalliser est liée à quelques paramètres sensibles comme la teneur en glucose (Emmanuelle et al., 1996 ; Skowronek et al., 1994). Il existe également des indicateurs de cristallisation tels que les rapports glucose/eau (D/W), glucose-eau /fructose (D-W/L) et fructose/glucose (L/D) et la teneur en mélézitose. Manikis et ses collaborateurs (2001) dans leurs travaux ont confirmé que le rapport D/W (glucose/eau) est l'un des indicateurs les plus utiles pour évaluer la tendance du miel à cristalliser. Un rapport D/W égal ou supérieur à 2,10 constitue les conditions favorables à la cristallisation alors qu'un rapport D/W égal ou inférieur à 1,70 ne permet pas aux miels de cristalliser. La cristallisation est la plus rapide à la température de 14°C.

## **3.3 Qualité de miel et source de contamination et adultération**

### **3.3.1 Contaminations environnementales et leurs détections dans le miel**

Dès les étapes de l'élaboration on peut observer la possibilité de contamination de miel. Ce dernier et les autres produits de la ruche, au même titre que l'abeille elle-même, peuvent jouer un rôle d'indicateur de la contamination environnementale. Ils peuvent fournir des informations quant à la répartition des éléments chimiques et/ou biologiques néfastes pour la ruche, pour le miel et finalement potentiellement néfastes pour la santé humaine (Chauzat et al., 2006). Ainsi, le miel est contaminé par plusieurs sources (Tab.7).





Les deux principaux métaux lourds sont issus de l'industrie et du trafic routier. Le plomb peut contaminer le nectar ou le miellat par voie aérienne. Tandis que le cadmium peut être transporté par la plante (une infime partie) et atteindre le compartiment nectarifère. Les limites maximales autorisées donnent 1 mg/kg pour le plomb et 0,1 mg/kg pour le cadmium (Bogdanov, 2006 ; Crousilles, 2014). La radioactivité du miel, exprimée en Becquerel par kilo (Bq/kg), peut être soit d'origine naturelle (dans le cas de l'isotope  $^{40}\text{K}$  par exemple), soit d'origine accidentelle, suite à la catastrophe de Tchernobyl en 1986, des isotopes radioactifs tels que le  $^{137}\text{Cs}$  ont été retrouvés dans certains miels. Plusieurs études sur la mesure de la radioactivité des miels dans différents pays ont été publiées (Borawska et al., 2000, Devillers et Pharm delegue, 2002). Aussi, la radioactivité n'est pas un problème pour la santé publique (Bogdanov, 2006) car la radioactivité du miel reste très rare.

**Tableau 7:** Types de contamination des miels (Al-Waili et al., 2012)

#### **(A) Les contaminants environnementales**

- (1) Les métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le mercure
- (2) Les isotopes radioactifs
- (3) Les polluants organiques, les biphényles polychlorés (PCB)
- (4) Les pesticides (insecticides, fongicides, herbicides, et bactéricides)
- (5) Les bactéries pathogènes
- (6) Les organismes génétiquement modifiés

#### **(B) Les contaminants de l'apiculture**

- (1) Les acaricides: composés synthétiques et des substances lipophiles non toxiques tels que les acides organiques et les composants des huiles essentielles
- (2) Les antibiotiques utilisés pour le contrôle des maladies du couvain d'abeilles, principalement des tétracyclines, la streptomycine, sulfamides, et chloramphénicol.

Le miel peut contenir de nombreux produits chimiques issus de l'environnement ou de la pratique apicole. On trouve notamment des traces de PCB (polychlorobiphénols), peuvent





être par exemple, des polluants organiques issus des huiles de moteur, lubrifiants et réfrigérants, produits avant les années 1980. Ces substances sont toujours présentes dans l'environnement et peuvent contaminer les plantes, et par extension les abeilles et le miel. Mais les quantités retrouvées dans le miel sont infinitésimales et sans conséquence sur la santé humaine (Bogdanov, 2006).

Les principaux éléments chimiques sont d'un côté les pesticides, de l'autre les acaricides et les antibiotiques. Le taux de pesticides est variable selon l'emplacement des ruches et les pratiques agricoles dans l'environnement des ruchers (Crousilles, 2014). Cependant, plusieurs études ont démontré la détection de ces produits dans le miel. Ainsi, les pesticides les plus fréquemment recherchés dans le miel sont les organochlorés, les organophosphorés (Das et al., 2009 ; Yavuz et al., 2010) et la famille des carbamates.

Dans le miel, les micro-organismes tel que les bactéries, les levures et les champignons représentent certaine. Mais, comme évoqué auparavant, les caractéristiques du miel ne permettent pas le développement de ces organismes dans le miel. Ils peuvent être présents et ce sont particulièrement les formes sporulantes de bactéries qui sont les plus observées (Al-Waili et al., 2012).

La question des organismes génétiquement modifiés (OGM) est particulièrement importante car l'introduction de pollen dans le miel n'est pas forcément intentionnelle, mais la présence de pollen d'OGM, y compris en proportions infimes, oblige à une autorisation de commercialisation (Radisson, 2011).

#### 3.3.2 Contaminations humaines et leurs détections dans le miel

Les principales contaminations humaines ont lieu suite au traitement de ruche pour lutter contre les maladies des abeilles. On peut trouver une contamination par des acaricides contre *Varroa jacobsoni*. De nombreux produits existent pour lutter contre cet acarien, sans qu'aucun ne soit d'une efficacité radicale.

Les acaricides de synthèse, fluvalinate, amitraze, coumaphos et bromopropylate, lipophiles, polluent principalement la cire d'abeille et relativement peu le miel.

D'autre part, on trouve les acaricides naturels : thymol, acide formique et acide oxalique, substances issues de constituants naturels du miel et des plantes, sont réputés non toxiques et





de plus en plus utilisées en tant que traitement contre la varroase.

Au-delà d'acaricides, on retrouve des traces d'antibiotiques, tous deux utilisés régulièrement pour traiter la ruche. Cependant, lorsque ces produits sont utilisés dans de bonnes conditions (éviter la période de miellée, quantité raisonnable, utilisation de méthodes alternatives), les apiculteurs peuvent limiter l'impact de ces produits sur le miel.

Il n'existe pas à l'heure actuelle de médicament titulaire d'une AMM pour traiter efficacement les maladies bactériennes telles que la nosébose, la loque américaine et la loque européenne, pourtant responsables de mortalité importante des abeilles ([Lequet, 2010](#)).

Au niveau mondial, la streptomycine, l'oxytétracycline, ou le chloramphénicol sont régulièrement utilisés pour traiter les maladies du couvain (les loques) causées par *Paenibacillus* ([Crousilles, 2014](#)). On peut également trouver des tétracyclines, des sulfonamides.

Les résidus d'antibiotiques peuvent avoir des conséquences pour la santé publique de deux ordres. Ils peuvent d'une part, créer une pression de sélection favorisant l'émergence de certaines bactéries résistantes et d'autre part, la teneur en résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale peut atteindre des niveaux toxiques pour le consommateur ([Lequet, 2010](#)).

Cependant, La plupart des résidus d'antibiotiques retrouvés dans le miel ne constituent pas un réel problème de santé publique car les quantités retrouvées sont très nettement inférieures aux LMR établies pour d'autres aliments d'origine animale. Cependant, les résidus de chloramphénicol et de nitrofurane sont très toxiques. Ils sont donc strictement interdits en Europe ([Bogdanov, 2006](#)).

En revanche, la streptomycine et les tétracyclines sont des antibiotiques autorisés en tant que médicament vétérinaire au titre du Règlement Européen n°2377/90. À ce titre, des LMR ont été fixées pour les espèces bovine, ovine et porcine dans le cas de la streptomycine et pour toutes les espèces animales dans le cas des tétracyclines ([Lequet, 2010](#)).

Dans le cas du miel, actuellement, aucune LMR n'a été fixée pour ces deux groupes d'antibiotiques, ce qui signifie de facto que tout miel contenant le moindre résidu d'antibiotique est impropre à la vente et à la consommation.

Le miel peut aussi être contaminé après une peinture protectrice et traitements du bois de la







ruche. Par conséquent, ces derniers ne doivent en aucun cas contenir des insecticides ou de fongicides susceptibles de contaminer le miel (Bogdanov, 2006).

L'homme au cours des manipulations de la ruche et élaboration du miel peut contaminer ce dernier. Le miel est constitué par les germes témoins de contamination entérique (Streptocoques, Coliformes), les Salmonelles et les Anaérobies sulfito-réducteurs. Les germes témoins de contamination entérique sont les Streptocoques D ou Streptocoques fécaux ou Entérocoques. Ce sont des *Coccis* Gram +.

Egalement on retrouve les Coliformes dont *Escherichia coli*, germe saprophyte banal de l'intestin pouvant devenir pathogène. Ce sont des Entérobactéries (bacilles Gram –).

Les Salmonelles sont aussi des Entérobactéries mais leur pouvoir pathogène est fréquent, de ce fait leur absence dans le miel est impérative.

Débris bactériens comme le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram négatif et peut contenir des spores de *Bacillus* sp. et de *Clostridium botulinum*. Ces spores contaminent le miel pendant et après l'extraction par l'apiculteur.

Le miel peut être aussi contaminé par des grains de pollen, algues unicellulaires, levures, ferments lactiques, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, issus du nectar ou du tube digestif de l'abeille (Bruneau 2009; Garbi, 2011).

### **3.3.3 Adultération, qualité et normes**

#### **3.3.3.1 Adultération**

L'adultération est une pratique frauduleuse consistant en l'ajout d'un produit de moindre valeur à un autre produit, qui est alors vendu ou donné pour ce qu'il n'est pas. On y trouve le terme « falsification ». Selon le Petit Robert le terme « adultérer », synonyme de « falsifier », définit l'action d'altérer une marchandise par addition d'éléments étrangers ou suppression d'une partie de substance, volontairement dans le dessein de tromper (Cordelia, 2013).

Cependant, adultérer un produit destiné à la consommation humaine est un acte qui tombe sous le coup de la loi. Le miel est un aliment de grande valeur qui est une cible pour la falsification. Le miel est un produit sacré vu sa disponibilité limitée comme une





marchandise, ce qui influence son prix relativement coûteux, cela permet d'encourager la pratique de son altération et fraude.

Compte tenu de la composition du miel (principalement des hydrates de carbone et de l'eau), le phénomène d'adultération par des sirops sont bien observés dans ce produit depuis la commercialisation. Ces sirops de sucre peuvent être additionnés au miel après la récolte, ou directement durant la miellée. Ces actes malveillants ont des conséquences économiques néfastes pour les producteurs respectueux de la législation (Cotte, 2003 ; Lequet, 2010).

Megherbi (2006) mentionne la présence de trois principaux types de fraudes :

- La fraude consistant à ajouter au miel du saccharose est peu courante car facilement détectable du fait de la faible teneur en ce sucre dans la plupart des miels.
- L'adjonction de saccharose inverti (glucose + fructose) chimiquement est possible mais entraîne la production d'une grande quantité d'HMF.
- L'ajout de sucre de canne, de sirop de sucre de canne ou de miel de sucre sont repérables, notamment par analyse microscopique.

En plus, l'aspect du mélange est amélioré par l'ajout d'iode (pour la couleur) et des additifs chimiques (pour la viscosité) (Saif et al., 2008 ; Silva et al., 2013).

### **3.3.3.2 Limites Maximales Résiduelles et la réglementation relative à la composition moyenne du miel « qualité et normes »**

Les projets de normes du *Codex Alimentarius* et de l'UE sont les deux principaux projets qui permettent une meilleure connaissance concernant les principaux critères de qualité du miel. Les normes internationales concernant le miel sont spécifiées dans ces derniers qui font tous deux actuellement l'objet d'une révision. En effet, il existe une réglementation sur la composition chimique du miel. Afin de détecter certaines fraudes, notamment celles concernant l'ajout d'eau ou de sucres, des analyses doivent être pratiquées. Voici les caractéristiques de la composition des miels regroupées dans les tableaux présentés en annexe 2 et 3, sachant que, le projet de l'Union européenne se base sur le miel de miellat et des mélanges de miels de miellat et de nectar.





# *PARTIE PRATIQUE*





## Objectifs du travail

A cause des multiples intérêts bénéfiques que possède le miel, à cause de ses composés complexes, procurés grâce à la diversité de son origine botanique, la consommation mondiale et surtout algérienne de toutes sortes de ce produit noble a augmenté durant ces dernières années.

La production de miel est effectuée dans tout le pays, mais la plus forte concentration de ruches est dans le Nord du pays. Par conséquent, l'objectif principal de cette étude est d'accroître la connaissance de la qualité du miel Algérien.

Dans la présente étude plusieurs aspects ont été étudiés, ils correspondent à différentes étapes de travail :

- **Chapitre 4:** En raison de la composition très variable du miel qui dépend fortement de son origine botanique mais également de la contamination potentielle, il nous a paru nécessaire de réaliser des analyses pour assurer la qualité de cette composition. Cette partie consiste à la caractérisation des paramètres physico-chimiques et appellation botanique de quelque échantillon de miels Algérien.
- **Chapitre 5 :** Consiste à la recherche d'éventuelle contamination par les antibiotiques (Streptomycines, Tétracyclines) et les métaux lourds.







#### **4.1 Introduction :**

Le miel est une substance naturelle produite par les abeilles (*Apis mellifera* L.) à partir du nectar des fleurs ou du miellat, a une valeur nutritionnelle et prophylactique-médicinale. Il représente une source de sucre facilement disponibles, d'acides organiques, des acides aminés, des oligo-éléments et de substances biologiquement actives (Juszczak et Fortuna, 2006 ; Ulloa, 2012). La composition de miel est influencée par la source florale, le climat et les conditions environnementales. Par conséquent, la composition des miels diffère d'une région à une autre. Actuellement, il existe une sérieuse tendance de définir les caractères de différenciation des miels de différentes sources biologique et botanique afin d'obtenir un niveau de qualité et d'authenticité pour ce produit lui permettant d'être compétitifs sur le marché (Castro-Vázquez et al., 2010).

L'objectif principal de cette étude consiste à la caractérisation physico-chimiques et l'appellation botanique de quelques échantillons de miels Algérien.

Cette présente étape consacrée à la caractérisation de la qualité des miels Algérien vise les objectifs suivants : Conformité de la qualité des miels aux normes du *Codex Alimentarius*, recherche de l'origine florale des miels, à l'aide de la méliissopalynologie, afin d'établir une appellation d'origine contrôlée (origine botanique et géographique).

#### **4.2 Présentation et répartition des miels étudiés**

##### **4.2.1. Matériel biologique**

Dans ce travail de recherche, soixante sept échantillons de miels ont été recueillies directement auprès des apiculteurs ou des sociétés d'apiculture ou d'apiculteurs vendeurs dans des foires commerciales (marchés de plein air locaux). Tous les échantillons de miel ont été codés soit en fonction de leur origine botanique soit en fonction de l'origine géographique donnés par les apiculteurs (**Annexe 4**).

La collecte des échantillons est accompagnée d'un questionnaire avec l'apiculteur pour avoir des informations sur ces miels comme :

- Lieu d'installation du rucher.
- Model de ruche moderne ou traditionnelle.







- Mode d'extraction.
- Principales fleurs butinées.

Ces différentes informations nous permettent d'avoir une idée sur la production de ces miels : origine, date de récolte ainsi que les différents modes d'extraction. Ces miels ont été récoltés soit par extracteur ou bien manuellement. Chaque échantillon (250g) est mis dans un pot en verre et conservé à l'abri de la lumière et l'humidité dans un réfrigérateur à 4-6 ° C. Ces échantillons serviront pour traitements et analyses physico-chimiques et palynologique.

La localisation géographique des échantillons est portée sur une carte de délimitation administrative de la région d'étude (Fig.21).

Les analyses physico-chimiques sont réalisées selon les méthodes définies par la [Commission du Codex Alimentarius \(2001\)](#), [Bogdanov et ses collaborateurs \(1988 ; 1997 ; 2000\)](#) et [AOAC \(1995\)](#).

Les analyses effectuées concernant plusieurs paramètres: teneur en eau, indice de réfraction, teneur en matière sèche, teneur en cendres, teneur en sucres (glucose, fructose, saccharose), pH, acidités (Libre, combinée et totale), conductibilité électrique, teneur en H.M.F., indice diastasique et teneur en protéines.

#### **4.2.2 Matériel et méthodes pour les analyses physicochimiques**

##### **4.2.2.1 Mesure de l'indice de réfraction, teneur en eau et teneur en matière sèche**

La teneur en eau, a été déterminée par réfractométrie (ZUZI Model NO.315) en utilisant un réfractomètre Abbe. La teneur en matière sèche du miel est obtenue à partir du tableau de Chataway (Annexe 5) en prenant compte de l'indice de réfraction. ([Journal Officiel Français, 1977](#) ; [AOAC, 1995](#); [Codex Standard, 1981](#) ; [Bogdanov et al., 1999](#))

##### **4.2.2.2 Dosage de la Densité :**

La densité (densité relative) d'un miel homogène est le rapport exprimé en nombre décimal de la masse volumique de ce miel à la masse volumique de l'eau pure à 4°C. Selon [Gonnet \(1992 ; 1993\)](#), la mesure de la densité d'un miel est un moyen de connaître sa teneur en eau. La densité est une méthode décrite par [Bogdanov et ses collaborateurs \(1995\)](#). La pesanteur







de densité a été déterminée en divisant le poids de la bouteille de densité (10 ml) remplie du miel au poids de la même bouteille, remplie d'eau distillée selon la formule suivante :

$$D = M / M'$$

Où: M : Masse du volume du miel;

M' : Masse de même volume d'eau distillée.

#### **4.2.2.3 Détermination de la conductivité électrique :**

La détermination de la conductivité électrique est basée sur la méthode de Vorwohl utilisant un conductimètre. Les mesures sont effectuées à 20°C dans une solution aqueuse à 20% (m/v) par rapport à la matière sèche du miel. La lecture est faite directement après immersion de la cellule du conductimètre (**Adwa AD 3000**) dans la solution. Le résultat est exprimé en milliSiemens par centimètre (mS/cm). ([AOAC, 1995](#)).

#### **4.2.2.4 Dosage des cendres (Matière Minérale) :**

La teneur en cendres totaux par incinération des échantillons de miel (5g) dans un four à moufle (**Nabertherm**) à une température de 550°C pendant 4 à 5heures ([AOAC, 1995](#) ; [Codex Standard, 1981](#)). La proportion des cendres brutes est obtenue à partir de la formule :

$$C\% = (M_1 - M_2) / M_0 \times 100\%.$$

C% : teneur en cendres brutes

m<sub>0</sub>: masse en grammes de la capsule d'incinération vide

m<sub>1</sub> : masse en grammes de la capsule d'incinération et de l'échantillon avant incinération

m<sub>2</sub> : masse en grammes de la capsule d'incinération et des cendres après incinération.

#### **4.2.2.5 Dosage du potentiel d'hydrogène (pH)**

Le pH a été évalué dans une solution aqueuse de 20% (m/v) ([AOAC, 1995](#) ; [Journal Officiel Français, 1977](#)) au moyen d'un pH-mètre (**Adwa AD1030**).



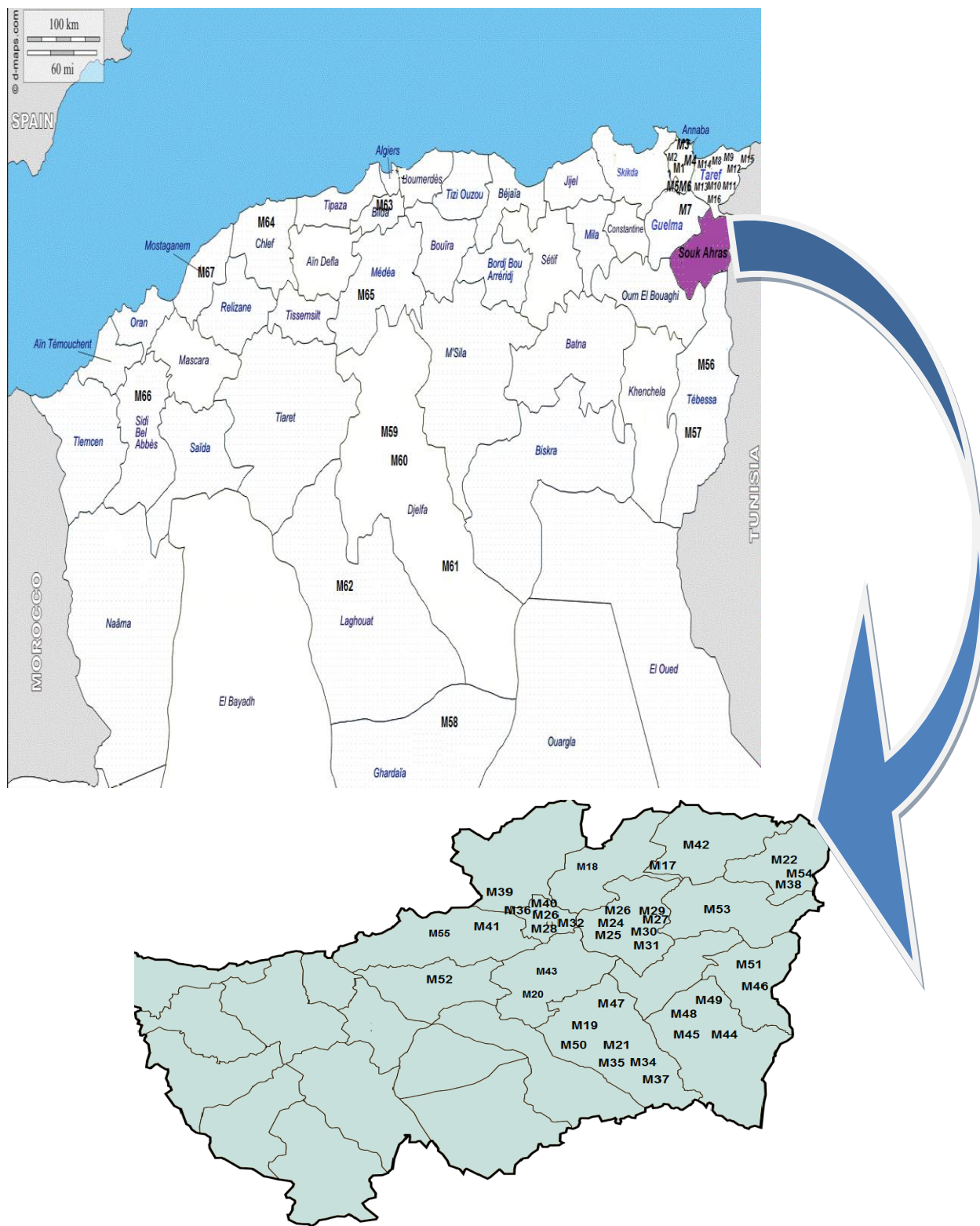
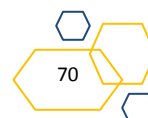


Figure 21 : Carte de distribution des régions d'étude





#### **4.2.2.6 Dosage de l'acidité : Les acidités libre, combinée et totale**

Les acidités libres et lactoniques ont été déterminées par voie titrimétrique. L'Acidité libre a été déterminée par titrage à pH 8.5 par addition de NaOH 0.05M. L'acidité de lactone a été déterminée en ajoutant immédiatement un volume de 10.0 ml de NaOH 0.05 M et titration de retour avec du HCl 0.05 M à pH 8.3. L'acidité totale est la somme des deux types d'acidités (Bogdanov *et al.*, 1997; Codex, 1981 ; AOAC, 1998).

**Acidité libre =  $1000 \times V \times N/M$**

L'acidité lactonique (LA) correspond à l'acidité combinée qui n'est pas directement titrable

**Acidité combinée =  $[(10 - V) \times (0.05 \times V')]/5$**

L'acidité totale (TA) est la somme de l'acidité libre (FA) et l'acidité de lactone (LA) :

**Acidité totale = acidité libre + acidité combinée**

Dont :

\* **V** : le volume en ml de NaOH utilisé pour neutraliser la solution.

\* **V'**: le volume en ml d'HCL utilisé pour le titrage de retour.

\* **N** : la normalité de NaOH.

\* **M** : le poids du miel (10g).

#### **4.2.2.7 Dosage de l' Hydroxyméthylfurfural (HMF)**

L'Hydroxyméthylfurfural (HMF), 5-idroxymethylfuran-2-carbaldéhyde: substance qui est formée par la dégradation des sucres, en particulier le fructose, dans un environnement acide. Elle est absente ou présente en très faible concentration dans le miel et augmente progressivement pendant le stockage ou en raison de traitements thermiques.

L'analyse a été effectuée selon la méthode de Winkler (1955) parue dans le rapport de la commission international du miel (2002).

Cette mesure de la teneur en HMF est basée sur la mesure de l'absorbance de cette molécule par spectrophotométrie réglée à une longueur d'onde de 550 nm, en présence d'acide barbiturique et de la paratoluidine.





#### 4.2.2.8 Mesure de l'indice diastasique

La diastase (ou amylase) :  $\alpha$  et  $\beta$  transglucosidase, enzymes contenues naturellement dans le miel, ils sont présents en quantités variables dans le miel fraîchement récolté et diminuent progressivement au cours du stockage ou de traitements ultérieurs et thermique.

L'indice diastasique du miel est exprimé par l'activité de la diastase en ml de 1% d'amidon hydrolysé par l'enzyme contenue dans 1 g de miel en 1 heure à 40 ° C dans les conditions analytiques fixées. Cette dernière est exprimée en unités de Gothe (ou unités de Schade) par gramme de miel et on utilise le Kit composé d'amidon modifié avec chromophore et bleu avec un tampon phosphate salin (comprimés Phadebas Honey Diastase Test) (Bogdanov, 2002). On pèse 1.00 g de miel, le dissout dans environ 20 ml de tampon acétate (0.1M, pH 5.2), transférer quantitativement dans une fiole volumétrique de 100 ml et porter au volume avec le tampon d'acétate. On transfère, ensuite, 5.0 ml de cette solution dans un tube à essai (échantillon).

On verse dans un autre tube 5 ml de tampon acétate (blanc). On place les deux tubes pour incubation dans un bain d'eau préchauffée à 40 ° C pendant 5 minutes exactement .

On ajoute le kit diastase (Comprimés *Phadebas Honey Diastase Test*), pour l'échantillon ainsi que pour le blanc, en utilisant des pinces.

Ensuite on remet les tubes dans un bain Marie à une température de 40 ° C, tout en agitant pendant 5 secondes toutes les 5 minutes, après 30 min exactement la réaction se terminera, en ajoutant ainsi dans chaque tube 1.0 ml de NaOH (0.5 M) et on agite mécaniquement pendant 5 secondes.

On centrifuge la solution pendant 5 min à 1500g, puis on filtre à travers un papier filtre.

Enfin on transfère le surnageant ou le filtrat et on fait la lecture spectrophotométrique du blanc et de l'échantillon à 620 nm contre de l'eau.

L'absorbance de la solution à blanc doit être soustraite de celle de l'échantillon ( $\lambda A_{620}$ ).

Si l'absorbance est plus grande que 1, diluer l'échantillon avec de l'eau distillée, puis on prend en compte le facteur de dilution dans les calculs.





L'activité de la diastase est calculée avec deux formules différentes selon que l'absorbance de l'échantillon ( $\lambda A_{620}$ ) est supérieur ou inférieur à 0.45.

Dans le cas de valeurs plus élevées de 0,45, on utilise la formule suivante:

$$\text{➤ Activité Diastase} = 28,2 * \lambda A_{620} + 2,64$$

Pour des valeurs inférieures à 0,45 est utilisé à la place de la formule:

$$\text{➤ Activité Diastase} = 35.17 * \lambda A_{620} - 0.46$$

#### 4.2.2.9 Dosage des protéines

Le dosage des protéines s'effectue selon la méthode de [Bradford \(1976\)](#), qui utilise le bleu brillant de Coomassie (BBC) et le sérum albumine bovine (BSA) à 1mg/ml comme standard, le dosage s'effectue à l'aide d'une gamme d'étalonnage.

1g de miel est dissous dans 1ml d'eau distillée, après agitation, on prend 100 $\mu$ l et on ajoute 4ml de BBC, on fait l'agitation à 5 minutes.

A l'aide d'un spectrophotomètre on fait la lecture de l'absorbance (DO) à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc (100 $\mu$ l eau distillée+4ml de BBC).

On trace la courbe d'étalonnage des protéines (Fig. 22) qui est réalisé à partir d'une solution de BSA selon l'indication donnée dans le tableau 8 suivant:

**Tableau 8 :** Dosage des protéines et réalisation de la gamme d'étalonnage.

| Tube                         | 1   | 2  | 3  | 4  | 5  | 6   |
|------------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Solution de B.S.A ( $\mu$ l) | 0   | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillée ( $\mu$ l)     | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0   |
| Réactif BBC (ml)             | 4   | 4  | 4  | 4  | 4  | 4   |



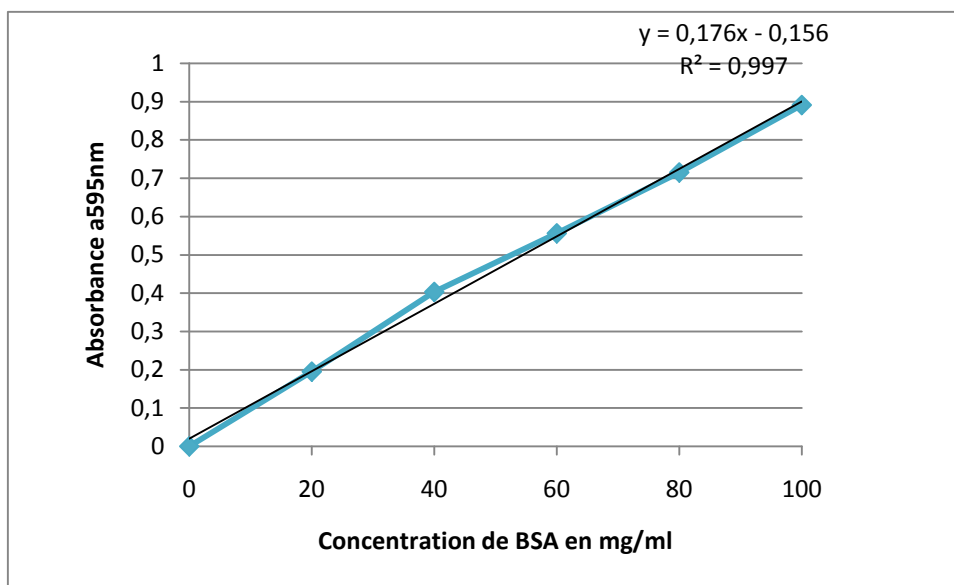


Figure22 : Courbe d'étalonnage des protéines

#### 4.2.2.10 Dosage des sucres :

- **Les sucres réducteurs totaux** : le dosage des sucres réducteurs a été effectué selon la méthode Layne-Enyon. 2.6 g de miel ont été pesés et ensuite transférés dans une fiole jaugée de 500ml. 5ml de solution de Fehling A et B ont été normalisés et transférés dans un Erlenmeyer de 250 ml, avec 7 ml d'eau et 15 ml de solution de miel. L'Erlenmeyer a été chauffé et 1 ml de bleu de méthylène à 0.2% a été ajouté. Le titrage a été réalisé en ajoutant la solution de miel diluée jusqu'à ce que l'indicateur ait décoloré (Cantarelli et al., 2008).
- **Teneur en saccharose** : La détermination de la teneur en saccharose a été réalisée par inversion, en ajoutant 10 ml de HCl dilué, 50 ml d'une solution diluée de miel et de l'eau à une fiole jaugée de 100 ml, chauffage au bain-marie, puis le refroidissement et la dilution pour marquer. Enfin la méthode Lane-Enyon a été appliquée et la teneur en saccharose a été obtenue par différence (Cantarelli et al., 2008).





### **4.2.3 Méthodes de l'analyse pollinique**

La Melissopalynologie est inspirée par la commission internationale des recherches d'abeilles (international Commission for Bee Research), c'est l'étude des pollens dans le miel. Dans la littérature, le mot s'écrit aussi comme : Mellissopalynologie et melittopalynologie. Le mot Grec melissa et melitta (forme Attic) veut dire « abeille » bien que « miel » (dans Homer). Le mot Latin (mellis)= miel. L'analyse pollinique est une technique de laboratoire pour étude des miels. Elle est basée sur la connaissance que les abeilles utilisent certains matériels naturels identifiables dans le miel (Bryant *et al.*, 2001), elle inclut le pollen et le nectar (Gretchen *et al.*, 2004 ; Kristen, 2004). La détermination de l'origine botanique du miel a pour objectif d'apprécier la proportion des différentes plantes dans le miel. Il est important pour cela de tenir compte des particularités biologiques des différentes fleurs, particularités qui conduisent à une sur ou sous-représentation du pollen dans le miel (Bogdanov *et al.*, 2003).

#### **4.2.3.1. Connaissances préalables pour l'analyse :**

##### **4.2.3.1.1. Principe et historique de l'analyse pollinique :**

L'analyse pollinique est une technique de laboratoire pour étudier des miels. Elle repose sur le fait que tous les miels naturels contiennent de petites quantités de pollen. Son objectif essentiel est de contribuer à notre connaissance des origines du miel (Louveaux, 1968). Le plus ancien travail concernant l'analyse pollinique des miels semble être celui de Pfister (1895). C'est du moins le premier mémoire relativement complet sur la question, puisqu'il comporte non seulement l'exposé d'une technique opératoire, mais aussi des résultats qui peuvent être considérés comme remarquables pour l'époque où ils ont été obtenus. Si Pfister n'a pas découvert lui-même la présence de grains de pollen dans le miel, on lui doit, par contre, la première tentative sérieuse pour leur identification à des fins théoriques et pratiques.

Après Pfister, de nombreux chercheurs se sont attachés à perfectionner et à développer l'analyse pollinique des miels. Ils ont amélioré considérablement les techniques et, par ailleurs, ils ont bénéficié de tous les progrès de la palynologie, ce qui leur a permis d'affiner les bases de leur travail. L'analyse pollinique permet de rechercher puis d'identifier certains de ces éléments. Elle permet de remonter à la source c'est à dire aux plantes et à la région du monde







qui ont produit ce miel. Elle est le complément indispensable de toute analyse physico-chimique d'un miel.

Elle permet le contrôle de la qualité des miels et en particulier de détecter les fraudes et les mélanges ainsi que de faire des constations sur l'éventuelle souillure du miel par des fragments de couvain, des poussières, etc.

La melissopalynologie est une science biologique qui nécessite plusieurs phases :

- une phase technique, consiste à l'extraction du pollen et à la confection des préparations destinées à l'étude microscopique ;
- une phase analytique, pour la détermination des pollens rencontrés et l'obtention des spectres polliniques ;
- une phase finale d'analyse et d'interprétation des résultats obtenus.

La détermination palynologique nécessite :

- Beaucoup d'informations et de connaissance concernant les caractères fondamentaux et spécifiques de pollen: morphologie, type d'aperture, ornements, mesure et dimensions, et couleur du pollen ([Erdtman, 1966 ; 1969 ; Hodges, 1984; Nilsson et Praglowski, 1992; Chefrour, 2007](#)).

-Un travail en groupe ou bien en collaboration avec des équipes (laboratoires) spécialisées dans le domaine de palynologie;

- Une connaissance de la flore locale et réalisation de lames de références pour les espèces mellifères se développant près des ruchers,

- Une connaissance approfondie de la vie des abeilles ([Frisch, 1964 ; Gout et Jardel, 1998 ; Philippe, 1999](#)).





#### **4.2.3.1.2. Problèmes posés par l'analyse pollinique :**

A ses origines, l'analyse pollinique a été considérée avant tout comme un moyen de reconnaître l'origine géographique des miels. Ce n'est que plus tardivement qu'on a compris qu'il existe un rapport entre les pollens trouvés dans un miel et l'origine botanique de celui-ci. L'analyse pollinique devient alors une méthode d'étude des miels beaucoup plus générale et susceptible d'applications variées dans un domaine de contrôle des appellations florales aussi bien que dans celui de la recherche pure : Comportement des butineuses, composition des miels, flore mellifère, phytogéographie. Au fur et à mesure des recherches, on s'est aperçu que leur interprétation correcte posait un certain nombre de problèmes.

#### **4.2.3.2. Méthodologie**

Dans notre étude, une bonne identification des différents types de pollen dans les miels est la résultante de plusieurs facteurs :

-Réalisation d'une collection de lames de références qui est l'élément indispensable à tout travail palynologique.

L'identification des plantes mellifères a été guidé par la consultation de nombreux ouvrages concernant la flore apicole ; notamment [Maurizio et Louveaux \(1965\)](#) ; [Ricciardelli D'Albore et Persano Oddo \(1978\)](#) ; [Ricciardelli D'Albore \(1979\)](#). En outre, des informations se référant à la flore Algérienne ([Louveaux et Abed, 1984](#) ; [Toubal-Boumaza, 1986](#) ; [De Belair, 1990](#)).

Vu la richesse de la flore Algérienne, quelques plantes les plus visitées par les abeilles ont été récoltées pour la confection des lames de références ([Chefrou, 2007](#)).

Plusieurs lames ont été confectionnées selon les méthodes (i- montage direct coloré avec la fuschine, ii- acétolyse par la méthode [d'Erdtman, 1960](#)) décrites par la commission internationale de botanique apicole de l'U.I.S.B. ([Louveaux et al., 1978](#)).

-Consultation de collection Corse et aide apportée par des spécialistes dans le domaine afin d'élargir le champ possible des comparaisons entre formes polliniques proches ([Chefrou, 2007](#)).





Enfin, l'utilisation de la collection photographie réalisée par Reille se rapportant sur des milliers d'espèces de différentes provenances géographiques (Reille, 1970 ; 1990 ; 1992, 1995).

L'usage d'autres atlas nous a beaucoup aidé à mieux identifier les taxons mellifères visités par les butineuses dans les différentes régions (Maurizio, 1979 ; Ricciardelli D'Albore, 1998).

#### **4.2.3.2.1. Confection des préparations pour l'analyse quantitative et qualitative**

L'étude de chaque échantillon porte sur les éléments figurés végétaux présents dans une quantité déterminée de miel (Battesti, 1990).

L'analyse qualitative a pour but de définir le contenu pollinique on établissant l'inventaire des taxons et on déterminant leurs proportions respectives, exprimées en fréquences relatives par rapport au nombre total de grains de pollen comptés.

L'analyse quantitative (extraction des éléments figurés contenus dans les miels), permet de mesurer la richesse en grains de pollen de chaque échantillon, d'avoir une idée sur la méthode d'extraction, le type de rucher et les compétences de l'apiculteur.

La méthode utilisée est celle décrite par les melissopalynologues travaillant sur du matériel 'frais' (Maurizio et Louveaux, 1967 ; Vorwohl, 1967 ; Louveaux *et al.*, 1970 ; 1978).

La prise d'essai est de 10 g de miel. Ces 10g sont dilués dans 20ml d'eau acidulée et soumis à une première centrifugation pendant 30minutes (3000 tours/mn), le surnageant est éliminé, puis le culot est repris dans l'eau distillée pour une seconde centrifugation avec élimination du surnageant.

La quantité de la prise d'essai varie en fonction de la richesse en pollen du miel. Lorsque le nombre absolu de grains est important, la prise d'essai est de 1g ; c'est le cas pour un certain nombre de nos échantillons.

La totalité du culot est recueillie ; suivant son volume, un ou plusieurs dépôts sont effectués sur la lame (une ou plusieurs lames selon le volume du culot. Après évaporation de l'eau sur plaque chauffante, un dégraissage à l'éther précède l'inclusion dans de la glycérine gélatinée. Les préparations sont alors lutées pour être conservées.





Le culot sera monté directement dans de la glycérine gélatinée. On lutte la préparation avec de la paraffine.

Le comptage des grains de pollen est réalisé au grossissement X10. Suivant la richesse en pollen, les miels seront classés dans 5 classes proposées par [Louveaux et ses collaborateurs \(1978\)](#).

Le nombre de pollen compté est supérieur à 500 grains de pollen par échantillon analysé.

L'expression des résultats sera classée selon les catégories proposées par [Louveaux et ses collaborateurs \(1978\)](#): pollen dominant ou prédominant (>45%), pollen d'accompagnement (16 – 45%), pollen isolé important (3 – 15%) et pollen isolé rare (1 – 3%).

#### **4.2.4 Analyses statistiques**

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une étude statistique basée sur:

- Une analyse élémentaire, nous avons constatés que données ne sont pas normalement distribués comme il est mentionnée au niveau de tableau de description élémentaire (Annexe6) ou il existe une différence entre les valeurs de moyenne et la celles de la médiane. Par conséquent, nous avons penchés a l'étude des testes statistiques non paramétriques pour faire la comparaison entre les groupes de données. En faite nous avons effectues le test de Krustal-Wallis et Mann-Whitney.
- Une matrice de corrélation (coefficient de Pearson est mesuré entre l'ensemble des données et le degré de signification individuel est égal à 0,05) est présentée par le tableau en annexe7.
- Une analyse multivariée des données a été effectuée afin de déterminer les liens entre les paramètres et la structuration des échantillons par rapport à l'ensemble des paramètres d'analyses.





## 4.3 Résultats et discussion

### 4.3.1 Résultats analyses physico-chimique

#### 4.3.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau représente un des facteurs primordiaux de qualification de miel suggérés par les normes internationales (*Codex Alimentarius* et la réglementation de l'UE). Sa détermination se fait grâce à la mesure de l'indice de réfraction, mesuré à l'aide d'un réfractomètre Abbé, en se rapportant au tableau de Chataway (Annexe 5). La teneur en eau est un indicateur de qualité très important pour pratiquement tous les produits alimentaires, ainsi que pour ses composants. Les règlements portant sur la qualité de la nourriture se réfèrent généralement à la teneur en eau. Officiellement, le miel ne doit pas contenir plus de 20% de l'eau ([Abramovič et al., 2008](#) ; [Kasperová et al., 2012](#)).

C'est une mesure extrêmement exploitable dans le domaine de l'apiculture et dont dépendent la qualité et l'entreposage de miel.

Dans notre étude nous avons constaté que, concernant les indices de réfraction, tous les échantillons cadrent les normes internationales ( $n_D^{20} > 1.4844$ ) avec des valeurs variant de 1.5056 à 1.4858.

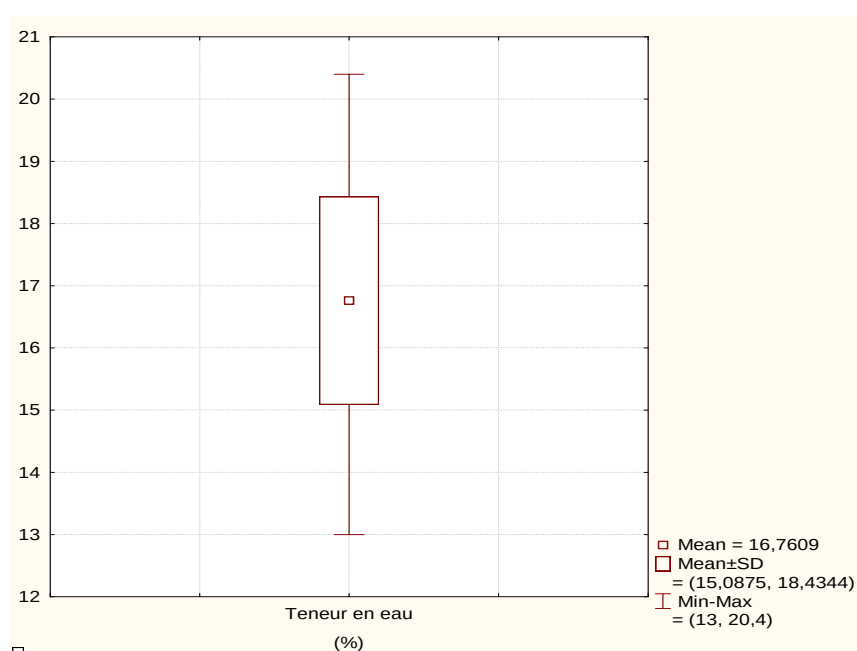
Ainsi, la teneur en eau de différents échantillons de miels étudiés varie entre 13% et 20.4% avec une moyenne de  $16.8 \pm 1.7$ . Les données obtenues sont rapportées dans la figure 23.

Ce résultat montre que tous les miels sont dans les normes proposées par le *Codex* ( $\leq 21\%$ ) (Annexe 2). Néanmoins, [Gonnet \(1982\)](#), mentionne que les risques de fermentation d'un miel sont très élevés dans le cas où sa teneur en eau est supérieure à 19%, une valeur bien enregistrée dans presque 10% des miels étudiés et cela pour les échantillons (M1, M6, M17, M27, M32, M57 et M62) qui présentent des teneurs en eau les plus élevées variant de 19 à 20% et qui sont probablement des miels fragiles susceptibles de fermenter lors de l'entreposage. La forte teneur en eau peut s'expliquer par l'origine florale de miels mais elle peut également être due probablement à une récolte précoce des rayons de miels qui ne sont pas mûrs, à une mauvaise conservation après la récolte ou à une dilution frauduleuse des miels.





En effet, plusieurs chercheurs comme [Louveau \(1968\)](#) et [Prost \(1972\)](#) signalent qu'une extraction du miel dans un milieu humide peut entraîner une absorption d'humidité. Cependant, vu que le miel est un produit hygroscopique, quand il sera exposé à l'air, un équilibre s'établira entre son humidité et celle de l'atmosphère ([Tchoumboue et al., 2001 ; 2007](#)). Ce phénomène gagne rapidement en profondeur, ce qui explique les teneurs en eau élevées chez certains miels, et le miel hydraté acquiert une structure très fragile. Or, un miel ayant une teneur en eau élevée risque de fermenter et d'être conservé difficilement. Autrement dit, une haute teneur en humidité pourrait accélérer la cristallisation dans certains types de miel et accroître son activité de l'eau à des valeurs où certaines levures pourraient croître ([Gomes et al., 2010](#))



**Figure23 :** Variation de la teneur en eau pour les échantillons analysés

La fermentation du miel indésirable au cours du stockage est provoquée par l'action des levures osmotolérantes conduisant à la formation de l'alcool éthylique et le dioxyde de carbone. L'alcool peut être d'avantage oxydé en acide acétique et de l'eau résultant en un goût amer ([Saxena et al., 2010 ; Kebede et al., 2012](#)).

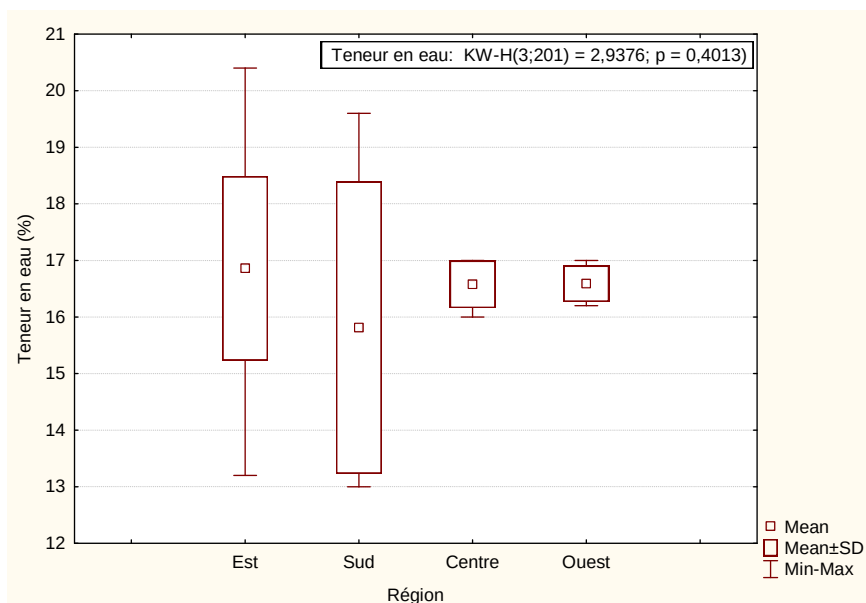
L'humidité du miel varie en fonction de l'origine botanique, de la saison de collecte du climat et de la teneur en eau du nectar et/ou du miellat ([Nanda et al., 2003](#)). Par contre, dans cette étude malgré la variation observée au niveau de la teneur en eau pour les différents échantillons



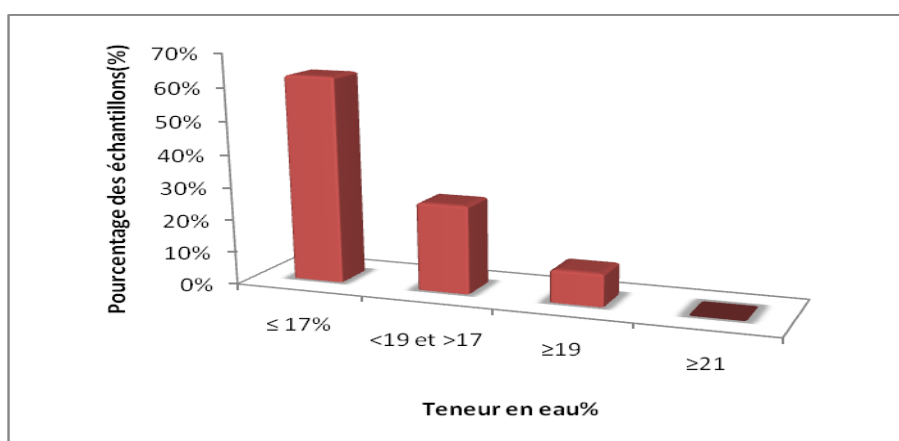


analysés (Fig.24) mais l'étude statistique n'a révélée aucune différence statistique entre les différentes régions ( $p = 0.4013$ ) Algérienne.

En outre, la fermentation de miel devient presque rare dans les miels ayant une teneur en eau inférieure à 19%, c'est le cas de 90% des échantillons étudiés. Les valeurs obtenus indiquent que les miels sont matures, probablement dû a une bonne pratique d'extraction de miel par les apiculteurs Algérien avec une utilisation des ruchers modernes et en donnant le temps qu'il faut pour l'extraction.



**Figure 24:** Etude de variation de la teneur en eau selon les régions d'étude



**Figure 25 :** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du *Codex* pour la teneur en eau







Au dessous d'une teneur en eau de 17%, la fermentation n'intervient pas, c'est ainsi le cas de la majorité des échantillons étudiés (63%) et qui sont considérés comme étant des miels de très bonne qualité vis-à-vis de la conservation et du stockage (Fig.25)

Nos résultats se concordent avec les résultats d'Ouchemoukh et ses collaborateurs (2007) avec des valeurs qui varient de 14.6 à 19.0% ; Chefrou et ses collaborateurs (2007) des valeurs allant de 16.0 à 20.4%, Makhloufi et ses collaborateurs (2010) avec des valeurs de 13.9 à 20.2% ; Amri et Ladjama (2013); Zerrouk et ses collaborateurs (2011) et Kasperová et ses collaborateurs (2012) des valeurs de 16 à 21%.

Comme déjà dit plus haut, nous constatons une variation de la teneur en eau du miel et qui dépend certainement de divers facteurs tels que: l'origine botanique, la saison de la récolte, le degré de maturité dans la ruche, les techniques de traitement et les conditions de stockage (température, lumière, l'aération (O<sub>2</sub>), etc.) (Finola et al., 2007).

Sachant que l'humidité et la teneur en sucre sont strictement corrélées et des valeurs anormales de degrés Brix (directement liées à la teneur en sucre) peuvent être un indice fiable de la falsification (Conti et al., 2000 ; Terrab et al., 2004).

#### **4.3.1.2. Teneur en matière sèche (Degré de °Brix)**

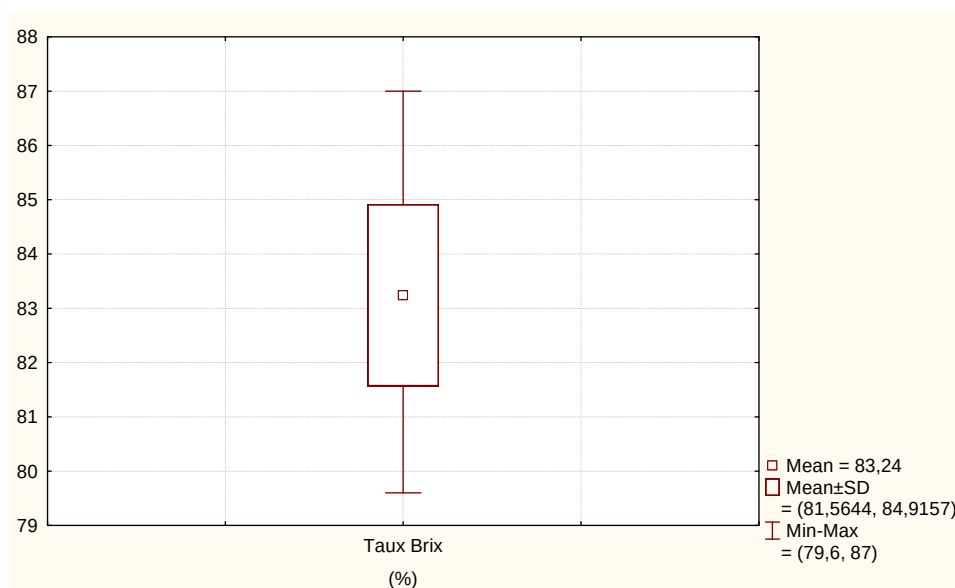
La matière insoluble du miel comprend le pollen d'abeille, les débris de rayon de miel, abeille et de particules de saleté. En tant que tel, ce paramètre est un critère de propreté, car il permet de détecter les impuretés de miels (Bogdanov et al., 1997 ; Almeida-Muradian et al., 2013).

Ce sont des substances ayant échappé à la filtration telles les impuretés cireuses et des impuretés microscopiques comme les grains de pollen (Huchet et al., 1996).

La matière sèche de nos échantillons varie entre 79.6 (M 23) et 87 (M 83) avec une moyenne de 83.2%± 1.7 (Fig.26). Ces valeurs obtenues pour les types de miel étudiés se situent dans la limite fixée par la législation (réglementation européenne), révélant une adéquate manipulation du produit.

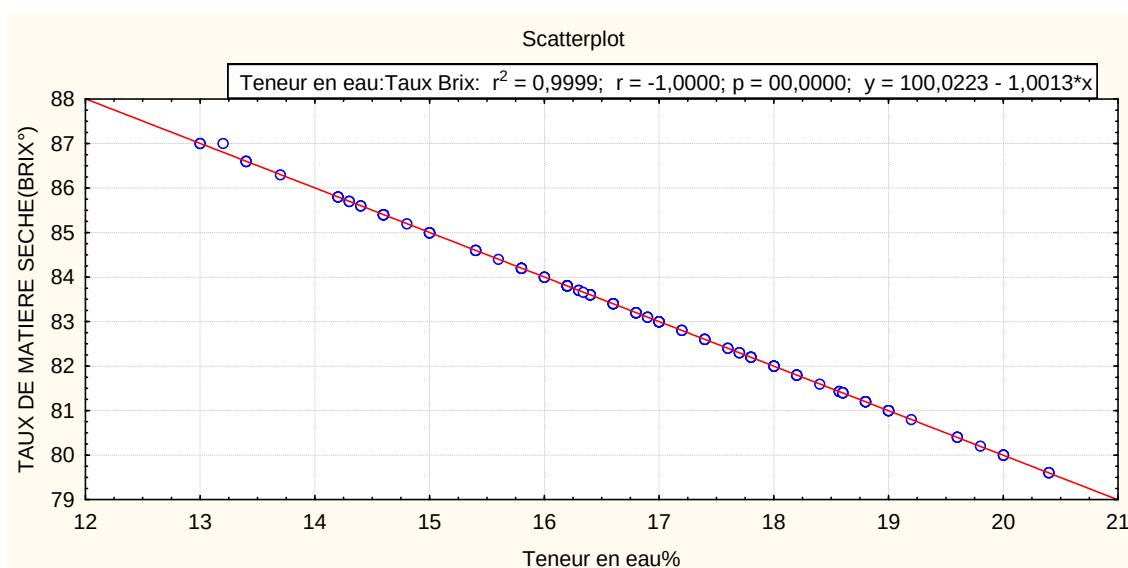
Nos résultats sont totalement similaires aux travaux de Chefrou et ses collaborateurs (2007) et Zerrouk et ses collaborateurs (2011).





**Figure26:** Variation de taux de Brix° des miels étudiés

En effet, il faut mentionner que la matière sèche est relativement inversée à la teneur en eau et sont strictement corrélées. Quant nous avons essayé d'étudier la corrélation entre les deux paramètres sus mentionnées (Fig. 27). Nous avons trouvé un coefficient de détermination de ( $R^2=1$ ).



**Figure 27 :** Régression linéaire de la teneur en eau (%) et le taux de matière sèche (Brix°) pour les échantillons étudiés

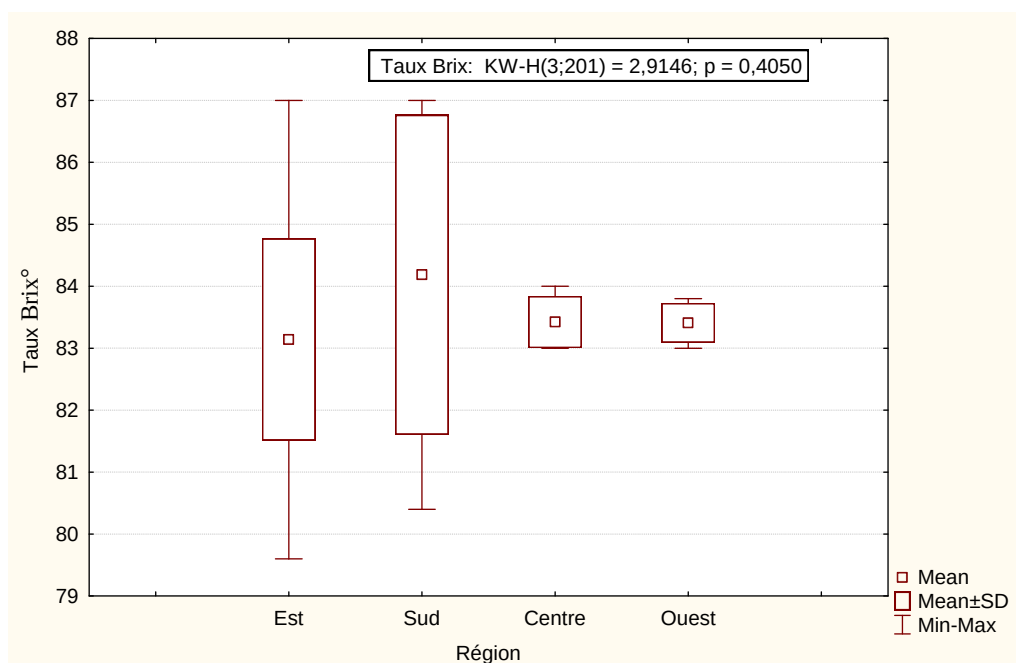




Par conséquent, les échantillons qui présentent une teneur en eau élevée comportent une faible quantité de la matière sèche et que des valeurs aberrantes peuvent être signe d'adultération (Conti, 2000).

En revanche, les échantillons qui ont une forte quantité en matière sèche offrent une très bonne conservation.

Nous avons essayé d'étudier la variabilité entre les différentes régions de l'Algérie vu qu'il existe une légère fluctuation visiblement observable (Fig.28), or, l'analyse statistique (Kruskal-Wallis test) effectuée a révélée qu'il n'existe aucune différence significative entre les différents sites d'étude ( $p = 0.405$ ).



**Figure 28:** Etude de variation de teneur en matière sèche selon les régions d'étude

#### 4.3.1.3. Densité

La densité de miel est un facteur important. La densité des échantillons de miels mesurés étaient de  $1.46 \pm 0.13$  g /ml et oscille entre 0.81 et 1.73 g /ml. Les valeurs de la densité des miels analysés sont variables (Fig. 29). Chefrour et ses collaborateurs (2007a) ont trouvé des valeurs de 1.37 à 1.5.

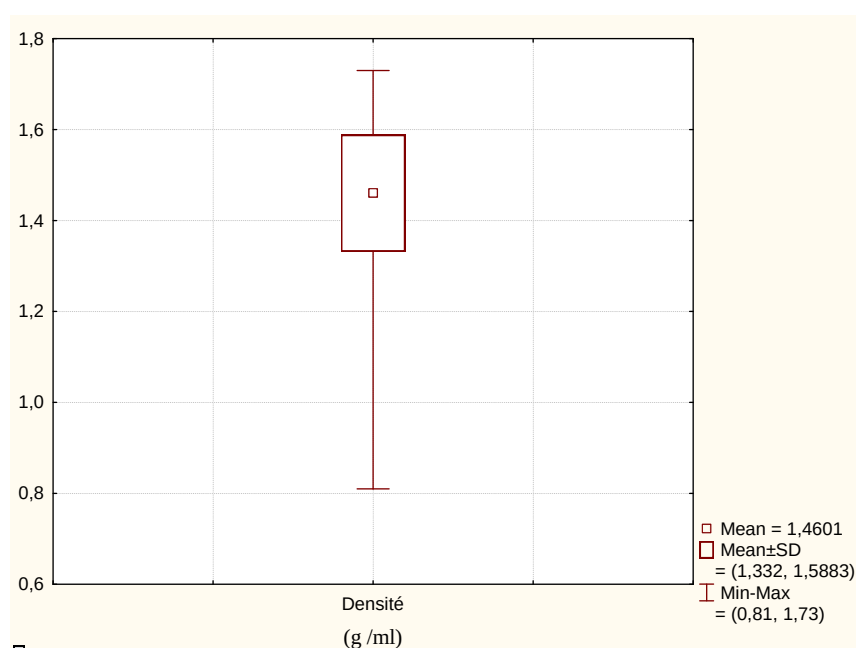




Nous avons observés que 61% des échantillons respectent les normes du *Codex Alimentarius* (2001) et les normes préconisées par l'Association française de normalisation.

Toutefois, certaines valeurs 13,5% des échantillons sont inférieures à la norme, qui est de 1.39 à 1.41 jusqu'à 1.52 à 20°C. Louveaux (1985), indique que les variations de la densité des miels proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau et moins il est dense.

La densité la plus faible est observée chez l'échantillon M13 de la région de Meradia Zitouna, wilaya de Taref avec une valeur de 0.81g /ml.



**Figure 29:** Variation de la densité des miels étudiés

Par contre plus 25.5% des échantillons dépasse de loin cette valeur se sont des miels denses. La valeur la plus élevée est celle de l'échantillon (M11) d'Ain Khia wilaya de Taref (1.73 g .ml<sup>-1</sup>).

En effet, les échantillons ayant des valeurs dépassant la limite maximale qui est de 1.5 sont des miels très denses, ceci peut avoir une relation avec le mode d'extraction et la présence des impuretés ou probablement signe d'adultération de miel par le sucre blanc (Saif-ur-Rehman et al., 2008). Ce dernier a trouvé des valeurs de densité de 1.62 g·ml<sup>-1</sup> ± 0.03 pour des miels



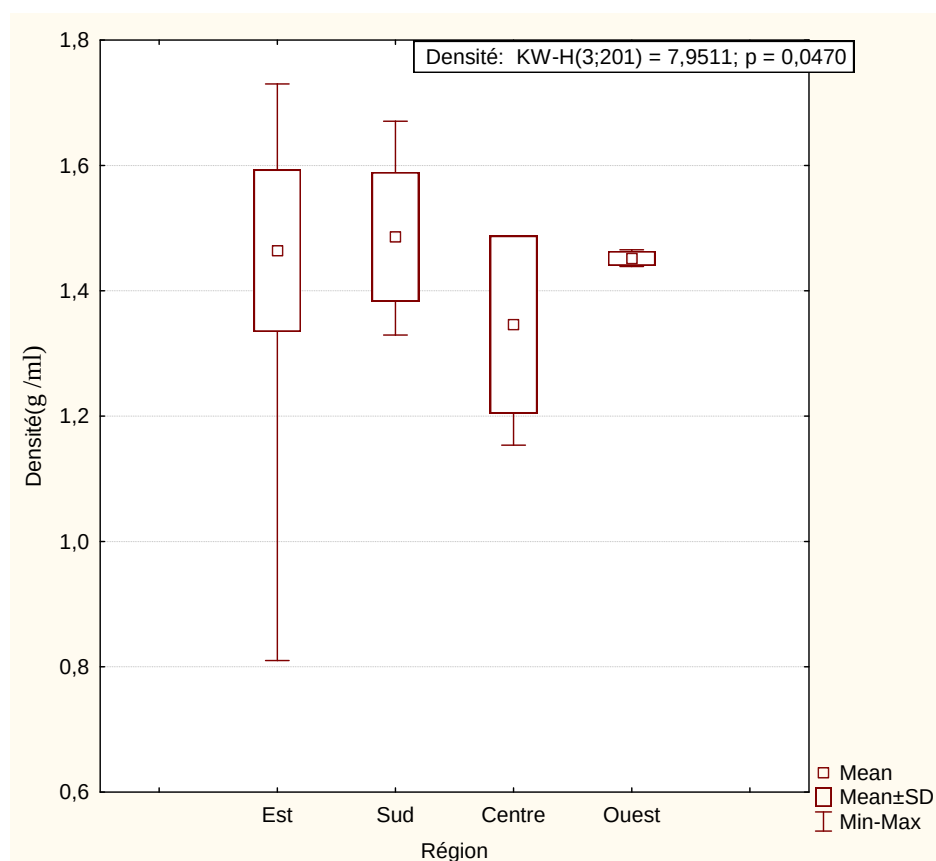


adultérés par l'addition de solution concentrée de sucre et une valeur de densité de  $1.55 \pm 0.03 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$  pour des miels pur (non adultéré).

La densité du miel peut augmenter ou diminuer avec l'augmentation de la teneur en humidité. C'est le cas de l'échantillon M27 et M62 représentant des valeurs supérieures à 18% d'eau.

Des résultats d'études d'El-Biale et Sorour (2011) indiquent que la densité diminue avec l'augmentation de la concentration de l'amidon ajouté au miel, la même tendance a été observée pour le miel frelaté par l'ajout de glucose et de l'eau distillée. Par ailleurs, les valeurs de densité augmentent avec la concentration de mélasse ajoutée au miel.

Des variabilités bien observées entre les différents régions ont été prouvées (Fig.30) par l'étude statistique utilisant le test Kruskal-Wallis, ainsi nous avons constatés qu'il existe une différence significative entre les différentes régions d'étude ( $p = 0.04$ ) pour ce paramètre.



**Figure 30:** Etude de variation de la densité selon les régions





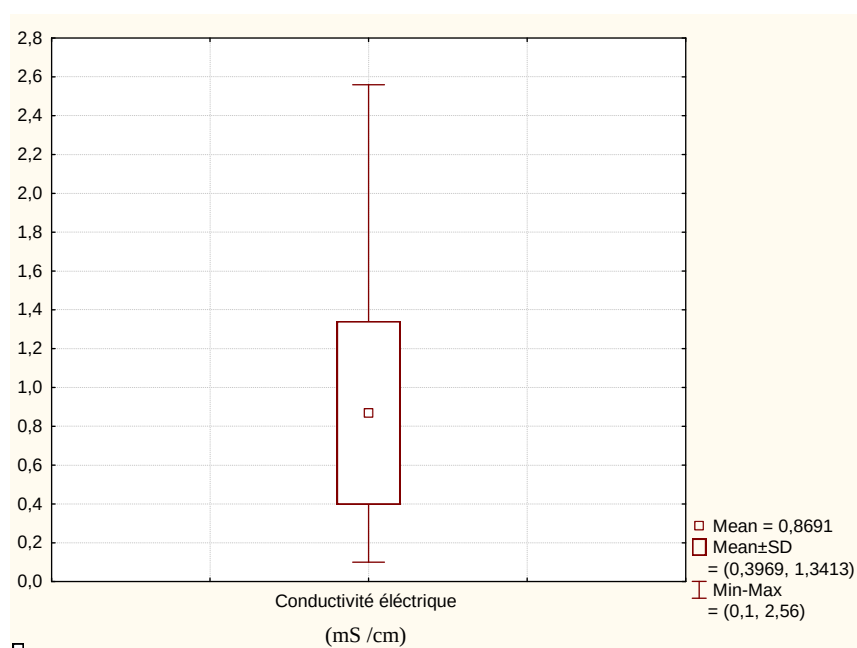
#### 4.3.1.4. Dosage de conductivité électrique

Le miel jouit d'une propriété intéressante qui est la possibilité de permettre le passage d'un courant électrique, mesurée en milliSiemens/Cm. Cette propriété appelée conductivité électrique dépend largement de la teneur du miel en matière ionisable, matières minérales, acides organiques, protéine et la composition de sucre dans le miel (Ulloa, 2012).

En effet, la conductivité représente un outil fiable pour la détermination de l'origine botanique du miel, car un miel de nectar a une plus faible conductibilité qu'un miel de miellat, et est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine du miel.

Dans cette étude nous avons constaté une grande variation des valeurs de conductivité électrique allant de 0.100 mS /cm à 2.56 mS /cm avec une moyenne de 0.869 mS /cm  $\pm$ 0.47 (Fig.31, Fig.32).

Ouchemoukh et ses collaborateurs (2007) ; Makhoulfi et ses collaborateurs (2010) ; Benaziza-Bouchema et Schweitzer (2010) ; Bendeddouche et Dahmani (2011) ont trouvés des résultats pour 151 miels algériens entre (0.10 à 1.61 mS/cm).

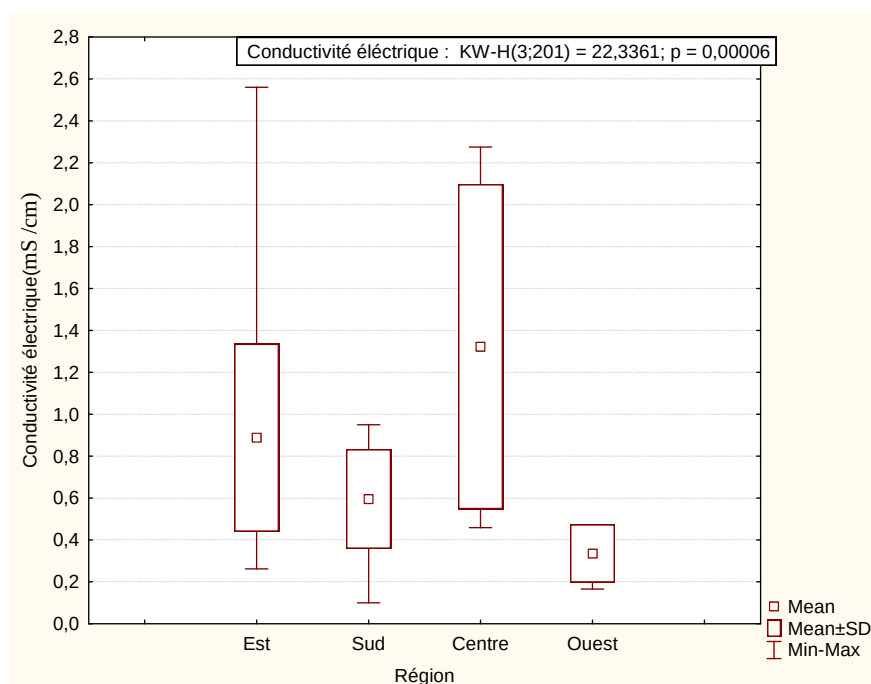


**Figure 31:** Variation de la conductivité électrique des miels étudiés





Par ailleurs, cette variabilité a été bien expliquée par l'étude statistique qui a révélée des différences très hautement significative ( $p = 0.00006$ ) entre l'ensemble de site de différent régions. Par conséquent, il est possible de confirmer que la conductivité a une relation avec le nombre de pollen trouvé, car les sels sont apportés par le pollen, et aussi par la nature de nectar des plantes (Gonnet, 1982).



**Figure 32:** Etude de variation de la conductivité électrique selon les régions

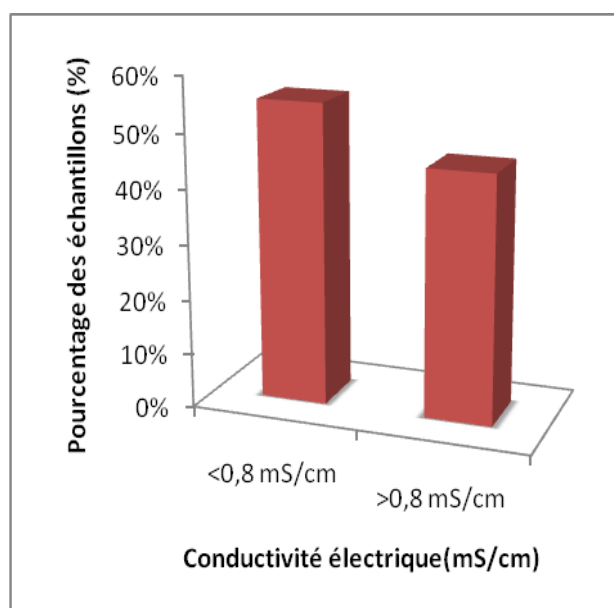
Comme nous venons de le voir, la conductivité représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel et sa mesure peut être effectuée à la place de la détermination de la teneur en cendres.

En générale, le miel de nectar, les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat ont une conductivité inférieure à 0.8 mS/cm, or, les miels de miellat et le miel de châtaigner, sont supérieurs à 0.8mS/Cm (Codex Alimentarius, 2001; EU, 2001; Bogdanov, 2002).

D'après la figure 33 basant sur les normes du *Codex Alimentarius*, on peut dire que 55% des échantillons sont probablement des miels de nectar. Tandis que les 45% échantillons restants peuvent être des miels de miellats, un mélange de miellat et de nectar ou probablement à cause de l'influence de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel, plus ces dernières sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée.







**Figure 33:** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du *Codex* pour la conductivité électrique

#### 4.3.1.5. Dosage de matières minérales (cendres)

Parmi les paramètres de qualité de miel figurant dans les normes du *Codex Alimentarius* et les règles de l'Union Européenne on trouve le dosage des cendres, représentant le résidu minéral du miel après incinération. Sa détermination offre la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel (Silva et al., 2009).

Les matières minérales ou cendres ont une teneur inférieure à 1% (elle est en général de l'ordre de 0.1%). Selon l'ordre d'importance, ils sont classés comme suit : le potassium, le calcium, le sodium, le magnésium, le cuivre, le manganèse, le chlore, le phosphore, le soufre et le silicium ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend fondamentalement du climat (White, 1978 ; Vanhanen et al., 2011), des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent (Huchet et al., 1996).

En effet, les résultats obtenus pour la teneur en cendre de nos échantillons étudiés sont regroupés dans la figure 34, et varient de 0.01 jusqu' à 1.57% avec une moyenne de  $0.475 \pm 0.29$ . Ce résultats est totalement en concordance avec les travaux de White (1975), qui a travaillé sur différentes variétés de miels et a obtenus des valeurs de contenu en cendre variant de 0.020 à 1.028%. Chefrou (2007) a également trouvé en étudiant des miels



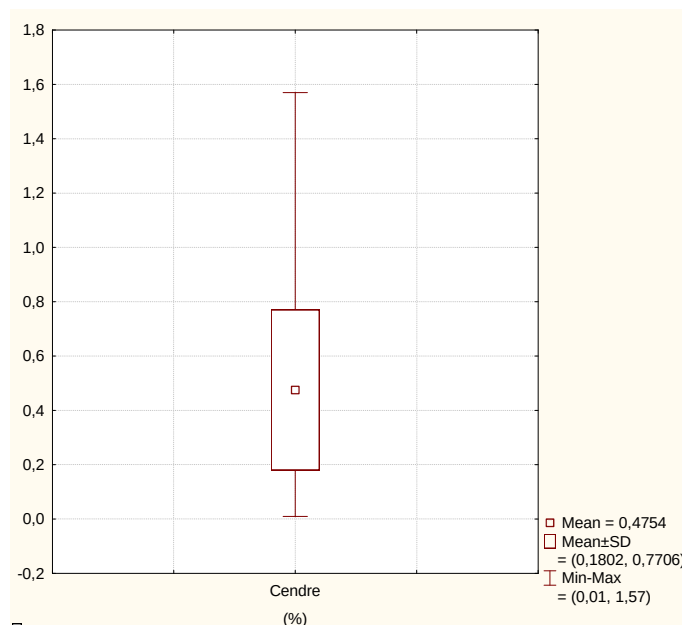


du Nord- Est Algérien des valeurs en contenu de cendre pour 62 échantillons de miel allant de 0.11% jusqu'au 1.56%. Ainsi, la variation peut probablement être due à plusieurs facteurs comme les conditions du sol, les conditions atmosphériques, et la physiologie de chaque plante (Shahnawaz et *al.*, 2013) .

Cependant, nous avons constaté après avoir effectué l'analyse statistique relative à la teneur en cendre qu'il existe une différence très hautement significative (Fig.35) entre les différents types de miels issus de quatre régions de l'Algérie, ce qui confirme la variabilité entre les miels étudiés.

On se basant sur les normes de la teneur en cendre mentionnées par l'Union Européenne(2002) et le *Codex Alimentarius* (2001), nous avons constatés que nos échantillons se répartissent en deux groupes:

- 53 échantillons ont présentés des valeurs en cendre inférieures ou égales à 0.6% se qui indique qu'ils sont des miels de nectars. Ces valeurs concordent avec les résultats obtenus par Ouchemoukh et ses collaborateurs (2007) travaillant sur des miels Algériens dans la région de Bejaïa. Zerrouk et ses collaborateurs (2011) ont également trouvé des valeurs similaires. Ces résultats indiquent la clarté des échantillons de miel et peut-être l'absence de falsifications avec de la mélasse (Mendes et *al.*, 1998 ; Silva et *al.*, 2009) .

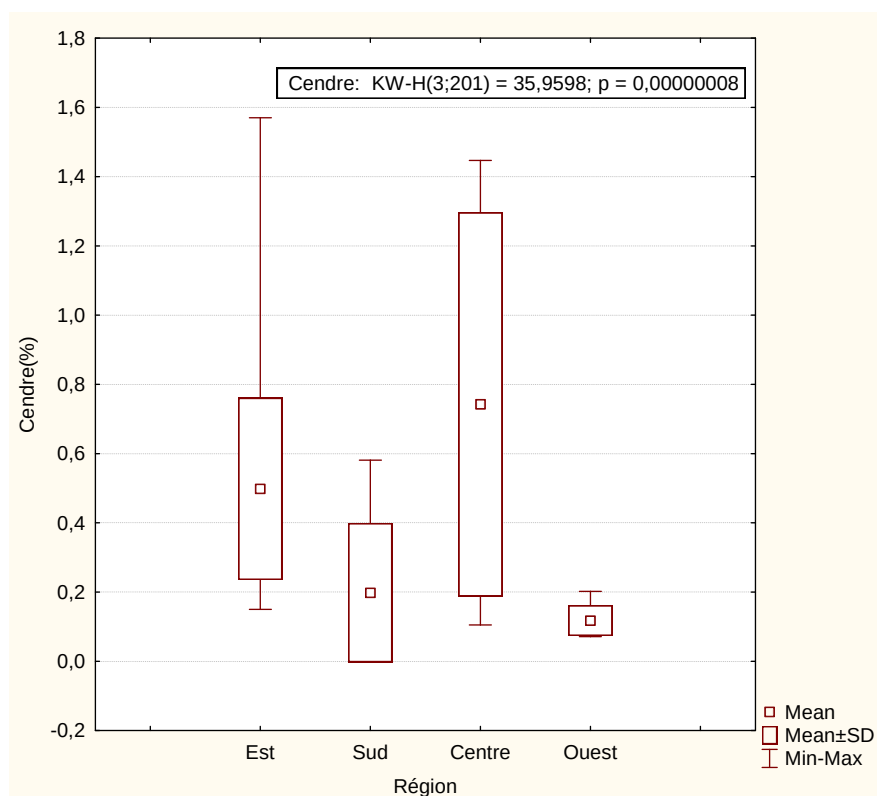


**Figure 34 :** Variation de la teneur en cendre des miels étudiés





- 14 échantillons, 21% de la totalité de miels étudiés, ont des valeurs supérieures à 0.6% ce qui permet de les classer dans le groupe de mélange de nectar et miellat et /ou miel de miellat. En revanche, [Popeck \(1998, 2002\)](#) a démontré que la teneur en cendre des miels de miellats peut descendre à 0.56%. Par contre [Diez et ses collaborateurs \(2004\)](#) maintiennent le seuil de 0.6% ([Chefrou, 2007](#)). Leur justification repose sur la richesse des miels de miellat et les mélanges (nectar et miellat), et la difficulté rencontrée pour faire la différence entre les deux types de miels ([Bogdanov et al., 1999](#)).



**Figure 35 : Etude de variation de cendre selon les régions**

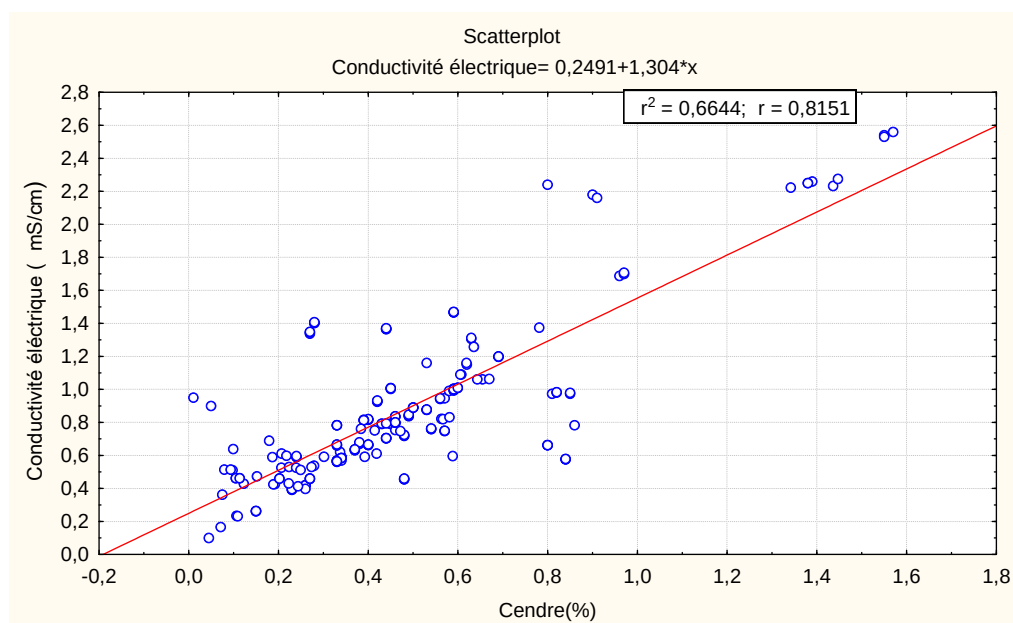
L'échantillon de miel M4 a présenté une valeur de 1.57%. Ce résultat est semblable à celui trouvé auparavant par les travaux de [Chefrou \(2007\)](#). Cet échantillon a été récolté de la région Zériba Nacera (Annaba) près d'une zone industrielle et un réseau routier ce qui favorise la probabilité de la contamination des produits résineux et des excréments des insectes suceurs de la sève secrétés par le pin.





En effet, selon [Chefrour \(2007\)](#) cet échantillon est issu d'une pinède et lors de butinage, l'abeille récolte de la propolis, et contaminées par les polluants atmosphériques. Son corps et son butin se chargeront de minéraux qui seront transporté à l'intérieure de la ruche.

On outre, il existe une relation intime et linéaire entre les cendres et la conductivité électrique. Cela est présenté dans la figure 36 ( $R = 0.658$ ) et indique qu'une augmentation de CE est accompagnée par une élévation de teneur en conductivité électrique. Ce résultat a été reporté par plusieurs chercheurs ([Feás et al., 2010](#); [Gomes et al., 2010a](#)).



**Figure 36 :** Régression linéaire de la teneur en cendres (%) et la conductivité électrique (CE; mS / cm) pour les échantillons étudiées

#### 4.3.1.6. Potentiel d'hydrogène (pH)

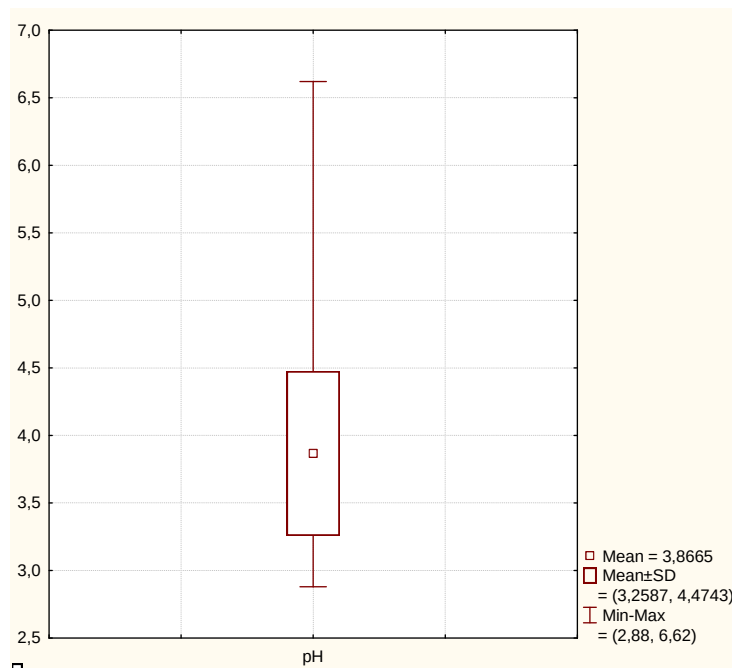
Le pH ou potentiel d'hydrogène ou indice de Sorensen est défini comme le cologarithme de la concentration en ions H dans une solution. Pour le miel, c'est un indice de la "réactivité acide" du produit ([Louveaux, 1985](#); [Vanhanen et al., 2011](#)). Il est fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme (ion  $H^+$ ) ainsi que sa composition minérale (ion  $OH^-$ ).

Le pH du miel est influencé par les conditions durant l'extraction et la conservation, qui influence aussi la texture, stabilité et la durée de vie ([Silva et al., 2009](#)).





Les valeurs de pH des miels analysés varient de 2.88 à 6.62 avec une moyenne de  $3.86 \pm 0.60$  (Fig.37). Ce résultat confirme le caractère acide des miels (Nanda et al., 2003).



**Figure37 :** Variation des pH des miels étudiés

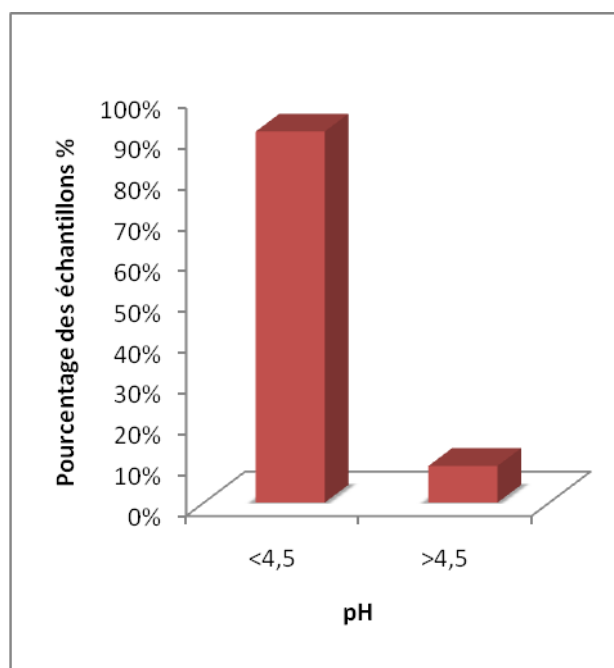
Nos résultats cadrent les normes internationales et concordent avec des résultats de plusieurs autres miels Algériens. Makhoulfi et ses collaborateurs (2010) ont trouvé des valeurs de pH dans l'intervalle de (3.40 à 6.23) pour 66 miels algériens. Manzanares et ses collaborateurs (2011) ont appliqué l'analyse multivariée sur les indicateurs physico-chimiques des miels de fleurs et miels de miellat soupçonnés. Tous les miels analysés étaient acide avec un pH dans la gamme de 3.52 à 6.91.

La détermination de pH est un outil très efficace pour la détermination de l'origine florale du miel. Ainsi, les miels issus des nectars ont un pH compris entre 3.5 et 4.5 et c'est le cas de 91% des échantillons analysés. Ces valeurs étaient similaires à ceux rapportés précédemment pour d'autres échantillons de miel en provenance du Brésil, de l'Inde, et la Turquie, qui ont été signalés à avoir des pH entre 3.49 et 4.70 (Saxena et al., 2010 ; Manu et al., 2013; Kayacier et Karaman, 2008 ).





Par contre, les échantillons qui présentent un pH entre 4.5 et 5.5 (Fig. 38) indiquent qu'il s'agit d'un miel de miellat (Gonnet, 1986). Les échantillons M4, M20 et M67 appartiennent à ceux provenant des miellats et ont un pH un peu plus élevé (Gonnet, 1986 ; Pesenti *et al.*, 2008).



**Figure 38 :** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du *Codex* pour le pH

Par conséquent, c'est l'échantillon M63 originaire de Metidja, wilaya de Blida, qui représente la valeur de pH la plus élevée 6.56 et cela est due probablement à sa richesse en matières minérales (1.40%) car plus le taux des matières minérales est fort et plus le pH du miel se rapproche de la neutralité (Gonnet, 1982 ; Chefrou, 2007).

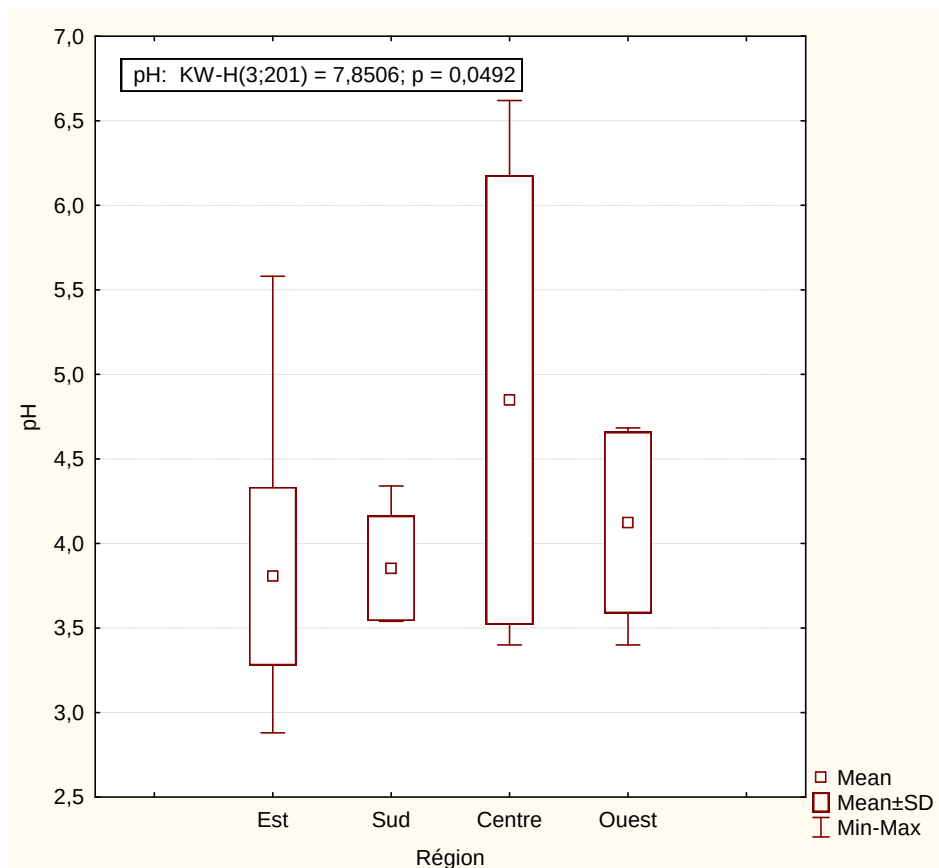
Cependant, d'après une étude de Saif-ur-Rehman et ses collaborateurs (2008), les échantillons de miel avec un pH supérieur à 5 peuvent être considérés comme étant de faible pureté et de faible qualité car lors de l'addition d'eau, le miel a montré des changements remarquables dans l'ensemble de ses propriétés physiques. Le même auteur indique que le pH des miels adulterés était supérieur à celle des échantillons purs.

L'analyse statistique effectuée par test Kruskal-Wallis pour le paramètre pH a montré qu'il existe une différence significative ( $p = 0.04$ ) entre les échantillons issus de différentes régions de l'Algérie (Fig.39).





Par conséquent, ce résultat confirme que le pH nous renseigne sur l'origine florale qui est corrélée avec le facteur site.



**Figure 39 :** Etude de variation du pH selon les régions

Or, il faut faire attention car le pH influence fortement la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes : elle est plus rapide pour un pH faible (<3.5) que pour un pH élevé (4.0-5.0). Ainsi, 24% des échantillons peuvent être des miels fragiles, c'est le cas de M2, M10, M14, M18, M22, M26, M27, M28, M29, M30, M31, M32, M36, M39, M41 et M45. Les valeurs du pH, les plus basses, ont été observées pour les échantillons M30, M31, M41 et M45 avec des pH de 2.90, 2.91 et 2.95 respectivement. Ce résultat se concorde avec les travaux réalisés par [Terrab et ses collaborateurs \(2003\)](#) qui ont trouvé un pH de 2.25 pour quelques miels du Maroc.







#### 4.3.1.7. Dosage de l'acidité : Les acidités libre, combinée et totale

L'acidité est un critère de qualité primordial dans le miel représentant indicateur indirect mais fiable de la fraîcheur de miel. En effet, l'acidité et le pH sont influencés par l'origine botanique et ont indirectement une relation avec la fermentation du miel (Crane, 1975 ; White, 1978).

La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel, l'acidité du miel contribue à sa stabilité contre les microorganismes (Garcia, 2001 ; Terrab et al., 2003), c'est pourquoi une valeur maximale est très utile, bien qu'il existe une fluctuation naturelle considérable. L'ancienne norme prescrit une valeur maximale de 40 milliéquivalents/kg. Dans le projet du *Codex Alimentarius*, elle a été augmentée à 50 milliéquivalents/kg, étant donné qu'il existe quelques sortes de miels qui ont une teneur naturelle en acide plus élevée (Bogdanov, 1995). L'acidité du miel est également un inhibiteur efficace de beaucoup d'espèces bactériennes (Moorhead, 1993).

Dans cette étude nous avons essayé de mesurer les trois types d'acidité du miel (acidité libre, acidité combinée et acidité totale).

L'acidité libre est due à la présence d'acides organique, particulièrement l'acide gluconique produit à partir de nectar, durant la maturation, par le glucose oxydase (Ajlouni et Sujirapinyokul, 2010), qui sont en équilibre avec ceux de lactone et quelques ions inorganiques tel : les phosphates ou sulfates (Mondragon-Cortez et al., 2012) et les chlorures (Nanda et al., 2003 ; Kahraman et al., 2010). C'est un paramètre très important dans l'étude de qualité du miel est figure dans les normes du commerce internationale.

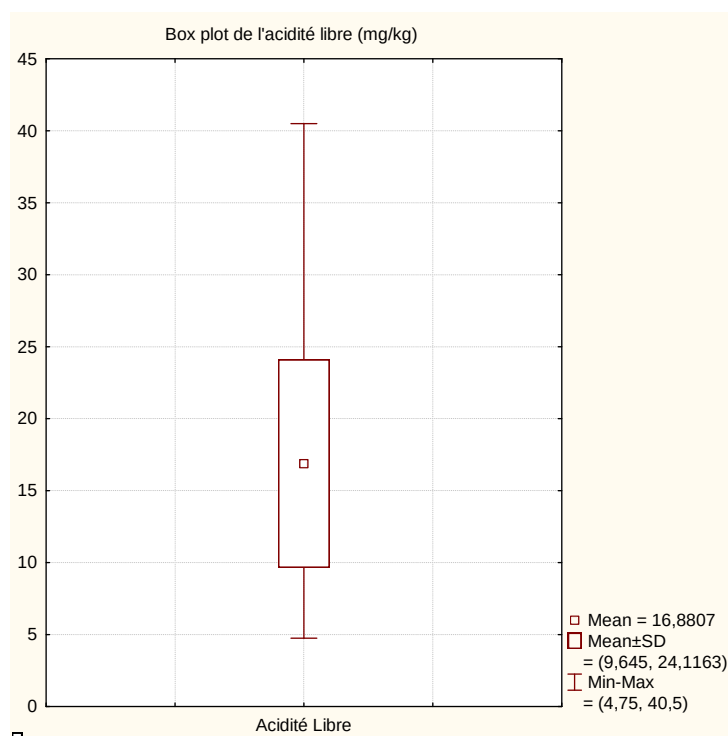
Dans cette étude nous avons calculé les valeurs de l'acidité libre et qui sont situées entre 4.75 et 40.5 meq/kg (Fig. 40) avec une moyenne de  $16.88 \pm 6.28$ . Ceci indique que tous les échantillons sont dans les normes requises du *Codex Alimentarius* (2001), est de 50 milliéquivalent d'acide /kg de miel.

Ce résultat est similaire à celui trouvé par Chakir et ses collaborateurs (2011) pour des miels Marocains (8.86 to 44.09 meq/ kg).





L'échantillon M41 originaire de la région de Henancha, wilaya de Souk Ahras, présente la plus faible acidité (4.75 meq/kg). Cette faible valeur peut probablement indiquer que ce miel est pauvre en acides organiques ainsi qu'en matière minérale.



**Figure 40:** Variation de l'acidité libre des miels étudiés

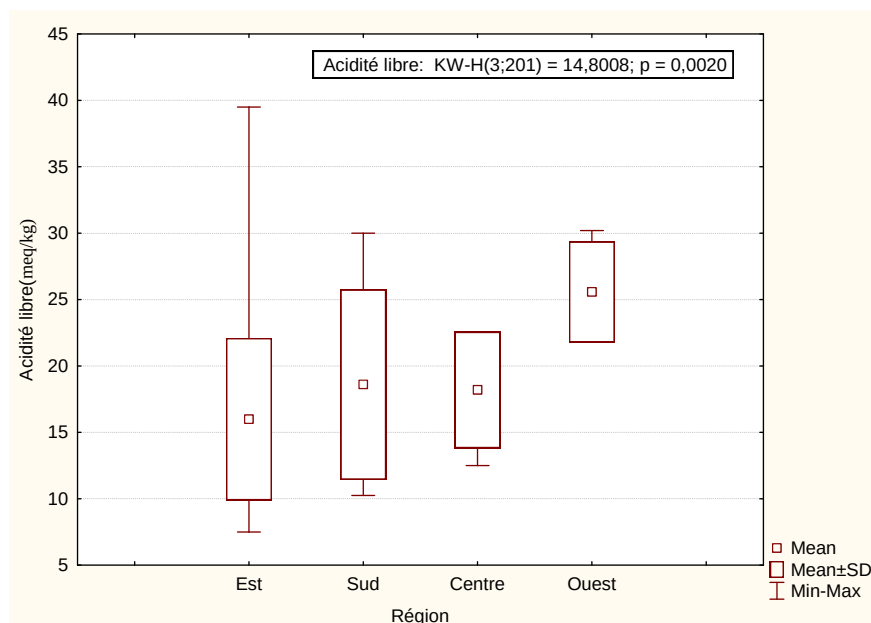
Par contre, l'échantillon M 57 issu de Hammamet, wilaya de Tébessa, montre une acidité la plus élevée (40.5meq / kg) ; se qui indique que c'est un miel riche en protéines (1.21%), acide aminées et acide organique libres. Cette variabilité est bien expliquée par l'étude statistique qui a montré une différence très hautement significative ( $p = 0.002$ ) surtout entre les différentes régions Algérienne (Fig.41).

Concernant l'acidité des lactones, nommée aussi acidité combinée, considérée comme acidité de réserve quand le miel devient alcalin (Terrab *et al.*, 2002 ; Mondragon-Cortez *et al.*, 2012).

Les valeurs obtenues de l'acidité combinée sont représentées dans la figure 42(a). Elles varient entre 0.125 et 40.25 meq/kg avec une moyenne de 13.75 meq/kg  $\pm 8.77$ .

Des résultats moins inférieurs sont trouvés par Chakir *et ses collaborateurs* (2011) avec des teneurs entre 2.68 and 14.17 meq/kg pour des miels du Maroc.





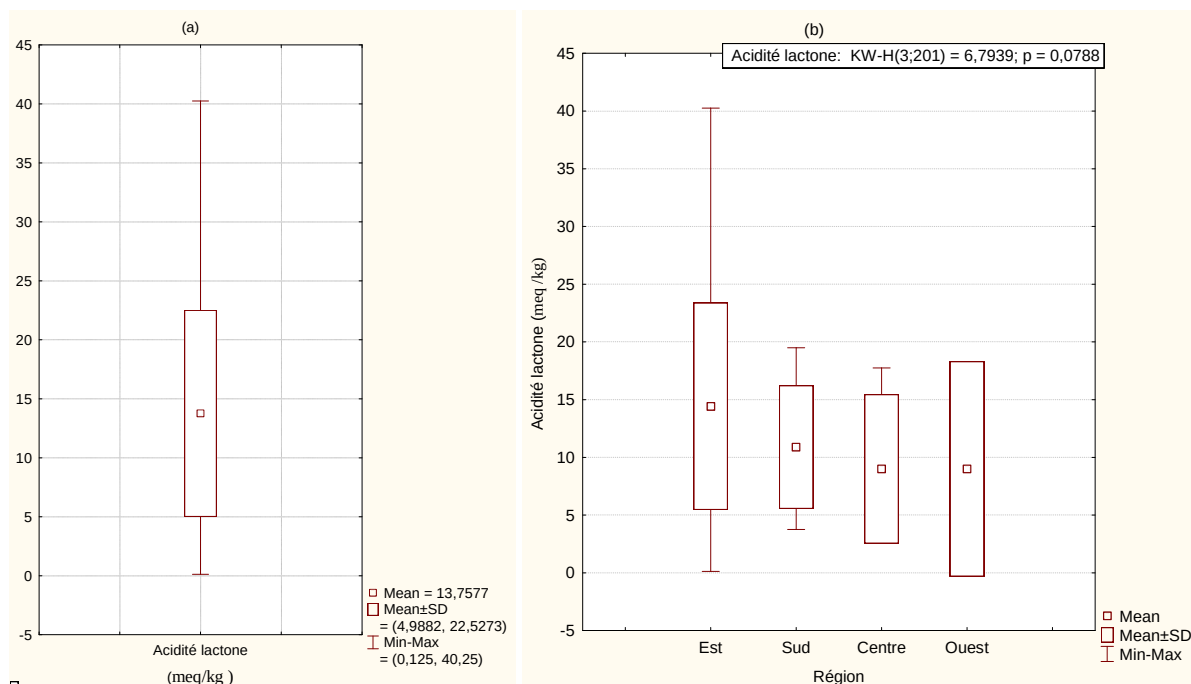
**Figure 41:** Etude de variation de l'acidité libre selon les régions

Dans cette étude nous avons trouvé qu'il n'existe pas des différences significative entre les différents miels issus de quatre régions Algériennes ( $p = 0.07$ ). Dans ce travail nous avons observé que les échantillons M38 (Hemissi, Souk Ahras) et M4 (Zeriba Nacera, Annaba) représentent les valeurs les plus basses avec un taux de 0.125 et 0.25 meq/kg respectivement.

La valeur maximale a été trouvée chez l'échantillon M47 (Taoura, Souk Ahras) récolté dans une zone semi -aride du Nord-est Algérien.

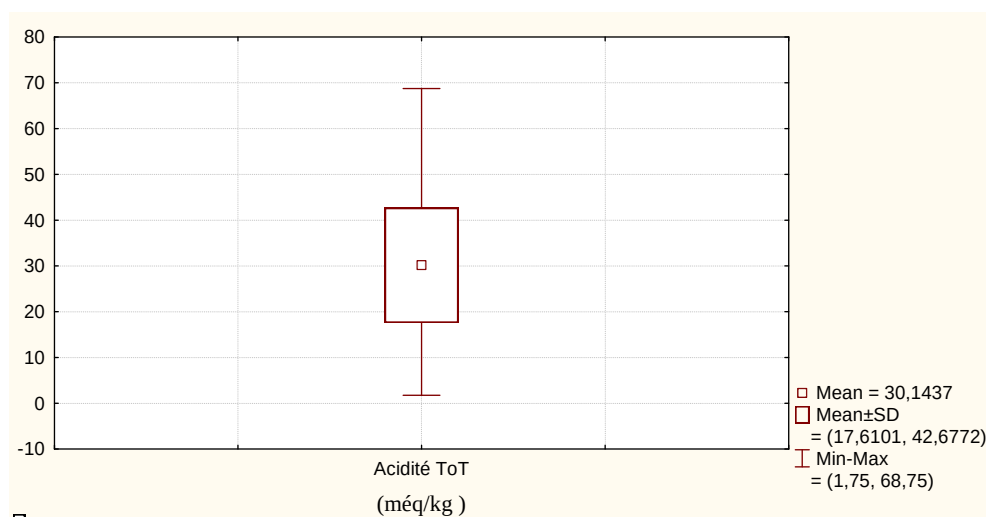
Concernant l'acidité totale, résultante de la somme des deux acidités (libre et combinée), nous avons remarqué que les valeurs oscillent entre 1.75 et 68.75 meq/kg avec une moyenne de 30.14 meq/kg  $\pm 12.53$  (Fig.43).





**Figure42 :** (a)Variation de l'acidité des lactones des miels étudiés, (b) Variation en fonction de région

On se basant sur les normes du *Codex Alimentarius* (2001) et les règles de l'Union Européenne (2002), nous avons constaté que 4.5% des échantillons sont hors normes. En fait, la concentration en acide maximum acceptable est de 50 méq/kg de miel. Au-delà de cette valeur les miels ont probablement de fortes chances d'avoir subi des modifications indésirables telle la fermentation.

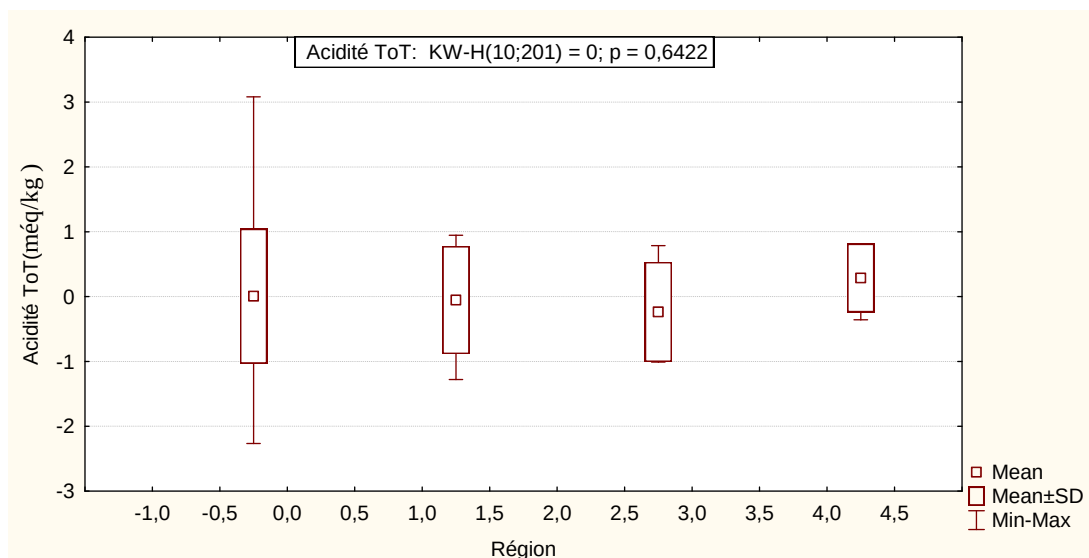


**Figure43 :** Variation de l'acidité totale des miels étudiés





Autrement dit, la fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel, bien qu'il existe une fluctuation naturelle considérable. Par contre, l'étude statistique a révélée qu'il n'existe pas de différence significative entre les différents échantillons ( $p = 0.64$ ) issus des quatre régions d'étude (Fig.44).



**Figure44 :** Etude de variation de l'acidité totale selon les régions Algérienne

En revanche, la majorité des échantillons de miels étudiés cadrent les normes internationales et sont semblable a d'autre travaux sur des miels Algériens ([Chefrour et al.,2009](#)). Ce résultat concorde également avec des travaux pour des miels internationaux comme pour le miel de Benin (Cotonou) avec une acidité comprise entre 21.80 et 64.32 meq /kg ([Djossou et al., 2013](#)) et une acidité totale entre 11.94 et 58.03 meq/ kg trouvé par [Chakir et ses collaborateurs \(2011\)](#).

En d'autre terme, les données d'acidité, plus précisément l'acidité libre, illustrent l'influence notable de type floral sur l'acidité de miel. En plus, la variation de l'acidité entre les différents types de miels peut être attribuée aussi à la saison de la récolte ([Singh et Bath, 1998](#), [Ojeda de Rodriguez et al., 2004](#)). D'ailleurs, l'acidité du miel contribue à sa saveur, améliore l'activité antioxydante et a une influence contre l'action de micro-organismes ([Cavia et al., 2007](#)).





#### 4.3.1.8. Taux d'HMF

L'hydroxyméthylfurfural est un sucre de dégradation du fructose par l'action des acide (Gomes et al., 2010), naturellement présent dans tous les miels à la récolte à l'état de trace (1 à 3mg/kg) (Fallico et al., 2004 ; Makhloufi et al., 2010). Toutefois, la teneur en hydroxyméthylfurfural est largement reconnu comme un paramètre de fraîcheur de miel (Khalil et al., 2012), elle tend à augmenter au cours du traitement (avec le chauffage) et / ou le vieillissement du produit (Marceau et al., 1994 ; Khalil et al., 2010).

Selon les résultats de cette étude, les niveaux d'HMF varient de 0 à 554.6 mg/ kg (Fig. 45) avec une moyenne de 44.26 mg/ kg  $\pm$  93.702. Ainsi, les données ont révélés que 58 échantillons (87%) avaient des niveaux en dessous de la limites d' HMF acceptable ( $\leq 40$  mg / kg) selon les recommandations du *Codex Alimentarius* (2001) et de la directive du Conseil de l'UE (2002) (Bogdanov et al., 1997; Turhan et al., 2008; Kowalski, 2013 ) (Fig.46), indiquant l'utilisation de la bonne pratiques par les apiculteurs. Six échantillons (9%) ont un taux d' HMF entre 40 et 80 mg / kg.

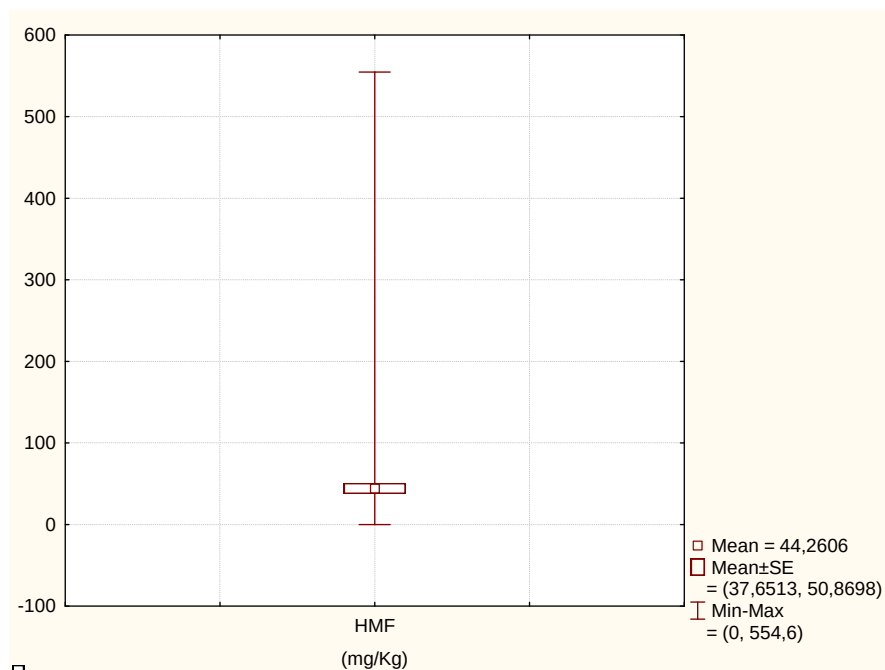
D'après White (1992), des échantillons de miel en provenance de pays subtropicaux peuvent avoir des valeurs naturellement élevées en HMF, indépendamment du fait que le miel était pas surchauffé ou frelaté, due à des températures élevées (Silva et al., 2013).

Les recommandations du *Codex* (2001) fixent un maximum de 80 mg /Kg pour les pays subtropicaux (Fig. 46).

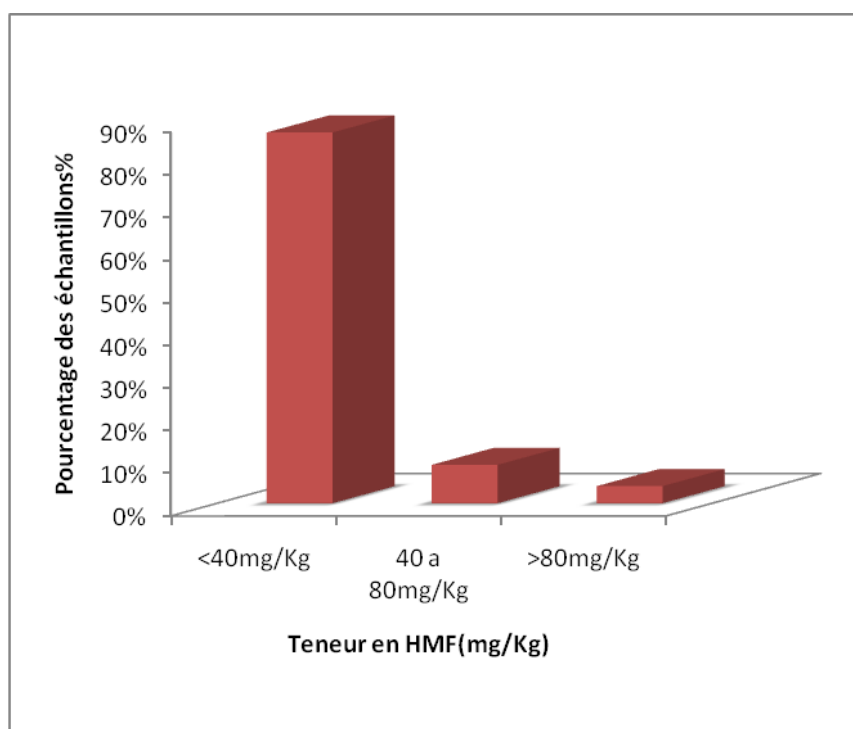
Dans notre pays, sans climatisation, les températures de stockage pendant l'été peuvent atteindre des températures près de 40 ° C (Zerrouk et al., 2011) .

Cependant, trois échantillons (4%) ont été considérés comme de qualité inacceptable avec des valeurs très élevées d' HMF. Ces valeurs se rapportent aux échantillons (M33, M38 et M57).





**Figure45:** Variation de teneur en HMF des miels étudiés



**Figure 46 :** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du *Codex* pour la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF)





Ce résultat peut être expliqué par un traitement inadéquat de ces miels probablement surchauffés (Singh et Bath, 1998; Kubis et Ingr, 1998; Zappalà et al., 2005; Zerrouk et al., 2011) et /ou mauvaises conditions de stockage et que le miel est vieux (Khalil et al., 2010). La valeur la plus élevée a été observé pour l'échantillon M57 originaire de Hammamet, wilaya de Tébessa et des valeurs pareilles pourraient être le résultat probablement d'un chauffage au cours du traitement ou augmentation de la température pendant le stockage ou pendant le transport (Kayacier et Karaman, 2008). En plus, ce résultat peut être aussi expliqué par la teneur en eau élevée de cet échantillon (20%) qui a probablement favorisée la transformation des sucres en HMF (Marceaux et al., 1994).

En outre, il est rapporté que les valeurs d' HMF extrêmement élevées  $> 500$  mg / kg ont démontré une adultération avec du sirop inversé (Coco et al., 1996; Popa et al., 2009; Ajlouni et Sujirapinyokul, 2010), il est aussi indiqué que l'utilisation de sirop de maïs riche en fructose comme édulcorant peut conduire à haute teneur en HMF atteindre 100-1000 mg / kg (Makawi et al., 2009). Ainsi, il y a une très forte possibilité que les miels achetés sur les marchés en plein air sont falsifiés, puisque leurs valeurs en HMF sont supérieures à 100 mg / kg.

Nos travaux ont donné des résultats similaires aux résultats de Bendeddouche et Dahmani (2011); Zerrouk et ses collaborateurs (2013); Ouchemoukh et ses collaborateurs (2007). Jilani et ses collaborateurs (2008) ont rapporté des valeurs d'HMF de miels multif floraux tunisien, qui ont également montré l'influence de la chaleur (HMF se situait entre 3.0 à 39.6 mg / kg). Au Maroc, Chakir et ses collaborateurs (2011) ont obtenu des valeurs d'HMF variant entre 0.09 et 53.38 mg / kg, mais quatre échantillons de miel contenaient une valeur élevée d'HMF qui variait de 90.76 à 783 mg / kg. En effet, le climat algérien chaud peut également être à l'origine de ce phénomène et que les dommages de chaleur similaire ont également été observée dans la valeur moyenne de diastase (Makhloufi et al., 2010).

Cependant, il est essentiel de quantifier cette composante afin de vérifier la qualité du produit (Marchini et al., 2007), parce que l' HMF est un composé qui peut être mutagène (Sommer et al., 2003; Glatt et al., 2005). En outre, il peut également être cancérigène (Kowalski et al., 2013) et cytotoxique (Islam et al., 2014).



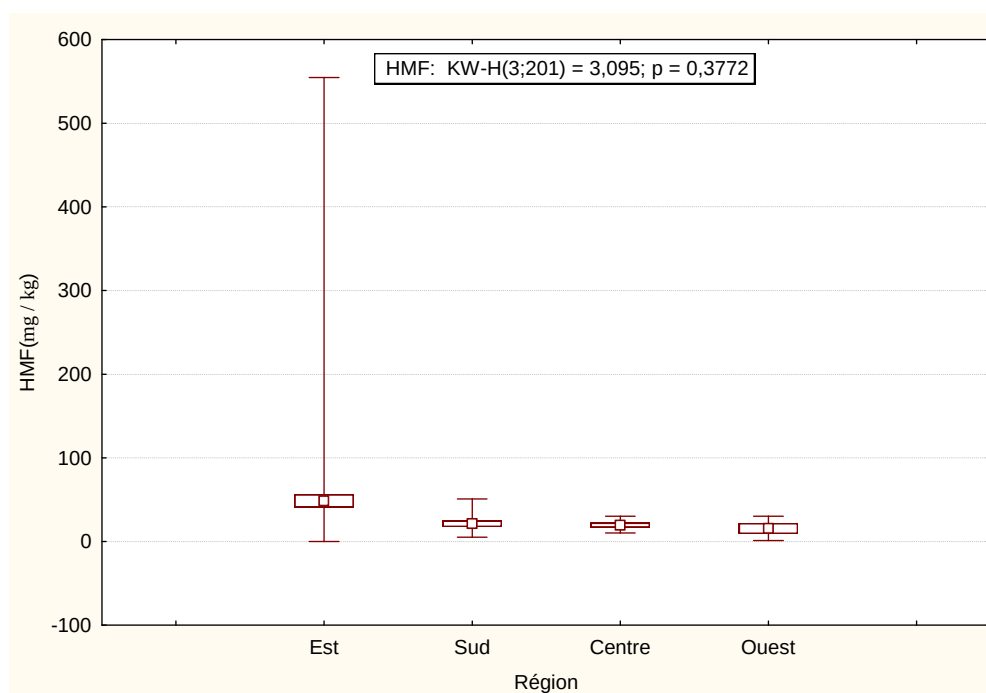




Les HMF font partie des trois paramètres (HMF, activité diastase et invertase) les plus couramment utilisés pour contrôler la fraîcheur du miel. Cette idée sera vérifiée, par la suite, avec la teneur en diastase.

L'étude statistique a révélée qu'il n'existe pas de différence significative ( $p = 0.377$ ) entre les différents échantillons issus de différentes régions Algérienne (Fig.47) et ce résultat confirme la littérature que nous avons consultée et qui n'a mentionnée aucune relation entre la dynamique de formation de ce facteur (HMF) et l'origine géographique.

Par contre, plusieurs autres facteurs ont été rapportés pour influencer les niveaux d' HMF, tels que la température et le temps de chauffage, les conditions de stockage, le pH et la source florale (Fallico et al., 2006 ; Almeida-Muradian et al., 2013).



**Figure47 :** Etude de variation de la teneur en HMF selon les régions Algérienne

Ainsi, d'après Puchler et ses collaborateurs (1984), la teneur en HMF est influencée aussi par certains facteurs notamment le type de sucre (hexose, pentose), sa concentration, la température, la durée de stockage, l'acidité ou valeur de pH et les acides aminés.

Les dommages causés par le chauffage peuvent être mis en évidence par la mesure de paramètres de contrôle de la qualité, tels que l'indice diastasique et l'hydroxymethylfurfural





(HMF) (5-hydroxymethyl- furane-2-carbaldéhyde) contenu (Bodganov et al., 1997). Ces propriétés sont utilisées ensemble que leurs valeurs sont indicatifs de l'intensité de chauffage à laquelle le miel a été soumis (Ramirez et al., 2000).

La teneur en HMF peut augmenter avec l'âge, au cours du stockage, ce qui indique la détérioration de la qualité des produits. Toutes ces modifications affectent la valeur nutritive du produit.

#### **4.3.1.9. Mesure de l'indice diastasique**

Les enzymes dans le miel sont des facteurs intéressants, parce qu'elles sont un moyen possible de distinguer entre les miels naturels ou artificiels (White, 1975; Semkiw et al., 2010). La diastase est une enzyme naturelle de miel, d'ailleurs, c'est un paramètre très utilisé pour déterminer la fraîcheur de miel (Babacan et Rand, 2005).

L'activité de la diastase constitue l'outil de mesure des activités combinées des deux enzymes ( $\alpha$ -amylases et  $\beta$ -amylases) qui ont été sécrétées par les sécrétions salivaires des abeilles (Vit et Pulcini, 1996; Chua et al., 2014). L'activité enzymatique dans le miel dépend de l'intensité de flux de nectar et de la quantité de nectar dans chaque période et de processus d'abeilles (Escuredo et al., 2011).

En outre, l'activité diastasique et la teneur en diastase varie selon la source florale (White et al., 1962). L'activités de la diastase et de l'invertase sont couramment utilisés en Europe comme un indicateur pour la fraîcheur de miel (Manzanares et al., 2011). D'ailleurs, les activités enzymatiques diminuent dans le miel chauffé ou âgé (Nagai et al., 2009) .

Dans cette étude les valeurs d'indice diastasique varient de 0 à 114 °Gothe avec une valeur moyenne de 20.98 unités Schade  $\pm$  15.61 (Fig.48a). D'autres valeurs de l'activité diastasique des miels ont été trouvé et varient de 4 à 40 unités Schade pour des miels multif floraux (Makhloufi et al., 2010), Amri et Ladjamaa (2013) ont trouvé des valeurs de 29.28 à 202.123 unités Schade et des valeurs de 9.89 à 32.79 unités Schade pour des miels de zone steppique , région de Djelfa (Mekious et al., 2015). Des valeurs d'activité diastasique ont été enregistré pour des miels tunisien avec une moyenne de 17.6, variant de 3.0 et 39.6Unité de Schade. Chakir et ses collaborateurs (2011) ont trouvé également des valeurs d'activité diastasique entre 4.3 and 24.6 Unité de Schade pour des miels Marocains.





Les enzymes sont des molécules très sensibles à la chaleur et au vieillissement. Une activité amylasique plus grande que 8, cas de 82% des échantillons analysés (Fig.49), nous permet de vérifier que le miel est frais, qu'il a été stocké dans de bonnes conditions et/ou qu'il n'a pas été trop réchauffé pour d'éventuels transvasages.

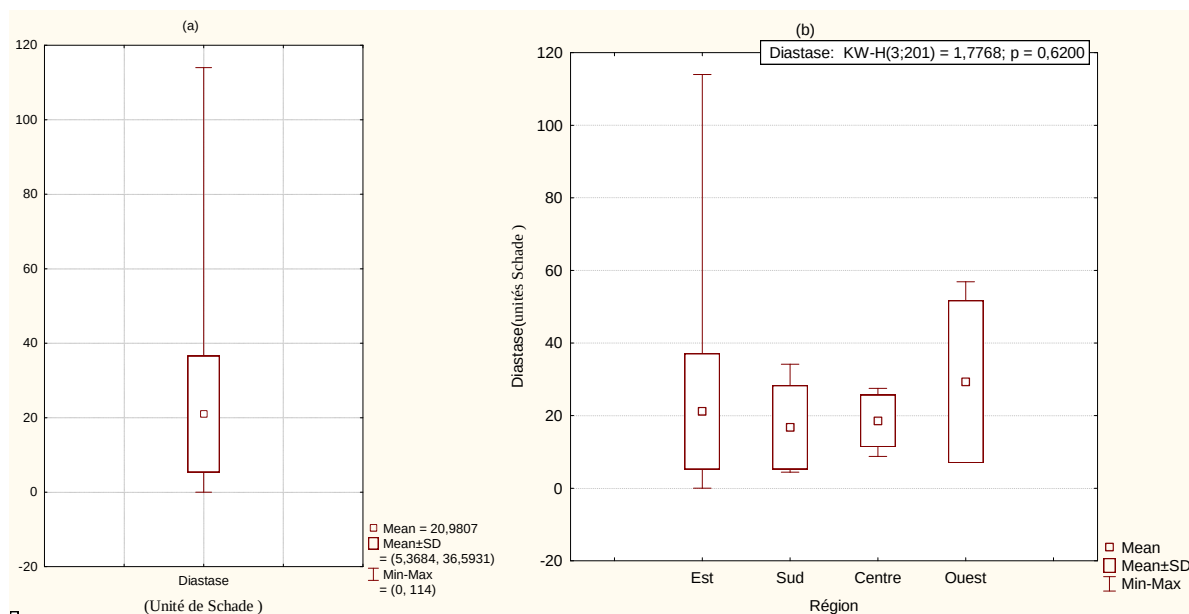
Par contre, douze échantillons (M12, M28, M33, M40, M43, M50, M54, M70, M71, M81, M84 et M86) ont montré des valeurs inférieures à la valeur minimale (8 sur l'échelle Gothe).

Le résultat peut être dû soit à un surchauffe par l'apiculteur, ou pour les faibles niveaux naturels d'amylase dans l'échantillon (Persano-Oddo *et al.*, 1990), car il y a de larges variation en fonction de l'origine botanique du miel et donc, ont une fraîcheur limitée; HMF est considéré comme meilleur critère de qualité à cet égard (Buba *et al.*, 2013). Par contre, la variabilité en fonction de l'origine botanique et géographique n'a pas été confirmée par l'étude statistique car nous avons observé qu'il n'existe pas des différences significatives ( $p = 0.620$ ) entre les différents type de miel originaire de quatre région de l'Algérie.

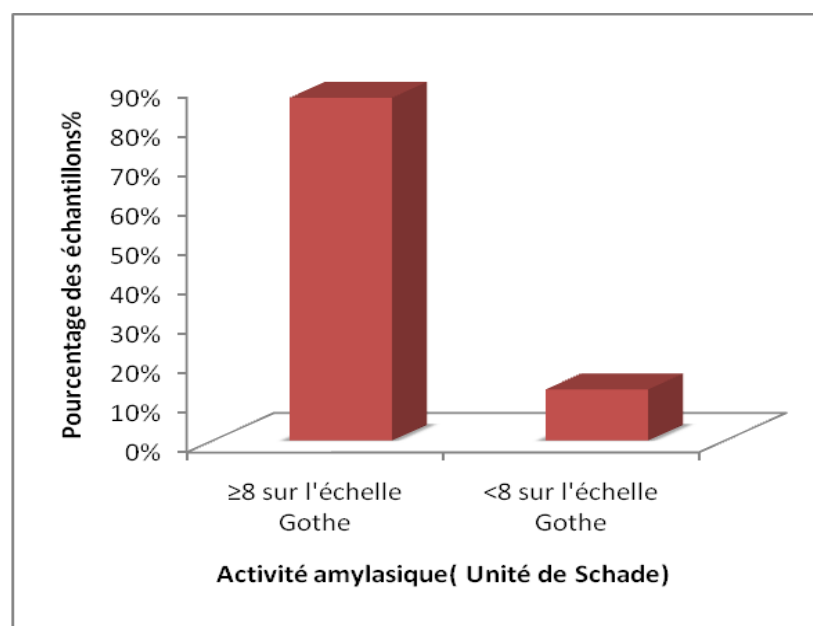
En outre, les deux facteurs HMF et indice diastasique sont les paramètres internationaux reconnus pour contrôler la limite pour le traitement thermique au miel (Chua et Adnan, 2014), c'est-à-dire l'activité de la diastase et la teneur en hydroxyméthylfurfural sont largement reconnus comme des paramètres indiquant la fraîcheur et / ou surchauffe de miel (Khalil *et al.*, 2010).

Les faibles valeurs en diastase et les teneurs élevées en HMF obtenus pour les échantillons M18, M48 et M57 confirme qu'il existe une relation intime entre les deux paramètres et indiquent que ces miels peuvent être surchauffé.





**Figure 48 :** (a) Variation de l'activité diastasique des miels étudiés, (b) Variation en fonction de quatre régions



**Figure 49:** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du *Codex* pour l'activité diastasique





Cependant, les enzymes peuvent survenir à partir du nectar, ou être ajouté par l'abeille à partir des glandes salivaires et hypopharyngiennes des abeilles butineuses. En outre, ils peuvent être ajoutés par les abeilles, alors que le nectar est passé de l'abeille à abeille avant d'être stocké dans les cellules de la ruche. Certaines activités enzymatiques pourraient également être retracée à la teneur en pollen, et certains pourraient provenir de micro-organismes présents dans le nectar ou du miel (White, 1956 ; Persano Oddo *et al.*, 1999; Babacan *et al.*, 2002; Bogdanov *et al.*, 2004).

#### **4.3.1.10. Dosage des protéines**

Les substances azotées ne représentent qu'une partie infime du miel car il s'agit d'acides aminés libres et de protéines qui peuvent être présentes dans le nectar et peuvent également être issues des sécrétions des abeilles et/ou originaire des grains de pollen; constituants normaux du miel (Louveaux, 1985).

Le dosage des protéines de miel est un caractère qui ne figure pas les normes internationales. Cependant, leur richesse donne une valeur nutritionnelle aux miels. La quantification des protéines de chaque variété de miel a été réalisée à partir d'une courbe de référence présentée par la figure 22.

L'observation de la figure 50 montre que nos miels présentent une teneur en protéines comprise entre 0.107% et 1.279% avec une moyenne de  $0.786 \% \pm 0.24$ .

La commission de contrôle de la qualité et d'expertise de l'union européenne a exigé un intervalle pour l'autorisation à la mise en marché d'un miel. Cet intervalle est limité entre 0.26 et 0.83% de protéines (Codex Alimentarius, 2001).

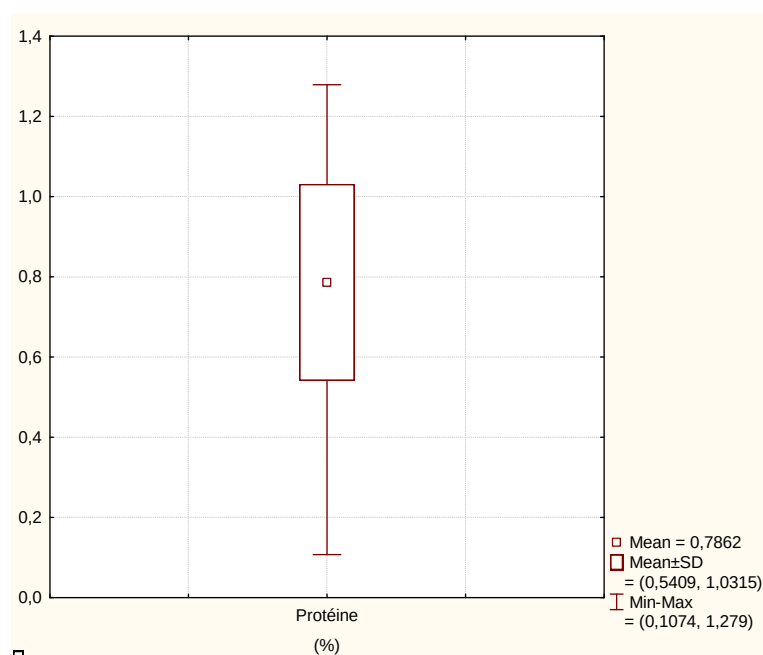
Toutefois, White (1962) et Gonnet (1982) signalent qu'un miel convenablement récolté est généralement pauvre en protéine ou protide, qui représente les matières organiques azotées provenant soit de la plante, soit des sécrétions d'abeille. Cependant, les protides sont présents en faible quantité (1.7g/kg de miel), soit une teneur de 0.26%, la teneur en azote étant négligeable, de l'ordre de 0.041% (Huchet *et al.*, 1996).





En effet, on se basant sur les données de la grille, sus mentionnée, nous pouvons dire que 43% des échantillons sont hors normes et sont très riche en protéines. Tandis que le reste soit en accord avec cette norme.

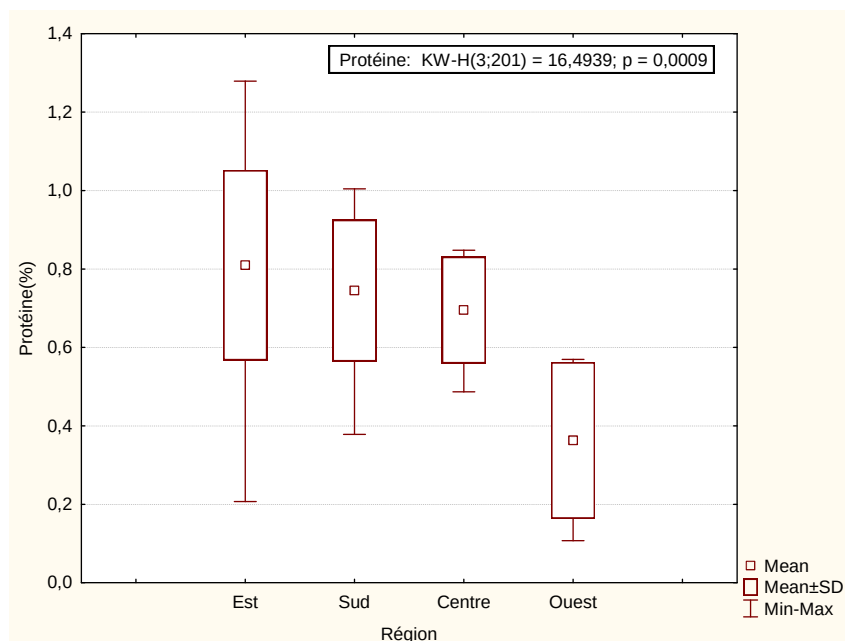
La majorité des échantillons présentant un taux élevé de protéine, sont le plus souvent récolté d'une zone très riche en plantes pollénifères, en zone riche en plantes spontanées et/ ou installé près d'une forêt de chêne liège et une forêt d'Eucalyptus. C'est l'exemple de l'échantillon M4, M5, M6, M7, M8, M10, M12, M13, M33....etc. L'étude statistique a révélée qu'il existe des différences très hautement significatives entre les différents échantillons issus de quatre régions (Fig.51).



**Figure 50 :** Variation de la teneur en protéine des miels étudiés

Cependant, selon [Someville \(2001\)](#), la variation des teneurs en protéine est due à la richesse de miel en pollen (nombre et type de grains de pollen) et aussi selon le type de ruche et le mode d'extraction.





**Figure 51 :** Etude de variation de la teneur en protéine selon les régions Algérienne

Ainsi, la forte concentration en protéines dans les miels supposés hors normes est la raison de la richesse en pollen, est donc probablement expliquée selon [Gonnet \(1985\)](#), que lors d'une extraction manuelle par pression des gâteaux de cire, quelques larves d'abeilles ainsi que des pollens sont très souvent écrasés. En plus, cette teneur en protéines dans les miels peut être attribuée à la présence d'enzymes, dont certaines sont introduites par les abeilles elles-mêmes.

### 3 .1.11. Dosage du Saccharose

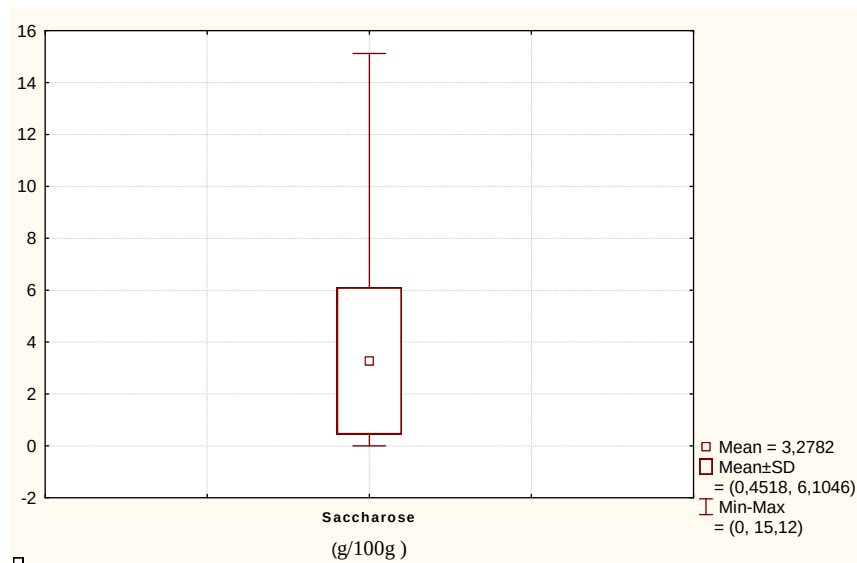
Le miel est principalement composé d'un monosaccharide le glucose et le fructose ([Feás et al., 2010](#)) et du saccharose. Dans la plupart des miels, ce dernier se situe au dessous de 5% ([Codex Alimentarius, 2001](#)). Dans le miel de miellat et/ ou mélange entre nectar et miellat ou miel d'acacias, de lavande et de *Bankia Menziesii* pas plus 10%.

La teneur en saccharose des échantillons de miel analysés dans cette étude varie entre 0 et 15.12g/ 100g avec une valeur moyenne de 3.27 g/100g  $\pm$  2.82 (Fig. 52). En effet, [Yaiche Achour et Khali \(2014\)](#) ont trouvé également des valeurs allant de 2.80 à 16.91% avec une valeur moyenne de 6.62%. [Chakir et ses collaborateurs](#) ont trouvés des valeurs plus inférieures pour des miels du Maroc avec une marge de 0.42–2.98% et des valeurs de 0 .02–12 % pour des





miels de l'Espagne (Mateo et Bosch-Reig, 1998). Tandis que White (1975) a obtenu des valeurs de saccharose pour des miels d'Etats Unis variant de 0.2-7.6%.



**Figure 52:** Variation de saccharose des miels étudiés

L'étude statistique a révélée qu'il n'existe pas de différence significative ( $p = 0.447$ ) entre les différents échantillons originaire de quatre coins de l'Algérie (Fig.53).

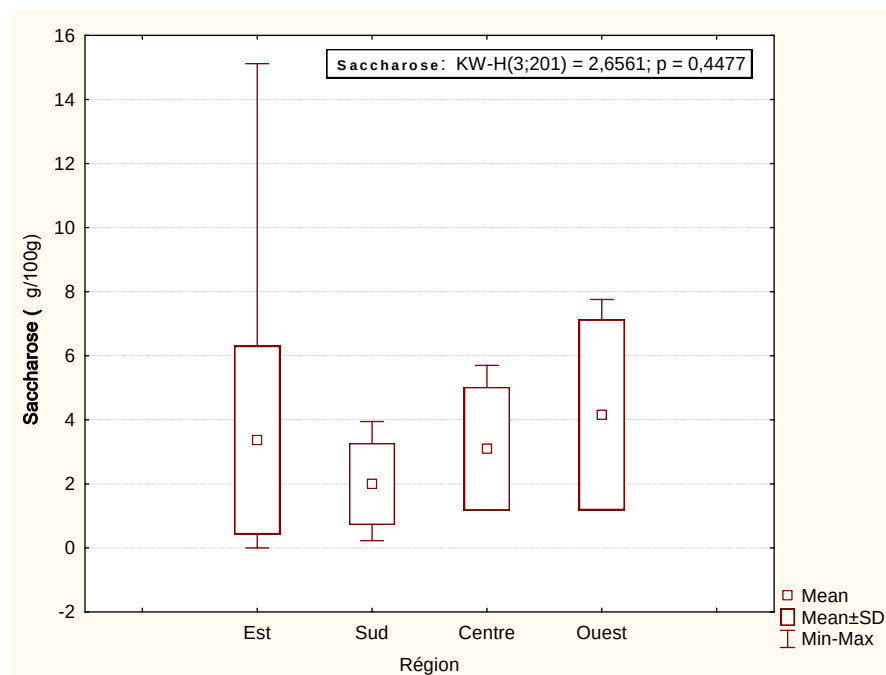
Dans quelques bibliographie, des auteurs ont mentionnés que les enzymes présentent dans le miel peuvent causer des changements dans les proportions des sucres originaux et le saccharose peut disparaître complètement sous l'effet de stockage (Jimoh et Umami, 2014).

Cependant 18 % des échantillons ne sont pas en conformité avec la norme internationale ( $\leq 5$  g / 100 g) (Fig.54). En effet, une teneur élevée en sucre signifie la plupart du temps, un début de la récolte du miel, qui est un produit dans lequel le saccharose n'a pas été entièrement transformé en glucose et en fructose sous l'action de l'invertase.

Aussi, les taux de saccharose élevé, proviennent probablement d'un apport de nourriture inadéquat, valeur indique probablement que l'apiculteur a utilisé du sirop de saccharose comme nourrissage des abeilles dans la saison d'hiver (Chefrour et al., 2009), ou du reste de nourriture d'hivernage non consommée au printemps .





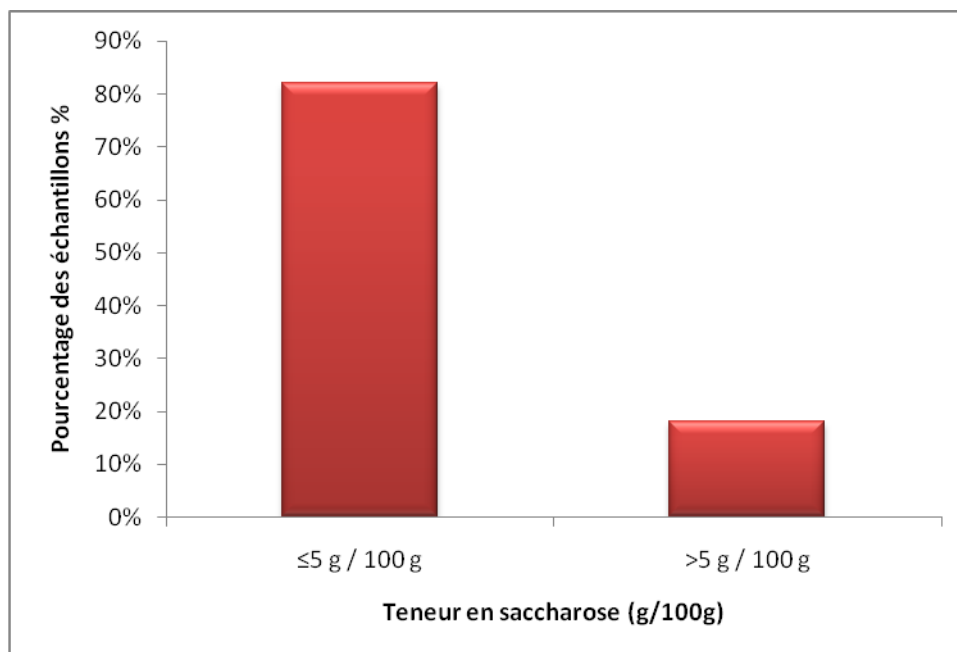


**Figure 53 :** Etude de variation de la teneur en saccharose selon les régions Algérienne

Pour le miel M4 nous avons constaté un excès en saccharose probablement due à la présence d'un reboisement d'Eucalyptus, essence connue par l'abondance de sécrétion du nectar qui est naturellement riche en disaccharides (Chefrou, 2007), près des ruches c'est à dire dans la région de butinage. Dans le cas où l'Eucalyptus est dominant, les règlements tolèrent un taux de 10% (Codex Alimentarius, 2001).

Molan (1996) indique qu'un miel ayant un taux élevé de saccharose et d'HMF est un bon révélateur de la dégradation de plusieurs substances naturelles dans le miel utiles pour la santé de l'être humain telles que, les vitamines, les enzymes, les acides organiques et les substances aromatiques.





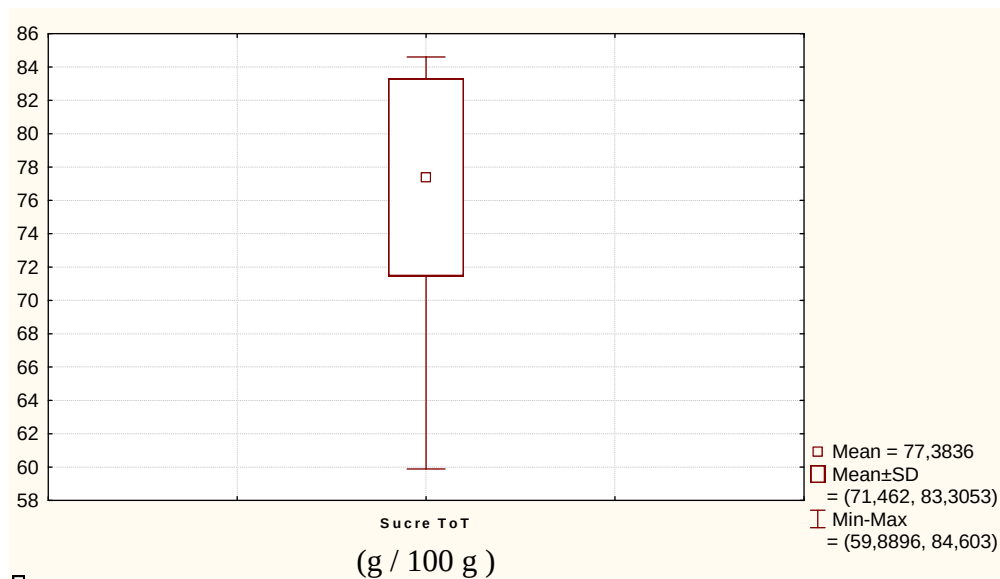
**Figure 54 :** Distribution des échantillons étudiés selon les normes du Codex pour le saccharose

#### 4.3.1.12. Dosage de sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a montré des valeurs entre 77.38 à 84.60 g / 100 g avec une moyenne de 77.38 g / 100 g  $\pm$  5.92 (Fig.55), qui est en accord avec les normes proposées par la directive européenne 2001/110, qui devrait être plus de 60% pour les miels de fleurs et au moins 45% pour le miel de miellat.

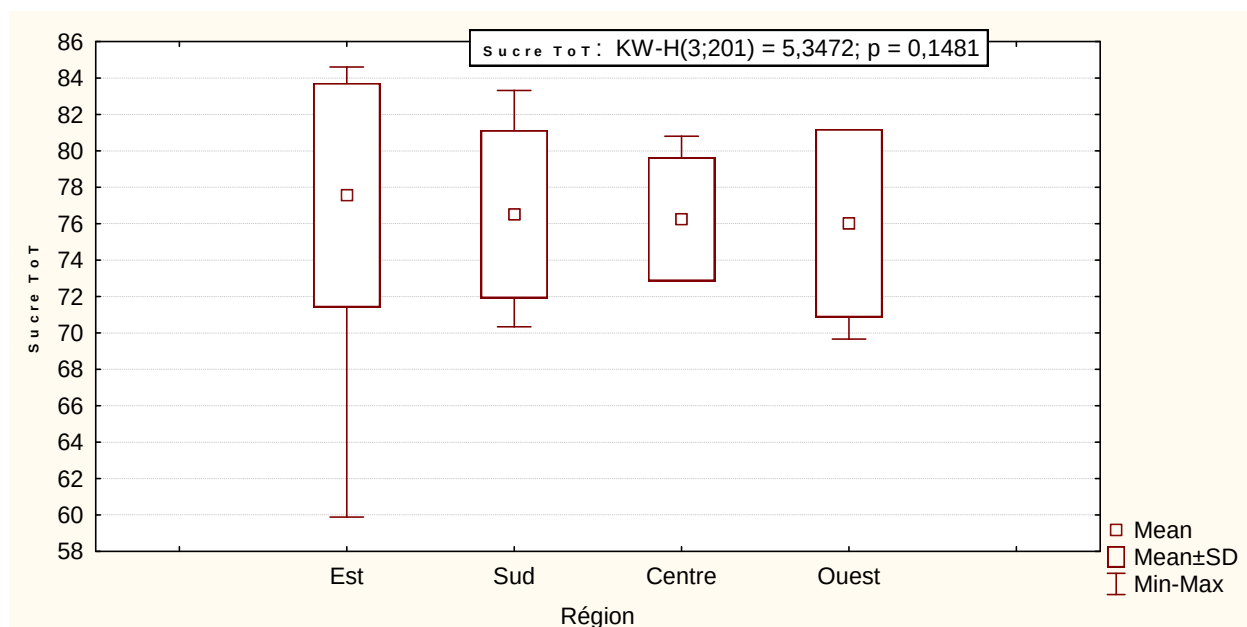
Des résultats similaires ont été rapportés par [Khalil et ses collaborateurs \(2012\)](#) pour des miels Algériens, [Nayik et Nanda \(2015\)](#) ont aussi trouvés des résultats similaires avec une moyenne de 72.81 g / 100 g  $\pm$  2.97 pour des miels Indien et [Pires et ses collaborateurs\(2009\)](#); [Gomes et ses collaborateurs \(2010\)](#) pour des miels portugais. [Shahnawaz et ses collaborateurs \(2013\)](#) ont reportés de trouver des teneurs en sucre totaux entre 79.1 et 73.06% pour différents variétés de miels de Gilgit-Baltistan.





**Figure 55 :** Variation de sucres totaux des miels étudiés

Les études statistiques n'ont pas révélé des significations de variation de la teneur en sucres totaux entre les différentes régions d'étude avec ( $p = 0.148$ ) (Fig.56). On pourrait alors penser que les substances butinées et transformées en miel par les abeilles contiennent à peu près toujours le même taux de sucre, quelque soit l'origine florale.



**Figure 56 :** Etude de variation de sucres totaux selon les régions Algérienne





#### **4.4 Résultats de la méliissopalynologie**

Le résultat de cette analyse a été effectué selon les consignes et sous la direction de Professeur Chefrour qui a contribué à l'identification de pollen.

##### **4.4.1. Analyse quantitative**

La richesse en grain de pollen, pour chaque échantillon de miel, est mesurée via l'analyse qualitative et ainsi exprimée en nombre absolu de grains de pollen par 10g de miel.

Dans cette étude nous avons observé que les miels analysés sont riches en pollen et donc présence d'une variabilité bien constatée. Nous pouvons constater d'après le tableau 07 que le nombre de grain de pollen varie entre 22000 grains de pollen dans 10g de miel (M5) originaire de Ain Barda, wilaya d'Annaba et 13600000 grains de pollen dans 10g de miel (M28) originaire de Souk Ahras.

En effet, cette variation peu être la conséquence de divers facteurs tels que le la diversité et la différence au niveau du couvert végétal, la variation du climat entre les zones Algérienne car la région de Ain Barda (wilaya de Annaba) est caractérisée par un climat humide, par contre la wilaya de Souk Ahras (région semi-aride) est reconnue par sont climat humide doux, sachant que le climat conditionne les sécrétions mellifère et pollinifères.

D'après la figure (57), nous pouvons observer la présentation de l'analyse quantitative selon la classification de [Maurizio \(1968\)](#). Cette dernière est de l'ordre croissant de richesse en grain et est de l'ordre de I à V. En effet, [Battesti \(1990\)](#) a proposé des limites et des sub-divisions.

- Classe I:  $PG/10g < 20\ 000$  grains; ne regroupe aucun échantillon. Ce résultat n'est pas en concordance au resultants de [Makhloufi et ses collaborateurs \(2010\)](#) qui ont trouvé que 33. 3% des échantillons de miels étaient pauvres en grains de pollen.
- Classe II:  $20\ 000 < PG/10g < 100\ 000$  grains avec les sub-divisions suivantes: 40 000, 60 000 et 80 000. Cette dernière regroupe 10 échantillons sur les 67 analysés avec un pourcentage de 15% des miels analysés. Parmi ces miels nous pouvons citer M1, M6, M8, M10, M11, M12, M17, M21, M43 et M63. Ainsi nous pouvons dire que cette classe





ne regroupe que des miels du Nord Algériens caractérisé par un climat humide et sub- humide doux favorisant généralement le développement des plantes nectarifères.

- Classe III:  $100\,000 < \text{PG}/10\text{g} < 500\,000$  grains, avec les sub-divisions suivantes : 200 000, 300 000, 400 000. En effet, c'est la classe majeure qui regroupe presque la moitié des échantillons d'étude à raison de 46%. Elle regroupe les miels issus de quatre coins de l'Algérie, Est (M2, M55, M53, M42, M40, M39, M34, M16, M9, M56, M32, M47, M44, M31, M23, M5, M4, M52, M51, M49, M35 et M29), Ouest (M66, M67), Centre (M65) et Sud (M58, M59, M60, M61 et M62). En revanche, les résultats obtenus sont similaires à ceux de [Chefrou \(2007\)](#) qui a trouvé que le tiers (1/3) des miels étudiés (62 échantillons) appartient à la classe III. [Makhloufi et ses collaborateurs \(2010\)](#) ont aussi trouvés que 22.7% des 66 échantillons d'étude appartenaient à la classe III.
- Neuf échantillons représentant 14% des échantillons appartiennent à la classe IV ( $500\,000 < \text{PG}/10\text{g} < 1$  million de grains, avec les sub-divisions suivantes : 625 000, 750 000, 875 000). Or, nous avons constaté que l'ensemble de ces échantillons sont originaire de la wilaya de Souk Ahras. Cette dernière qui est composée pratiquement de 2 zones climatiques (une zone montagneuse à climat humide au Nord et une zone semi aride) favorisant la diversification du cortège floristique et par conséquent influence la richesse des miels en pollen. Toutefois, il faut dire que non seulement le climat et le couvert végétal conditionne la richesse en grain de pollen mais également le mode d'extraction. En effet, nous avons constaté après l'entretien avec la majorité des apiculteurs que l'extraction était mécanique, extracteur mécanique, mais les apiculteurs ne pratiquent pas la filtration avant le conditionnement de leurs produit.
- Classe V:  $\text{PG}/10\text{g} > 1$  million de grains, avec les sub-divisions suivantes : 1.25 M., 1.5 M. et 1.75 M. Cette dernière est caractérisée par le nombre très élevé en grain de pollen. Ce résultat indique que 25% des échantillons





sont très riche en grains de pollen. Cette richesse est liée à la colonie d'abeille dans son milieu naturel (type de plante, force de la colonie, etc...) et aussi aux conditions d'exploitation et de la récolte du miel par les apiculteurs. Toutefois, trois échantillons M3, M7 et M15 (catégorie des miel appartenant a un groupe hors classement) originaires d' El Bouni, Wilaya de Annaba, Mjaz Safaa, Wilaya de Guelma et Ain Assal, Wilaya de Taref respectivement ont subit des transhumances. Ceci est expliqué par l'augmentation du nombre de pollen visitées et la présence des espèces purement pollinifère. En outre, trois échantillons originaires de région Souk Ahras et Taref ; leurs richesse est probablement liée au mode d'extraction traditionnel et sans filtration du miel. Concernant le reste des échantillons, leurs richesse est due a la présence des taxons pollinifères comme : *l'Eucalyptus*, *Echium*, *Apiaceae*, *etc....*. Autrement dit, la richesse en pollen dépend de l'origine botanique si les apiculteurs ont respectés la collecte uniquement des cadres de la hausse et non pas des cadres réserve (cadre à pollen). Ainsi, les phénomènes de contaminations secondaires comme l'inclusion de grains lors de l'échantillonnage du miel à l'intérieur de la ruche et de contamination tertiaire par inclusion au moment de l'extraction à partir des cadres à pollen avec ceux du miel (Vorwohl, 1973 ; Chefrour, 2007) peuvent aussi être la cause.

Généralement, nous pouvons dire que la distribution des miels est normalement dans la gamme préconisée pour les miels méditerranéens (Persano-oddo et Piro, 2004 ; Makhloufi et al., 2010).





#### **4.4.2. Analyse des spectres polliniques**

##### **4.4.2.1 Taxons présents dans les miels d'étude.**

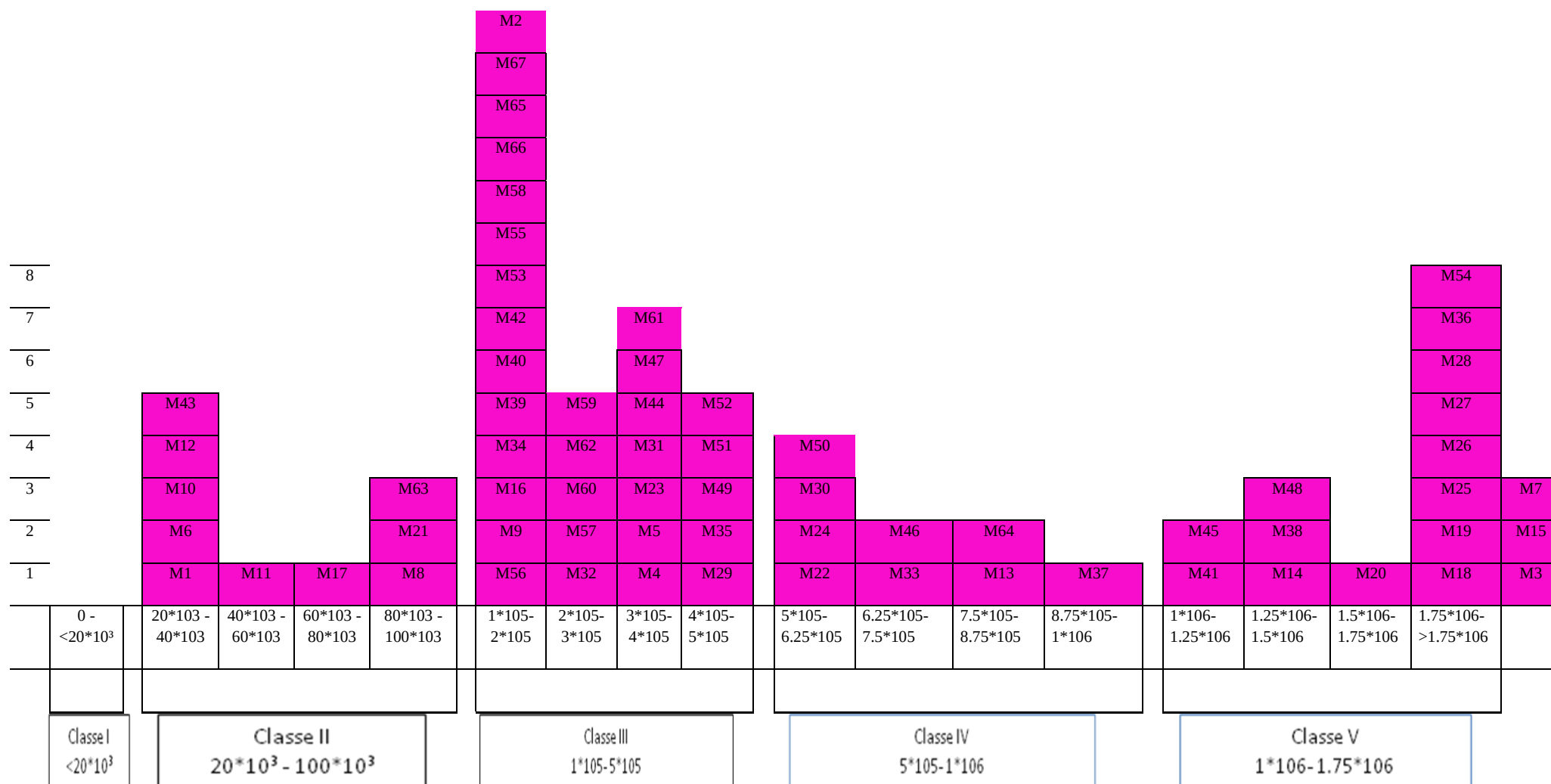
Dans cette étude nous avons pu identifiés un nombre total des taxons égal à 367 taxons + NI inventoriés dans les miels de zones d'étude, appartenant à 59 familles botaniques (Annexe 8).

Ce résultat a révélé que le nombre de taxons visité par les abeilles selon les types de pollen trouvés est limité entre 4 pour l'échantillon (M12) et 60 types polliniques pour l'échantillon (M19).

Ainsi nous avons essayé de préciser et donner le niveau systématique de détermination (espèce, genre, famille) pour chacun des taxons et aussi pour les formes indéterminées, leur pourcentage dans chaque spectre.

Par conséquent, la difficulté d'identification des formes indéterminées est due au faite à l'éclatement des grains de pollen ; de l'altération et l'avortement de ces grains avant leur arrivée en maturité totale à cause des conditions exogènes (climatiques) ou endogènes; Variabilité de la topologie qui a une influence sur la composition du cortège floristique (Chefrour, 2007).





**Figure 57:** Présentation de l'analyse quantitative selon la classification de [Maurizio \(1968\)](#) et [Battesti \(1990\)](#)







#### 4.4.2.2 Classement des taxons en fonction de leur présence par rapport à la totalité des échantillons étudiés.

Nous avons pu trier les taxons en 4 classes selon la fréquence relative (Tab.10):

- Classe 1 : Regroupe les taxons très fréquents présent dans plus de 50% des échantillons, or nous avons constaté la présence d'un seul et unique taxon (*Eucalyptus sp*) avec une fréquence de 58.21%des échantillons étudiés. Ce résultat est semblable à celui de [Chefrour \(2007\)](#) qui a travaillé sur 62 échantillons et trouva que l'*Eucalyptus sp* domine avec une fréquence relative de 75.8%, [Makhloufi et ses collaborateur \(2010\)](#) ont trouvé également une dominance de 77% pour l'espèce *Eucalyptus* et [Nair \(2014\)](#) qui, elle aussi, a trouvé des fréquences pour l'*Eucalyptus sp* 88.24%. Par conséquent, ce résultat révèle l'importance de cette plante nectarifère et également pollenifère, omniprésente dans le territoire Algérien et répartie du littoral jusqu'aux zones aride.
- Classe 2 : regroupe les 13taxons fréquents présents dans 20 à 50% des échantillons (Tab.9) Ces derniers appartiennent à 8 familles (les *Brassicaceae* par 3 taxons, les *Apiaceae* par 2taxons, les *Asteraceae* par 2taxons, les *Rosaceae* par 2 taxons. Par contre les *Cupressaceae*, les *Globulariaceae*, les *Lamiaceae* et les *Rubiaceae* par un seul taxon pour chacune.
- Classe3 : regroupe 49taxons peu fréquents présents dans 10 à 20% des échantillons et qui appartiennent à 23 familles botaniques dont on peut citer la famille des *Mimosaceae*, *Alliaceae*, *Apiaceae*, *Asparagoïdeae*, *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Brassicaceae*, *Campanulaceae*, *Cistaceae*, *Cucurbitaceae*, *Cupressaceae*, *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Fagaceae*, *Iridaceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Orchidaceae*, *Papilionaceae*, *Primulaceae*, *Rosaceae*, *Terebenthaceae* et la famille des *Zygophyllaceae*.

En effet , les taxons peu fréquents comportent les formes suivantes : *Zizyphus lotus* (10.45%) ; Type *Acacia*(16.42) ; *Thymus sp*(11.94%) ; *Thapsia garganica*(13.44%) ; *Spiranthes* (type *Orchidaceae*)(16.42%) ; *Sisyrinchium sp*(10.45%) ; *Rubus ulmifolius*(19.40%) ; *Rosmarinus officinalis*(10.45%) ; *Quercus suber*(14.93%) ; *Pyrus syriaca*(10.45%) ; *Pyrus communis*(13.43%) ;





*Pyrus sp* (10.45%) ; *Ptychotis sp*(11.94%) ; *Prunus prostrata* (13.43%) ; *Primula sp* (*acaulis*) (10.45%) ; *Primula sp* (*nivalis*) (10.45%) ; *Potentilla sp* ; *Pistacia lentiscus*(11.94%) ; *Pedicularis sp*(13.43%) ; *Onopordon sp*(16.42%) ; non identifiés (14.93%) ; *Myosotis sp*(10.45%) ; *Marrubium vulgare*(10.45%) ; *Malus sp*(17.91%) ; *Luffa sp*(14.93%) ; *Lotus sp*(11.94%) ; *Lamium sp*(17.91%) ; *Hippocrepis sp*(13.43%) ; *Gladiolus segetum* (16.42%) ; *Daucus sp*(11.94%) ; *Dorycnium sp*(10.45%) ; *Echium sp*(11.94%) ; *Echium vulgare*(19.40%) ; *Erica arborea*(10.45%) ; *Cupressus sempervirens*(10.45%) ; *Cotula corniphila* (*Asteraceae*) (11,94%) ; *Cistus sp*(11.94%) ; *Cichorium intybus*(13.43%) ; *Chrysanthemum*(17.91%) ; *Carduus sp*(10.45%) ; *Campanula dichotoma*(19.4%) ; *Cachrys sp*(14.93%) ; *Astragalus sp*(11.94%) ; *Asparagus sp*(14.93%) ; *Asphodelus microcarpus*(10.45%) ; *Asphodelus sp*(11.94%) ; *Apium nodiflorum*(16.42%) ; *Antirrhinum sp*(11.94%) et *Allium sp*(11.94%).

- Classe4 : regroupe 303 taxons rares présents dans moins de 10% des échantillons (Tab.9)

Ces taxons appartiennent à 52 familles botaniques comme *l'Ulmaceae*, *Vitaceae* ,*Zygophyllaceae*, *Liliaceae*, *Terebenthaceae*, *Juglandaceae* , *Tamaricaceae* , *Scrophulariaceae*, *Salicaceae* ,*Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Loranthaceae* ; *Lythraceae*, *Malvaceae*, *Mimosaceae*, *Moraceae*, *Myrtaceae*, *Oxalidaceae*, *Palmaceae*, *Papaveraceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae*, *Fagaceae*, *Gentianaceae*, *Iridaceae*, *Labiées*, *Boraginaceae*, *Brassicaceae*, *Cactaceae*, *Campanulaceae*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cistaceae*, *Convolvulaceae*, *Cucurbitaceae*, *Ericaceae*, *Euphorbiaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae* ,*Alismaceae* ,...etc

Dans notre étude nous avons constaté que la famille la plus représentée dans les miels analysés est celle des *Fabaceae* avec 53 taxons botaniques, suivis par les *Asteraceae* avec un nombre de 52 taxons (Fig.58).

La troisième position est occupée par les *Rosaceae* comportant 35 taxons et les *Brassicaceae* 31taxons.

Tandis que la famille des *Apiaceae* est représentée par 27 taxons mellifères, les *Lamiaceae* 21, les *Boraginaceae* 19 taxons et les *Scrophulariaceaea* avec un nombre de 11taxons. En outre, le reste des familles est présent avec peu des taxons.





**Tableau 9 :** Nombre des espèces présentes et leurs fréquences relatives dans n échantillons de miels.

| Taxons                          | Nombre des échantillons | Fréquence relative |       |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------|-------|
| <i>Acacia horrida</i>           | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Acacia sp</i>                | 2                       | 2.99               | **    |
| <i>Adonis annua</i>             | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Adonis sp</i>                | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Ajuga iva</i>                | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Ajuga reptans</i>            | 2                       | 2.99               | **    |
| <i>Alisma plantago aquatica</i> | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Allium roseum</i>            | 4                       | 5.97               | ****  |
| <i>Allium sp</i>                | 8                       | 11.94              | ***** |
| <i>Allysum sp</i>               | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Ammi sp</i>                  | 4                       | 5.97               | ****  |
| <i>Ammi sp (majus)</i>          | 2                       | 2.99               | **    |
| <i>Ammiopsis (aristidis)</i>    | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Anchusa sp</i>               | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Anchusa undulata</i>         | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Anethum graveolens</i>       | 4                       | 5.97               | ****  |
| <i>Anethum sp</i>               | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Anthyllis lothoides</i>      | 3                       | 4.48               | ***   |
| <i>Anthyllis sp</i>             | 6                       | 8.96               | ***** |
| <i>Antirrhinum majus</i>        | 1                       | 1.49               | *     |
| <i>Antirrhinum sp</i>           | 8                       | 11.94              | ***** |





|                                                  |    |       |       |
|--------------------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Apium napifolia</i>                           | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Apium nilotica sp</i>                         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Apium nodiflorum</i>                          | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Apium sp</i>                                  | 15 | 22.39 | ***** |
| <i>Arbutus unedo</i>                             | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Artemisia absinthium</i>                      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Artemisia herba alba</i>                      | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Asparagus sp</i>                              | 10 | 14.93 | ***** |
| <i>Asphodelus microcarpus</i>                    | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Asphodelus sp</i>                             | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Asque</i>                                     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Asteraceae type fenestré</i>                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Astragalus sp</i>                             | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Atractylis carduus</i><br>( <i>Xanthium</i> ) | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Bellis sp</i>                                 | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Blackstonia perfoliata</i>                    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Borago officinalis</i>                        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Brassica napus</i>                            | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Brassica sp</i>                               | 16 | 23.88 | ***** |
| <i>Bupleurum foliosum</i>                        | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Bupleurum sp</i><br>( <i>Apiaceae</i> )       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Cachrys (Apiaceae)</i>                        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cachrys sicula sp</i>                         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Cachrys sp</i>                                | 10 | 14.93 | ***** |





|                                              |    |       |       |
|----------------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Calendula arvensis</i>                    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Campanula dichotoma</i>                   | 13 | 19.40 | ***** |
| <i>Campanula sp</i>                          | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Capsella bursa pastoris</i>               | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Carduus sp</i>                            | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Carthamus sp</i>                          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Celsia</i><br>( <i>scrophulariaceae</i> ) | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Celsia cretica</i>                        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Centaurea erythrea</i>                    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Centaurea sp</i>                          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Centaureum sp</i>                         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Centaureum umbellatum</i>                 | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cerinthe major</i>                        | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Cerinthe sp</i>                           | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Chamaerops humulis</i>                    | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Chrysanthemum</i>                         | 12 | 17.91 | ***** |
| <i>Cicer sp</i>                              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cichorium intybus</i>                     | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Cirsium sp</i>                            | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Cistus menspeliensis</i>                  | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Cistus sp</i>                             | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Citrus sinensis Osbeck</i>                | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Citrusus sp</i>                           | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Clematis vitalba</i>                      | 2  | 2.99  | **    |





|                                           |    |       |       |
|-------------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Convolvulus arvensis</i>               | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Convolvulus sp</i>                     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Coronilla sp</i>                       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Cotula corniphila</i><br>(Asteraceae)  | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Crataegus monogyna</i>                 | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Crataegus sp</i>                       | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Crepis sp</i>                          | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Crotalaria sp</i>                      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cucumis sp</i>                         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cucurbita sp</i>                       | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Cupressus sempervirens</i>             | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Cichorium intybus</i>                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cydonia vulgaris</i>                   | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Cynara sp</i>                          | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Cynoglossum</i><br><i>cheirifolium</i> | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cynoglossum creticum</i>               | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Cynoglossum sp</i>                     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Cyperus laevigatus</i>                 | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Cytisus multiflorus</i>                | 2  | 2.99  | *     |
| <i>Daucus</i> (Apiaceae)                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Daucus carota</i>                      | 24 | 35.82 | ***** |
| <i>Daucus sp</i>                          | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Diplotaxis</i><br>(Brassicaceae)       | 4  | 5.97  | ****  |





|                                 |    |       |       |
|---------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Diplotaxis erucoïdes</i>     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Dorycnium hirsutum</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Dorycnium sp</i>             | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Ecbalium elaterium</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Echinops spinosus</i>        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Echium sp</i>                | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Echium plantagineum</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Echium australés</i>         | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Echium vulgare</i>           | 13 | 19.40 | ***** |
| <i>Erica arborea</i>            | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Erica scoparia</i>           | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Erica sp</i>                 | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Eryngium sp</i>              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Eucalyptus globulus</i>      | 24 | 35.82 | ***** |
| <i>Eucalyptus sp</i>            | 39 | 58.21 | ***** |
| <i>Eupatorium sp</i>            | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Euphorbia sp</i>             | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Ferula sp</i>                | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Filipendula vulgaris</i>     | 16 | 23.88 | ***** |
| <i>Galactites sp</i>            | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Galactites tomentosa</i>     | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Genista sp</i>               | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Gentiana sp</i>              | 1  | 1.49  | *     |





|                                                                               |    |       |       |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Gladiolus segetum</i>                                                      | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Glaucium flavum</i>                                                        | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Globularia alypum</i>                                                      | 23 | 34.33 | ***** |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i><br>ou <i>Paeonia</i><br>off( <i>Renonculaceae</i> ) | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Hedysarum coronarium</i>                                                   | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Hedysarum sp</i>                                                           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Helianthemum sp</i>                                                        | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Hippocrepis sp</i>                                                         | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Hypecum procumbens</i>                                                     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Hypericum sp</i>                                                           | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Hypochoeris sp</i>                                                         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Inula montana</i>                                                          | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Inula sp</i>                                                               | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Inula viscosa</i>                                                          | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Iris pseudo acorus</i>                                                     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Juglans regia</i>                                                          | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Juncus sp</i>                                                              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Juniperus sp</i>                                                           | 18 | 26.87 | ***** |
| <i>Lactuca virosa</i>                                                         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Lamium sp</i>                                                              | 12 | 17.91 | ***** |
| <i>Lathyrus nissolia</i>                                                      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lathyrus sativus</i>                                                       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Lathyrus sp</i>                                                            | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Lathyrus sp (palustris)</i>                                                | 2  | 2.99  | **    |







|                            |    |       |       |
|----------------------------|----|-------|-------|
| <i>Laurus sp</i>           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lavandula sp</i>        | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Lavandula stoeckas</i>  | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Leontodon sp</i>        | 14 | 20.90 | ***** |
| <i>Type Linaria</i>        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Linaria pinifolia</i>   | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Linaria sp</i>          | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lobularia sp</i>        | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Loranthus sp</i>        | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Lotus corniculatus</i>  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lotus creticus</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lotus sp</i>            | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Luffa sp</i>            | 10 | 14.93 | ***** |
| <i>Lupinus sp</i>          | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Lythrum junceum</i>     | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Malus pumilla Mill.</i> | 17 | 25.37 | ***** |
| <i>Malus sp</i>            | 12 | 17.91 | ***** |
| <i>Malva sylvestris</i>    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Mantisalca sp</i>       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Marrubium vulgare</i>   | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Mathiola sp</i>         | 14 | 20.90 | ***** |
| <i>Matricaria sp</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Medicago sp</i>         | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Melilotus sp</i>        | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Mentha piperita</i>     | 2  | 2.99  | **    |





|                              |    |       |       |
|------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Mentha pulegium</i>       | 17 | 25.37 | ***** |
| <i>Mentha sp</i>             | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Moricandia arvensis</i>   | 33 | 49.25 | ***** |
| <i>Morus alba</i>            | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Myosotis sp</i>           | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Myrtus communis</i>       | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Myrtus sp</i>             | 1  | 1.49  | *     |
| <i>NI</i>                    | 10 | 14.93 | ***** |
| <i>Odontites lutea</i>       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Odontites sp</i>          | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Olea europaea L.</i>      | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Onobrychis sativa</i>     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Onobrychis sp</i>         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Ononis alopecuroïdes</i>  | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Ononis arvensis</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ononis sp</i>             | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Ononis spinosa</i>        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Onopordon sp</i>          | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Onosma</i>                | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Onosma (echinoides)</i>   | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Opuntia ficus indica</i>  | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Origanum sp</i>           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ormenis mixta</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ormenis sp</i>            | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Ornithogalum arabicum</i> | 5  | 7.46  | ***** |





|                              |    |       |       |
|------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Ornithopus compressus</i> | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ornithopus sp</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Osyris alba</i>           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Osyris sp</i>             | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Oxalis pers caprae</i>    | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Oxalis sp</i>             | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Pallenis</i>              | 14 | 20.90 | ***** |
| <i>Papaver rhoeas</i>        | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Pedicularis sp</i>        | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Peganum harmala</i>       | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Peucedanum sp</i>         | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Phagnalon sp</i>          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Phoenix dactylifera</i>   | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Pimpinella sp</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Pistacia lentiscus</i>    | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Pistacia sp</i>           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Pisum sativum</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Populus nigra</i>         | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Potentilla anserina</i>   | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Potentilla reptans</i>    | 4  | 5.97  | ***** |
| <i>Potentilla sp</i>         | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Primula sp</i>            | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Primula (acaulis)</i>     | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Primula (nivalis)</i>     | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Prunus amygdalus</i>      | 1  | 1.49  | *     |





|                               |    |       |       |
|-------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Prunus dulci</i> Mill.     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Prunus prostrata</i>       | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Prunus</i> sp              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ptychotis</i> sp           | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Punica granatum</i>        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Pyrus communis</i>         | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Pyrus</i> sp               | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Pyrus syriaca</i>          | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Quercus coccifera</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Quercus ilex</i>           | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Quercus</i> sp             | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Quercus suber</i>          | 10 | 14.93 | ***** |
| <i>Ranunculus flammula</i> sp | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ranunculus</i> sp          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Raphanus raphanistrum</i>  | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Raphanus</i> sp            | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Reseda alba</i>            | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Reseda</i> sp              | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Retama retam</i>           | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Retama</i> sp              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rhamnus alaternus</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rhamnus frangula</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rhamnus</i> sp             | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rhinanthus</i> sp          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Robinia pseudo acacia</i>  | 1  | 1.49  | *     |





|                                           |    |       |       |
|-------------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Rosa montana</i>                       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Rosa canina</i>                        | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Rosa sempervirens</i>                  | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Rosa sp</i>                            | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Rosmarinus officinalis</i>             | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Rosmarinus sp</i>                      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rubia laevis</i>                       | 14 | 20.90 | ***** |
| <i>Rubia sp</i>                           | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Rubus fruticosus</i>                   | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Rubus sp</i>                           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Rubus ulmifolius</i>                   | 13 | 19.40 | ***** |
| <i>Rumex sp</i>                           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ruta sp</i>                            | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Ruta montana</i>                       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Salix alba</i>                         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Salix sp</i>                           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Salvia sp</i>                          | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Sambicus sp</i>                        | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Sambucus nigra</i><br>(Caprifoliaceae) | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Sanguisorba sp</i>                     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Sanicula europaea</i>                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Saponaria sp</i>                       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Schinus molle</i>                      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Scilla maritima</i>                    | 4  | 5.97  | ****  |





|                                      |    |       |       |
|--------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Scilla sp</i>                     | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Scolymus hispanicus</i>           | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Scrofularia sp</i>                | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Senecio leucanthemifolius</i>     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Senecio sp</i>                    | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Senecio vulgaris</i>              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Seseli sp</i>                     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Type Sesli (Apiaceae)</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Sideritis sp</i>                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Silene (Caryophyllaceae)</i>      | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Silybum marianum</i>              | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Silybum sp</i>                    | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Sinapis arvensis</i>              | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Sinapis sp</i>                    | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Sisyrinchium sp</i>               | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Sorbus sp</i>                     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Spiraea (rosaceae)</i>            | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Spiranthes (type Orchidaceae)</i> | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Stachys annua</i>                 | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Stachys sp</i>                    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Sysirinchium sp</i>               | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Tamarix sp</i>                    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Taraxacum sp</i>                  | 4  | 5.97  | ****  |





|                                        |    |       |       |
|----------------------------------------|----|-------|-------|
| <i>Taraxacum dens leonis</i>           | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Taraxacum Officinalis</i>           | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Teucrium pseudochamaepitys</i>      | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Teucrium sp</i>                     | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Thapsia garganica</i>               | 9  | 13.43 | ***** |
| <i>Thymus algeriensis</i>              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Thymus capitatus</i>                | 1  | 1.49  |       |
| <i>Thymus serpyllum</i>                | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Thymus sp</i>                       | 8  | 11.94 | ***** |
| <i>Tolpis barbata</i>                  | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Trifolium arvense</i>               | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Trifolium pratense</i>              | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Trifolium repens</i>                | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Trifolium reptans</i>               | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Trifolium sp</i>                    | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Trigonella sp</i>                   | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Type Acacia</i>                     | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Type Allium</i>                     | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Type Ammi</i>                       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Type Anthicharis (Boraginaceae)</i> | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Type Anthyllis</i>                  | 4  | 5.97  | ****  |
| <i>Type Apiaceae</i>                   | 2  | 2.99  | ***   |
| <i>Type Apium</i>                      | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Type Arthemisia</i>                 | 4  | 5.97  | ****  |





|                            |   |      |       |
|----------------------------|---|------|-------|
| <i>Type Asteraceae</i>     | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Boraginaceae</i>   | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Brassica</i>       | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Bupleurum</i>      | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Centaurea</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Centaurium</i>     | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Chenopodiaceae</i> | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Cirsium</i>        | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Crataegus</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>type Crepis</i>         | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Cucumis</i>        | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Cucurbitaceae</i>  | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Cydonia</i>        | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Daucus</i>         | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Echium</i>         | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Euphorbia</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Euphorbiaceae</i>  | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Fabaceae</i>       | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Genista</i>        | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Hedysarum</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Iridaceae</i>      | 4 | 5.97 | ***** |
| <i>Type Lamiaceae</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Lathyrus</i>       | 2 | 2.99 | ***   |
| <i>Type Laurus</i>         | 3 | 4.48 | ***   |
| <i>Type Lavandula</i>      | 4 | 5.97 | ***** |







|                            |   |      |       |
|----------------------------|---|------|-------|
| <i>Type Liliaceae</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Malus</i>          | 3 | 4.48 | ****  |
| <i>Type Myosotis</i>       | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Ononis</i>         | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Origanum</i>       | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Ornithopus</i>     | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Papilionaceae</i>  | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Pimpinella</i>     | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Potentilla</i>     | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Pyrus</i>          | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Ranunculus</i>     | 3 | 4.48 | ****  |
| <i>Type Rosa</i>           | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Rubus</i>          | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Rudolphia</i>      | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Ruta</i>           | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Senecio</i>        | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Sinapis</i>        | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Type Thymus</i>         | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Trifolium</i>      | 2 | 2.99 | **    |
| <i>Type Vicia</i>          | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Ulmus sp</i>            | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Verbascum elaterium</i> | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Verbascum sp</i>        | 1 | 1.49 | *     |
| <i>Veronica sp</i>         | 4 | 5.97 | ****  |
| <i>Vicia cracca</i>        | 5 | 7.46 | ***** |





| (tricolporé)             |   |       |       |
|--------------------------|---|-------|-------|
| <i>Vicia faba</i>        | 1 | 1.49  | *     |
| <i>Vicia sp</i>          | 6 | 8.96  | ***** |
| <i>Vicia villosa</i>     | 1 | 1.49  | *     |
| <i>Vitis vinifera</i>    | 1 | 1.49  | *     |
| <i>Xanthium spinosum</i> | 1 | 1.49  | *     |
| <i>Zizyphus lotus</i>    | 7 | 10.45 | ***** |
| <i>Zygophyllum sp</i>    | 1 | 1.49  | *     |

#### 4.4.2.3 Familles présentes dans n échantillons

59familles botaniques ont été visitées par les abeilles dans les différentes zones d'étude (Tab.10). En effet, c'est le résultat du regroupement des taxons dans leurs familles. Par conséquent, les familles les plus représentées par rapport à la totalité sont :

- La famille des *Fabaceae* avec une fréquence de 79.10% suivie des *Asteraceae* (77.61%) représentent les deux familles omniprésentes pratiquement dans la majorité des miels étudiés.
- La troisième position est occupée par les *Rosaceae* avec une fréquence de 52.24%.
- Les *Brassicaceae* et les *Apiaceae* sont présentes avec des fréquences relatives de 46.27% et 40.30% des miels analysés.
- En se qui concerne la famille de *Lamiaceae*, elle représente une fréquence relative de 31.34% suivie des *Boraginaceae* (28.36%), *Scrophulariaceae* (16.42%), *Myrtaceae* (10.45%).
- Le reste des autres familles sont présent mais à un faible degré.



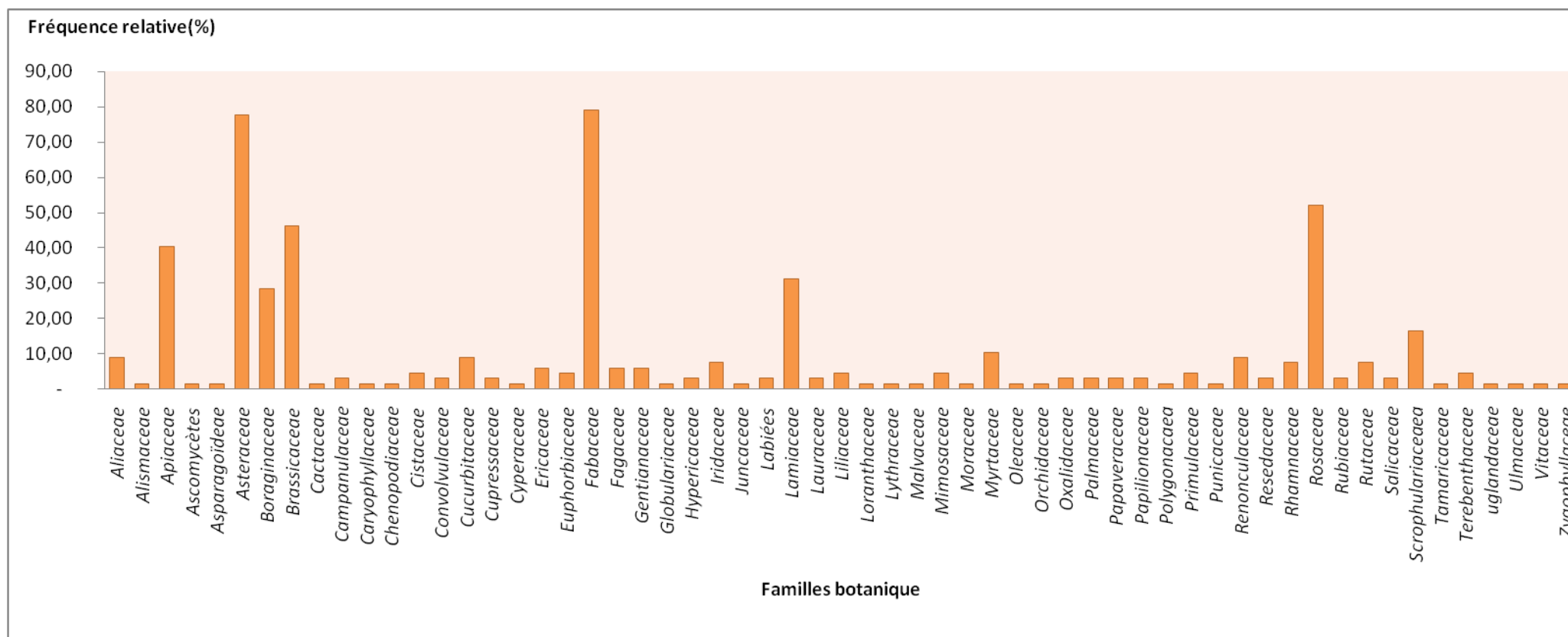


Figure58 : Graphe représentant familles présentes dans n échantillons





**Tableau 10 :** Fréquences relatives des familles botaniques dans les échantillons de miels

| Familles               | Nombre des familles | Fréquence relative |       |
|------------------------|---------------------|--------------------|-------|
| <i>Alliaceae</i>       | 6                   | 8.96               | ***** |
| <i>Alismaceae</i>      | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Apiaceae</i>        | 27                  | 40.30              | ***** |
| <i>Asparagoideae</i>   | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Asteraceae</i>      | 52                  | 77.61              | ***** |
| <i>Boraginaceae</i>    | 19                  | 28.36              | ***** |
| <i>Brassicaceae</i>    | 31                  | 46.27              | ***** |
| <i>Cactaceae</i>       | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Campanulaceae</i>   | 2                   | 2.99               | **    |
| <i>Caryophyllaceae</i> | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Chenopodiaceae</i>  | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Cistaceae</i>       | 3                   | 4.48               | ***   |
| <i>Convolvulaceae</i>  | 2                   | 2.99               | **    |
| <i>Cucurbitaceae</i>   | 6                   | 8.96               | ***** |
| <i>Cupressaceae</i>    | 2                   | 2.99               | **    |
| <i>Cyperaceae</i>      | 1                   | 1.49               | *     |
| <i>Ericaceae</i>       | 4                   | 5.97               | ****  |
| <i>Euphorbiaceae</i>   | 3                   | 4.48               | ***   |
| <i>Fabaceae</i>        | 55                  | 82.09              | ***** |
| <i>Fagaceae</i>        | 4                   | 5.97               | ****  |
| <i>Gentianaceae</i>    | 4                   | 5.97               | ****  |





|                       |    |       |       |
|-----------------------|----|-------|-------|
| <i>Globulariaceae</i> | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Hypericaceae</i>   | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Iridaceae</i>      | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Juncaceae</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lamiaceae</i>      | 23 | 34.33 | ***** |
| <i>Lauraceae</i>      | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Liliaceae</i>      | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Loranthaceae</i>   | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Lythraceae</i>     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Malvaceae</i>      | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Mimosaceae</i>     | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Moraceae</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Myrtaceae</i>      | 7  | 10.45 | ***** |
| <i>Oleaceae</i>       | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Orchidaceae</i>    | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Oxalidaceae</i>    | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Palmaceae</i>      | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Papaveraceae</i>   | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Polygonaceae</i>   | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Primulaceae</i>    | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Punicaceae</i>     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Renonculaceae</i>  | 6  | 8.96  | ***** |
| <i>Resedaceae</i>     | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Rhamnaceae</i>     | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Rosaceae</i>       | 35 | 52.24 | ***** |





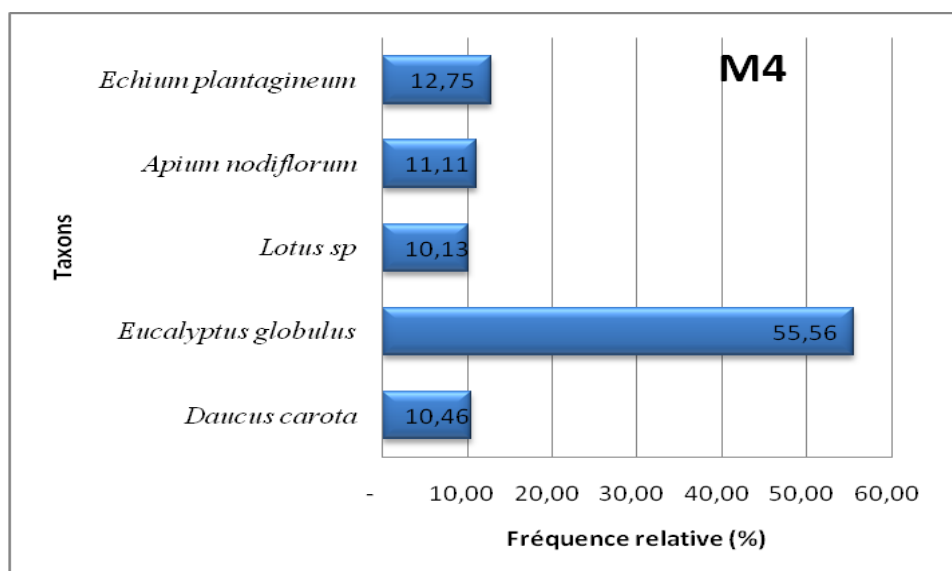
|                         |    |       |       |
|-------------------------|----|-------|-------|
| <i>Rubiaceae</i>        | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Rutaceae</i>         | 5  | 7.46  | ***** |
| <i>Salicaceae</i>       | 2  | 2.99  | **    |
| <i>Scrophulariaceae</i> | 11 | 16.42 | ***** |
| <i>Tamaricaceae</i>     | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Terebenthaceae</i>   | 3  | 4.48  | ***   |
| <i>Juglandaceae</i>     | 1  | 1.49  | **    |
| <i>Ulmaceae</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Vitaceae</i>         | 1  | 1.49  | *     |
| <i>Zygophyllaceae</i>   | 1  | 1.49  | *     |

#### 4.4.2.4 Catégories de miels en fonction de leurs contenus polliniques

Le contenu pollinique et l'analyse de distribution de chacun des taxons des miels étudiés a permis de leur donner une appellation florale. Dans ce volet nous avons tenté d'étudier le contenu botanique qui nous a permis d'obtenir une classification des miels (Annexe 9). Nous avons constaté qu'il existe uniquement deux miels à dominance de taxons *Eucalyptus globulus* c'est-à-dire à fréquence relative supérieure à 45% pour les échantillons originaire de la wilaya de Annaba (M4) Zeriba Nacera (55.56%) et (M6) Ain Berda (45.45%) (Fig.59, Fig.60). Ce résultat pour le taxon *Eucalyptus globulus* de la famille des *Myrtaceae* coïncide avec les résultats de [Chefrour \(2007\)](#) et [Makhloufi et ses collaborateurs \(2010\)](#). En effet, cette est considérée comme l'une des plantes mellifères les plus répandus en Algérie ([Louveaux et Abed, 1984](#)) et également au Nord de l'Afrique (payés du Magreb) car [Terrab et ses collaborateurs \(2003\)](#) ont mentionné que *l'Eucalyptus camaldulensis* est omniprésent dans le Nord du Maroc.

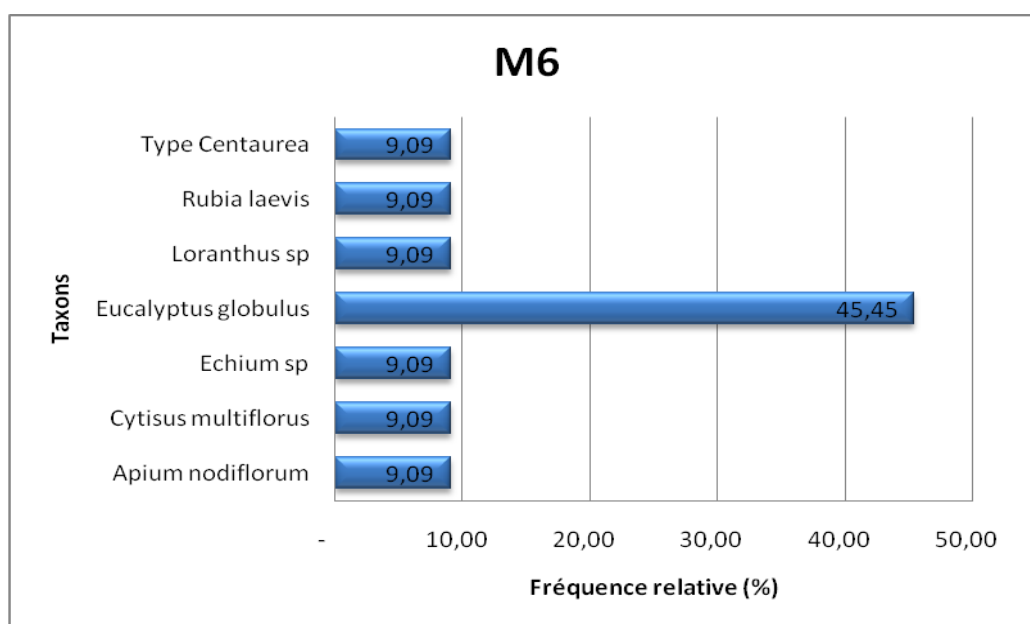
Ces derniers échantillons de miel, sus mentionnés, sont accompagnés par des taxons minoritaires qui sont *Apium nodiflorum*, *Daucus carota*, *Echium plantagineum*, *Lotus sp.*





**Figure 59:** Diagramme pollinique de l'échantillon M4: Miel monofloral (Eucalyptus)

Ainsi que, *Apium nodiflorum*, *Cytisus multiflorus*, *Echium sp*, *Loranthus sp*, *Rubia laevis*, *Type Centaurea* pour l'échantillon M6.



**Figure 60:** Diagramme pollinique de l'échantillon M6 : Miel monofloral (Eucalyptus)

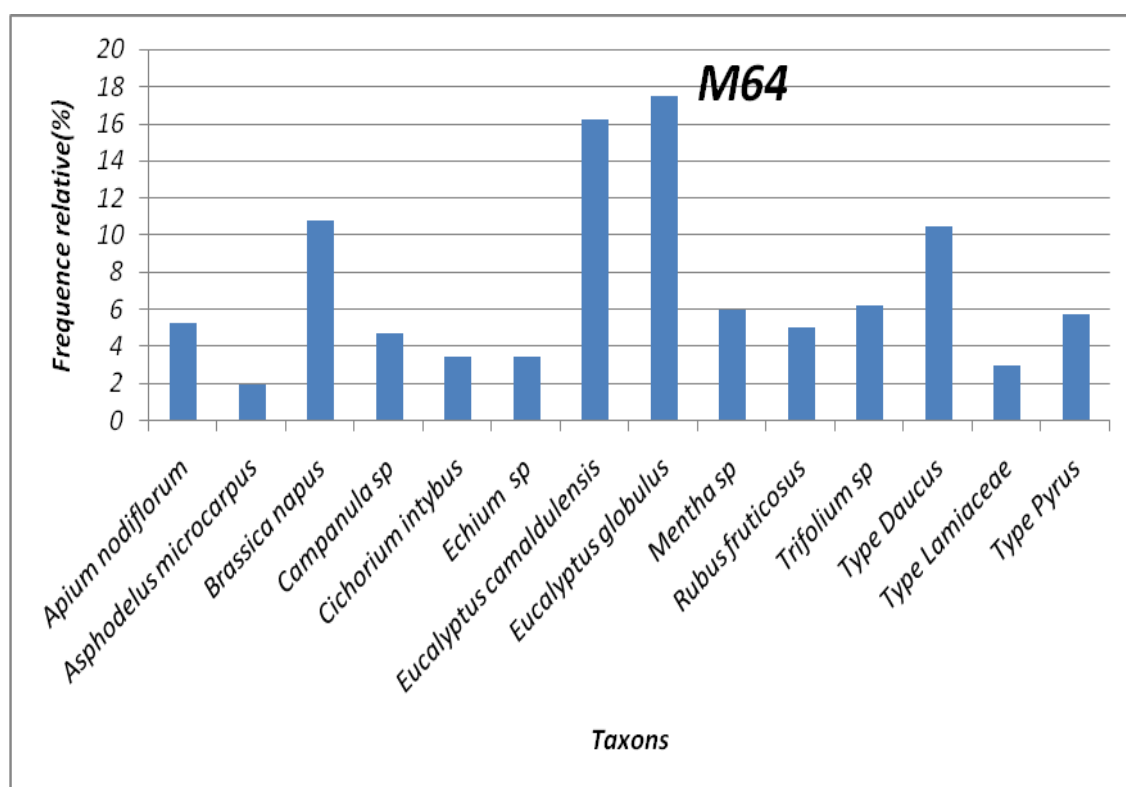




En outre, le reste des échantillons de miels analysés sont polyfloraux sans dominance spécifique. Or, suite à l'observation et l'analyse(Annexe9) (Fig.61, 62, 63) des différents types de miel et surtout polyfloraux, nous avons constaté que la flore mellifère de différentes régions de l'Algérie (Est, Centre, Ouest et Sud) est très riche et diversifiée et cela aidera a mieux cartographier les miels Algériens dans les travaux ultérieurs dans les quatre coins de l'Algérie.

La liste des espèces mellifères dressée pour l'ensemble des régions d'étude, a révélé que la flore mellifère visitée par les abeilles est principalement spontanée.

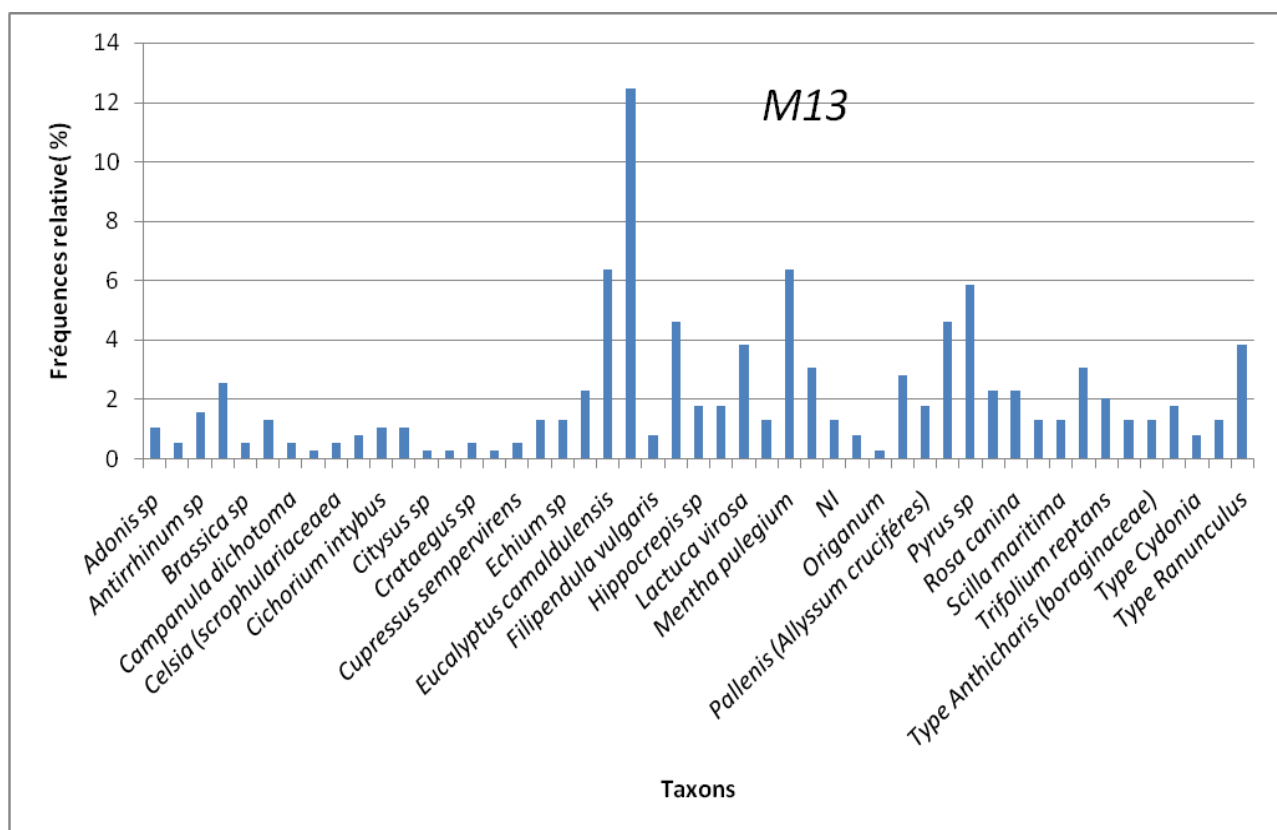
Comme exemples, nous avons choisi aléatoirement l'échantillon du miel de la région Centre M64, originaire de Chlef, correspondant à un miel polyfloral sans dominance mentionnée mais il est composé de l'*Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus camaldulensis* comme pollens secondaires. Aussi nous pouvons trouvé *Apium nodiflorum*, *Brassica napus*, *Campanula sp*, *Cichorium intybus*, *Echium sp*, *Mentha sp*, *Rubus fruticosu*, *Trifolium sp*, Type *Daucus*, Type *Lamiaceae*, Type *Pyrus* comme pollens minoritaires ainsi que *Asphodelus microcarpus* ( pollen anémophile) comme pollen isolé.



**Figure 61 :** Diagramme pollinique de l'échantillon M13 : Miel polyfloral (région Centre)







**Figure 62 :** Diagramme pollinique de l'échantillon M13 : Miel polyfloral (région Nord -Est)

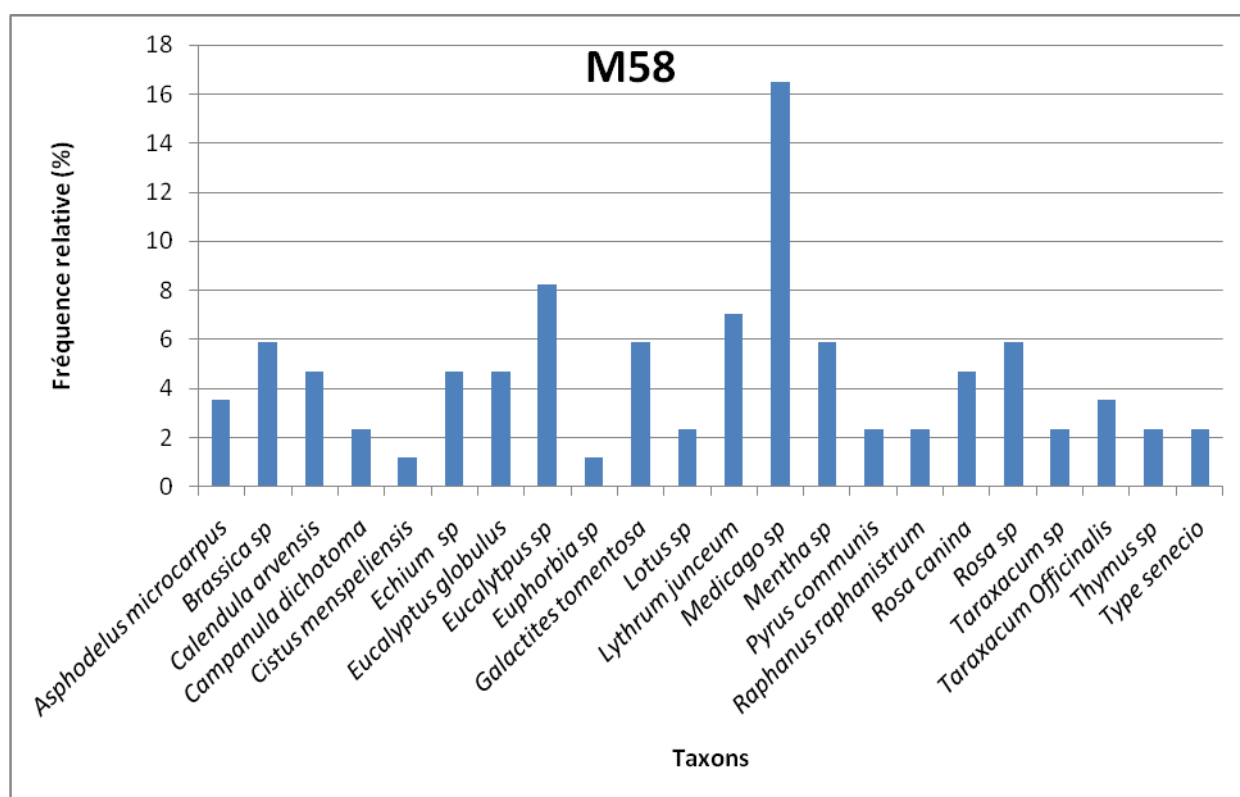
Un autre exemple (choisi aléatoirement) est celui de l'échantillon du miel de la région Est (M13), originaire de Meradia Zitouna , Wilaya de Taref correspond a un miel polyfloral, sans dominance, et ne contient que des pollen minoritaire comme l' *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalytpus sp*, *Globularia alypum*, *Lactuca virosa*, *Mentha pulegium*, *Moricandia arvensis*, *Papaver rhoeas*, *Pyrus sp*, *Spiranthes (type Orchidaceae)* *Type Ranunculus* et des pollens isolés comme l'*Adonis sp*, *Ammi sp (majus)*, *Antirrhinum sp*, *Apium sp*, *Brassica sp*, *Bupleurum foliosum*, *Campanula dichotoma*, *Carduus sp*, *Celsia (scrophulariaceaea)*, *Chrysanthemum*, *Cichorium intybus*, *Cistus sp*, *Citrusus sp*, *Clematis vitalba*, *Crataegus sp*, *Cucurbita sp*, *Cupressus sempervirens*, *Diplotaxis (Brassicaceae)*, *Echium sp*, *Erica arborea*, *Filipendula vulgaris*, *Hippocrepis sp*, *Juniperus sp*, *Marrubium vulgare*, *Ononis sp*, *Origanum*, *Oxalis pers capreae*, *Pallenis*, *Rhinanthus sp*, *Rosa canina*, *Rosa sempervirens*, *Scilla maritima*, *Trifolium reptans*, *Trigonella sp*, *Type Anthicharis (Boraginaceae)*, *Type Bupleurum*, *Type Cydonia* et *Type Genista*.

Un autre exemple , correspond à l'échantillon M58, originaire de Berriane Wilaya de Ghardaïa (Fig.63), et un miel riche en *Medicago sp* comme pollen secondaire et en *Asphodelus microcarpus*, *Brassica sp*, *Echium sp*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalytpus sp*, *Galactites tomentosa*,





*Lythrum junceum*, *Mentha sp*, *Rosa canina*, *Rosa sp*, *Taraxacum Officinalis* comme pollens minoritaires et enfin *Campanula dichotoma*, *Cistus mensepeliensis*, *Euphorbia sp*, *Lotus sp*, *Pyrus communis*, *Raphanus raphanistrum*, *Taraxacum sp*, *Thymus sp*, *Type senecio* comme pollens isolés.



**Figure 63 :** Diagramme pollinique de l'échantillon M58 : Miel polyfloral (région Sud)

Par ailleurs, en plus de la richesse en plantes mellifères nous avons aussi constaté la présence des plantes anémophiles dont 24 taxons anémophiles ont été trouvés dont les plus observés sont les Asques, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus sp*, *Type Chenopodiaceae*, *Cyperus laevigatus*, *Arbutus unedo*, *Erica arborea*, *Erica cinerea*, *Erica scoparia*, *Erica sp*, *Quercus coccifera*, *Quercus sp*, *Quercus suber*, *Juglans regia*, *Juncus sp*, *Asparagus sp*, *Acacia horrida*, *Type Acacia*, *Morus alba*, *Olea europaea*, *Chamaerops humilis*, *Phoenix dactylifera*, *Salix alba* et *Ulmus sp* appartenant aux familles suivantes : *Cupressaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cyperaceae*, *Ericaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Juncaceae*, *Asparagoideae*, *Mimosaceae*, *Moraceae*, *Oleaceae*, *Palmaceae*, *Salicaceae* et *Ulmaceae* avec les asques dans certains échantillons de miels étudiés (Annexe9). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par [Chefrou \(2007\)](#).





## 4.5 Etude statistiques

### 4.5.1. Matrice de corrélation

L'étude de la matrice de corrélation (**Annexe 7**) montre qu'il existe une corrélation négative, significative, entre la teneur en eau et le taux de la matière sèche ( $r=0.999$ ). En effet une teneur élevée en matière sèche correspond à une baisse de teneur en eau dans le miel, ainsi, toute anomalie de corrélation peu être probablement un signe d'adultération.

La corrélation entre la teneur en cendre et la conductivité électrique est importante ( $r=0.730$ ), ce qui confirme l'hypothèse que l'augmentation de la teneur en cendre est accompagné par une augmentation de la conductivité électrique et ainsi prouvée la relation trouvée par les scientifiques (Chefrour, 2007 ; Silva et al., 2009 ; Pires et al., 2009) liant positivement la teneur en matière minérale du miel avec sa capacité de la conduction de l'électricité.

L'acidité totale est corrélée avec les l'acidité libre et l'acidité combinée avec des valeurs de corrélation de  $r=0.764$  et  $r=0.841$  respectivement.

L'acidité totale est faiblement corrélée avec la densité ( $r=0.230$ ). Par contre des corrélations négative faible ont été observées entre l'acidité totale et le pH ( $r=-0.322$ ) et la conductivité électrique ( $r=-0.155$ ).

Des faibles corrélations (négatives) ont été observées entre la teneur en HMF est la conductivité électrique ( $r=-0.173$ ), les cendres ( $r=-0.284$ ) et le pH ( $r=-0.220$ ). Aussi des corrélations faible positive ont été soulevées entre l'HMF est l'acidité (lactonique et totale) avec un coefficient de corrélation de  $r=0.298$  et  $r=0.170$  respectivement.

Une corrélation positive non significative entre les sucres totaux et densité ( $r=0.140$ ), acidité de lactone ( $0.377$ ) et l'acidité totale ( $r=0.269$ ) et négative avec le pH ( $r=-0.147$ ) montre que la dégradation des sucres en monosaccharides est la résultante de l'acidité des miels qui deviennent fragile car ces derniers correspondent aux miels les plus acide. Ainsi, le pH influence fortement la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes : elle est plus rapide pour un pH faible ( $<3.5$ ) que pour un pH élevé ( $4.0-5.0$ ). En plus nous avons constaté qu'il existe une corrélation négative entre les sucres totaux et l'enzyme diastase responsable de l'activité diastasique ( $r=0.295$ ) et cela est due au faite que l'amylase scinde l'amidon et le transforme en glucose (Louveau, 1985 ; White, 1992).





Une relation faiblement positive est remarquée aussi entre la teneur en saccharose et la teneur en eau ( $r= 0.202$ ) avec une faible corrélation négative entre le saccharose et la teneur en HMF, substance qui apparaît dans le miel lors de la dégradation des sucres, principalement le fructose, composant de dégradation de saccharose, avec perte de 3 molécules d'eau (White, 1994). En faite, le fructose est un sucre fragile et quand il est exposé à une température trop élevée et en milieu naturellement acide, il se décompose pour donner naissance à l'hydroxyméthylfurfural (White, 1994).

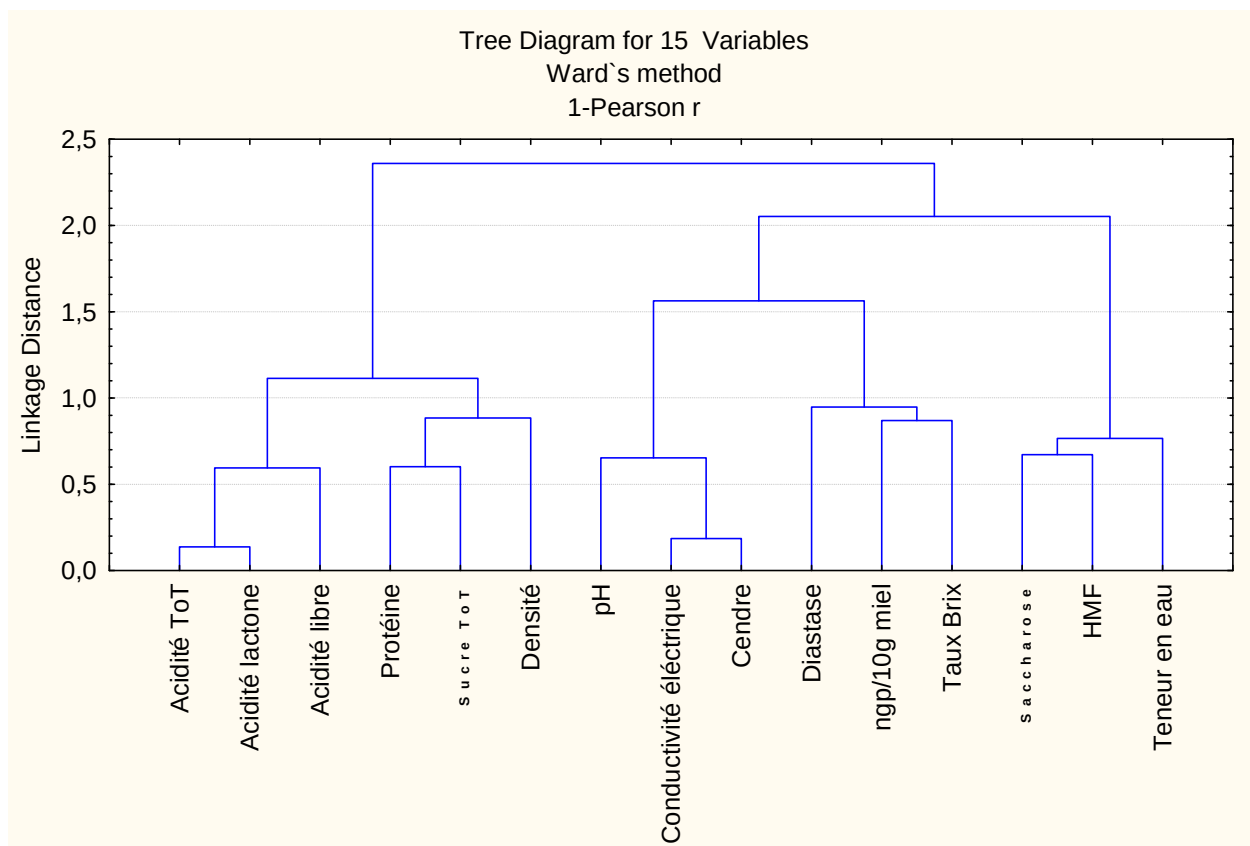
En plus, une relation faiblement positive est remarquée entre le saccharose et la teneur en cendre ( $r=0.254$ ), la conductivité électrique ( $r=0.223$ ).

Concernant les protéines, nous avons observé une corrélation positive moyenne entre la teneur en protéines vis à vis de l'acidité libre, de lactone et l'acidité totale qui est respectivement ( $r= 0.327$ ,  $r=0.336$  et  $r= 0.413$ ), aussi, des corrélations moyennement et faiblement positives ont été remarquées entre les protéines et les sucres réducteurs totaux ( $r=0.248$ ), les cendres ( $r= 0.404$ ), la conductivité électrique( $r= 0.339$ ) la densité( $r=0.335$ ) et la teneur en eau ( $r=0.185$ ).

#### **4.5.2. Dendrogramme de Ward et la distance euclidienne**

Dans ce volet nous avons essayé de se référer à la classification hiérarchique ascendante (C.A.H.) qui part de l'ensemble des classes à un seul élément et à chaque marche (niveau) réunissent deux classes les plus ressemblantes jusqu'à l'obtention de la classe contenant l'ensemble des éléments. Le dendrogramme de Ward et la distance des coefficients de corrélation entre les 14 paramètres physico-chimiques plus le résultat de l'analyse pollinique quantitative (Nombre de grains de pollen) est représenté par la figure 64.





**Figure 64 :** Classification hiérarchique des différents variables pour l'ensemble des échantillons de miels

Le niveau zéro correspond aux parties de la hiérarchie de partitions (14paramètres *physico-chimiques*+ *Nombre de grains de pollen*).

Le niveau 1, comporte les classes (Ac lact-Ac Tot),(protéine –sucre ToT), (CE-TC), (NPG –Taux brix) et (HMF-saccharose).

Nous avons constaté que l'acidité des lactones et l'acidité libres sont bien corrélées ainsi que la conductivité éclectique et la teneur en cendre.

Tandis que pour le niveau 2 : l'indice prend alors la valeur 2 est conduit à la matrice de la distance ou les 3types d'acidités sont regroupées (Ac lactonique, ac Totale) -Ac Libre; protéine et sucres totaux avec la densité (protéine –sucre ToT)- Densité ; pH-(Conductivité électrique- teneur en cendre) qui représentent les paramètres de distinction entre le miel de nectar et miel de miellat c'est-à-dire la classification des miels. Par contre, l'activité diastasique qui représente les enzymes amylasiques dans le miel se regroupe dans ce niveau 2 avec le nombre de grains de pollen





et la teneur en matière sèche (taux Brix) (NPG –Taux brix)-Diastase et finalement (HMF-saccharose)- Teneur en eau.

Tandis que le dernier niveau correspond au regroupement des paramètres suivants :

- Ac lactonique, ac Totale -Ac Libre- protéine - sucres totaux - densité. L'acidité dépend de la richesse du milieu en protéine et en sucre et qui participent généralement à l'augmentation de la densité du milieu.
- pH- Conductivité électrique- teneur en cendre –Diastase- NPG –Taux brix. Nous pouvons distinguer de ce regroupement que le taux de matière sèche a une relation avec la teneur en cendre, matière minérale de miel, qui influence le pH, et ainsi influence systématiquement sa capacité à conduire le courant électrique. Par contre l'amylase une enzyme provenant de sécrétions salivaires des abeilles ou à sa présence dans le pollen donc influencée par le nombre de grains de pollen ou le nectar, est influencée par le pH. Autrement dit, l'activité enzymatique atteint est dépendante de l'acidité du milieu.
- HMF-saccharose- Teneur en eau. Ces derniers qui ont une relation intime et bien sur représentent les principaux paramètres de qualité de miel. D'après [Chefrour \(2007\)](#), un miel qui contient une teneur en eau de 18.8% d'eau, favorisera les processus de la dégradation des sucres par le biais des enzymes, ainsi que la production de L'HMF.









## 5.1 Principe

Le miel est un produit naturel produit par les abeilles à partir du nectar collectés et stocké sous forme de nourriture dans la ruche (Silva *et al.*, 2013).

Il est constitué essentiellement de différents sucres mais surtout de fructose et de glucose ainsi que d'autres substances sous forme de traces, comme les protéines et les enzymes, les acides aminés, des pigments, des substances responsables de sa saveur et l'arôme, les acides, les alcools et les vitamines (Stankovska *et al.*, 2008) . La couleur du miel varie de presque incolore au brun foncé, tandis que la cohérence peut être fluide, visqueuse ou partiellement à entièrement cristallisé (Codex, 2001).

Le miel est également composé des minéraux essentiels (P, Fe, Al, Mg, Cu, Mn, Si, Cl, Ca, K et Na), constituants naturels du sol (Matei *et al.* ,2004).

Il est utilisé dans toutes les régions du monde pour différents buts comme un aliment, traitement de diverses affections et maladies, en médecine et en tant que moniteur biologique pour la détermination des métaux lourds et pour déterminer la qualité de l'environnement dans des zones pollués (Conti, 2000 ; Erbilir et Erdogrul, 2005; Saghaei *et al.*, 2012).

Les abeilles peuvent, continuellement, être exposées à des contaminants dans les zones environnantes du rucher pendant la durée de leur activité de recherche de nourriture (Conti et Botrè, 2001). Les abeilles butinent dans un rayon de 50 km (Belouali *et al.*, 2008), et pour cette raison elles et leurs produits peuvent servir de bio-indicateurs représentatifs de la pollution de l'environnement et de la contamination de la zone (Conti et Botrè, 2001). Ainsi le miel est intrinsèquement lié au territoire dans lequel il est produit et il est étroitement lié à la flore visitée par les abeilles pour sa production. Les grains de pollen de fleurs visitées par les abeilles qui récoltent le nectar se rencontrent naturellement dans le miel, ainsi que les oligo-éléments que les plantes reçoivent à partir du sol, de l'eau et de l'air (Chakir *et al.*, 2011) .

La contamination métallique de miel pourrait être d'origine environnementale, à la suite de diverses activités anthropiques (pratiques agricoles, les industries, les déchets bennes, etc.) (Stankovska, 2008; Özcan et Al Juhaimi, 2012).

Ces métaux peuvent provenir de sources externes telles que la pollution industrielle de fonderie, les émissions des unités industrielles, et des procédures irrégulières pendant les phases







de traitement et d'entretien de miel. Il existe aussi d'autres pollutions de miel tel la contamination par des antibiotiques issus de traitement de ruche contre les maladies des abeilles.

Par conséquent, le miel doit être exempt de métaux lourds ou antibiotique à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine. Les produits visés par les dispositions de la présente norme doivent être conformes aux limites maximales fixées pour les métaux lourds par la Commission du *Codex Alimentarius* ([Annexe II: Projet de Norme révisée pour le miel](#)).

L'objectif global dans notre étude est de faire une caractérisation toxicologique de quelques variétés de miels Algérien à travers la recherche d'une éventuelle contamination par les antibiotiques et dosage des éléments trace.

## 5.2 Méthodologie

### 5.2.1. Matériel biologique

22 échantillons de miel ont été recueillis auprès de différents apiculteurs et vendeurs de produits de la ruche dans les foires et les magasins, entre l'année 2012 et l'année 2015. Chaque échantillon (100 g) a été stocké dans un pot en plastique et stocké à l'abri de lumière à température 4°C (Tab.11).

Les origines géographique et botanique ont été communiquées par les apiculteurs et les vendeurs.

### 5.2.2. Matériel expérimental

#### 5.2.2.1. Détermination de l'intensité de la couleur : $ABS_{635nm}$

La couleur des échantillons de miel a été déterminée par mesure spectrophotométrique de l'absorbance d'une solution de miel 50%(w/v) à 635nm selon la méthode de White ([White, 1984](#)). La couleur du miel (Fig.65) est classée selon l'indice de Pfund, après conversion des valeurs d'absorption, en utilisant l'équation suivante ( $mm\ P\ fund$ )=  $-38.70 + (371.39 \cdot \Delta A_{635})$  ([Naab et al., 2008](#)) et les valeurs ont été classées selon le tableau 12 ([White, 1984](#)).





**Tableau 11:** Représentation géographique des échantillons de miels

| Miels | Région      | Wilaya     | Année | Appellation |
|-------|-------------|------------|-------|-------------|
| E1    | TRIAAT      | ANNABA     | 2012  | D'agrume    |
| E2    | BARGOUGA    | ANNABA     | 2014  | Polyfloral  |
| E3    | KOLO        | SKIKDA     | 2012  | Eucalyptus  |
| E4    | AIN SAYNOUR | SOUK AHRAS | 2012  | Polyfloral  |
| E5    | SOUK AHRAS  | SOUK AHRAS | 2012  | Oranger     |
| E6    | EL MEDIA    | EL MEDIA   | 2012  | Harmel      |
| E7    | SOUK AHRAS  | SOUK AHRAS | 2013  | Polyfloral  |
| E8    | AIN WASSARA | DJELFA     | 2012  | Sidr rouge  |
| E9    | METIDJA     | ALGER      | 2012  | Oranger     |
| E10   | KHENCHELA   | KHENCHELA  | 2012  | Harmel      |
| E11   | AL MATAR    | ANNABA     | 2012  | Polyfloral  |
| E12   | KOLO        | SKIKDA     | 2012  | Polyfloral  |
| E13   | EL MEDIA    | MEDIA      | 2012  | Sidr        |
| E14   | AIN WASSARA | DJELFA     | 2012  | Polyfloral  |
| E15   | TAREF       | TAREF      | 2012  | Sulla       |
| E16   | EL BOUNI    | ANNABA     | 2012  | Polyfloral  |
| E17   | AIN ASSAL   | TAREF      | 2012  | Polyfloral  |
| E18   | ZITOUNA     | TAREF      | 2012  | Polyfloral  |
| E19   | AIN SAFRA   | NAAMA      | 2012  | Polyfloral  |
| E20   | MEDIA       | MEDIA      | 2012  | Eucalyptus  |
| E21   | HJAR DISS   | ANNABA     | 2014  | Polyfloral  |
| E22   | BERRAHAL    | ANNABA     | 2015  | Polyfloral  |





**Figure 65:** Échelle de Pfund® utilisée pour l'étude de la couleur des miels

([www.brejadobreda.blogspot.fr](http://www.brejadobreda.blogspot.fr))

**Tableau 12:** Couleur du miel exprimé en absorbance et l'échelle *Pfund* (Naab et al., 2008)

| Couleur du miel                       | Absorbance  | L'échelle <i>Pfund</i> |
|---------------------------------------|-------------|------------------------|
| 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                  |





#### 5.2.2.2. Dosage des sucres :

Les sucres (glucides): principaux constituants de miel qui représentent environ 95% de la masse sèche. Les deux principales sont les sucres monosaccharides glucose et du fructose (environ 90% du total).

En petites quantités sont également présents sucres supérieurs (di-, tri-et oligosaccharides).

Les glucides donnent les nombreuses propriétés physiques de miel (comme l'état physique, la viscosité, hygroscopicité, etc.) et des aliments (valeur énergétique et douceur), et leur pourcentage de présence varie en fonction de l'origine botanique du miel.

Le dosage des sucres peut être réalisé par plusieurs méthodes, cependant la chromatographie liquide à haute performance (Système HPLC SHIMADZU LC-20 AD avec détecteur de RI) et colonne chromatographie apHera NH2 (150 mm x 4.60 mm x 5 microns (ou équivalent) (Bogdanov, 2002).

##### ➤ Solution de référence concentrée :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser: 5.0 g  $\pm$  0.001 g de glucose, 5.0 g  $\pm$  0.001 g de fructose et 1.0 g  $\pm$  0.001 g de saccharose, se dissolvent dans 40 ml d'eau bidistillée, ajouter 25 ml de méthanol et compléter à 100 ml avec de l'eau bidistillée.

Les solutions doivent être préparées chaque jour.

##### ➤ Préparation de la phase mobile :

La phase mobile est constituée d'un mélange acétonitrile / eau 80:20 (v / v) dégazée avant utilisation.

On pèse 10.00  $\pm$  0.01 g de miel dans un bécher de 100 ml et dissoudre dans environ 40 ml d'eau. Mesurez 25 ml de méthanol dans une fiole jaugée de 100 ml. Transférer la solution de miel dans le ballon et porter au volume avec de l'eau bidistillée.

On filtre la solution de l'échantillon, en éliminant les 2 premiers ml, avec un filtre de nylon de 0.45  $\mu$ m et poursuivre l'analyse chromatographique dans les conditions opératoires suivantes:

- Débit: 1.5 ml / minute





- Volume d'injection: 20 µl
- Détecteur de température: 30 ± 1 ° C
- Le temps d'acquisition de 10 min

L'identification des sucres est effectuée en comparant les temps de rétention des pics de la solution d'échantillon avec celles de la solution de référence.

La concentration de sucre est calculée en comparant l'aire du pic de la solution d'échantillon à celle des pics correspondant de la solution de référence, en utilisant la formule suivante:

$$C_{\text{sucres}} = \frac{A_{\text{éch}} \cdot q}{m} \times \frac{V}{p} \times W$$

Où:

- $C_{\text{SUCRE}}$  : concentration du sucre dans l'échantillon exprimée en ng / g.
- $A$  (éch.) : aire de pic du sucre dans le chromatogramme de l'échantillon.
- $q$  : origine de la droite d'étalonnage
- $m$  : pente de la droite d'étalonnage
- $P$  : peser de l'échantillon de miel en g
- $V$  : volume final en ml
- $W$  : Le facteur de dilution

Le résultat est exprimé en grammes de sucre par 100 g de miel se rapprochant à 1 décimale.

### 5.2.2.3. Résidus de Streptomycines

L'analyse quantitative de résidus de Streptomycine est réalisée avec la technique d' HPLC selon (Albino et al., 2005). 5 g d'échantillon de miel a été mélangé avec 20 ml de solution (heptasulphonate de sodium (0.05 M) et du phosphate d'hydrogène de sodium (0.08 M





extraire, pH = 2). La solution a ensuite été agitée au vortex pendant 30 min et centrifugé pendant 10 min. La streptomycine a été éluée avec méthanol et évaporé par une vapeur Rota (60 ° C, 250 mbar). Les résidus ont été récupérés avec 1 ml de dodécylsulfate de sodium (70 mM). Le mélange a été par la suite agité par tourbillonnement et ensuite placé dans un bain à ultrasons pendant 5 min ([Gallina et al., 2005](#), [Baggio et al., 2009](#)). La streptomycine a été détectée et quantifié par l'étalonnage de l'étalon externe. Des analyses de HPLC ont été effectuées, en utilisant dérivation post-colonne, effectuée dans 1 ml de bobine de réaction placé dans un four à colonne (55 ° C), et un système de détection fluorimétrique (SHIMADZU 20 AD HPLC) avec détection de fluorescence (SHIMADZU, Japon) et une colonne chromatographique Alltech (Alltech, Italia) C18 Platinum 5 uM 250mm x 4.60mm. Après filtration, une aliquote de 100 µl de solution de résidu a été injecté dans le système Chromatographique.

La streptomycine a été analysée à 1 ml / min de débit avec une élution isocratique de phase mobile de 40% de dodécyl sulfate de sodium (0.1 M) + sodium 1,2-naphtoquinone-4-sulfonate de (0.5 mM) et 60% d'acétonitrile pendant 15 min. Post-colonne, une solution d'hydroxyde de sodium 0.2 M a été ajouté (0.4 ml / min) en écoulement. Excitation et d'émission de longueurs d'onde 263 et 435 nm, respectivement, ont été utilisées pour détecter la streptomycine.

La quantification des échantillons a été effectuée en utilisant les normes externes. Cette approche permet la détermination de la streptomycine dans le miel dans la gamme de concentrations allant de 5 à 200 ng / kg. Les résultats positifs ont été confirmés par la méthode de co-chromatographique conformément à la décision 657/2002 / CE ([Baggio et al., 2009](#)).

#### 5.2.2.4. Résidus de Tétracyclines

Cette méthode permet la détermination des tétracyclines (tétracycline, l'oxytétracycline, la chlorotétracycline et la doxycycline) dans le miel dans la gamme de concentrations allant de 3 à 30 ng / g. Un échantillon de miel (5 g) a été dissous avec 25 ml de tampon d'extraction (de l'acide succinique 0.1 M, pH 4). La solution d'échantillon a été agitée par tourbillonnement et ensuite centrifugée pendant 10 min à 4000 g. La couche de surnageant a été récupéré et purgé dans une cartouche colonne d'affinité de chélation de métal (MCAC). Les tétracyclines ont été éluées avec une solution Mc Ilvaine EDTA (acide citrique, le phosphate acide disodique, l'EDTA et le chlorure de sodium).





La cartouche MCAC a été préparée en remplissant avec de la résine fast-flow Sepharose (1,5 ml) et conditionné avec une solution de sulfure de cuivre (0.01 M), l'analyse quantitative de tous les résidus de tétracycline est réalisée avec la technique HPLC-MS selon [Gallina et ses collaborateurs \(2005\)](#), [Cristofani et ses collaborateurs \(2009\)](#), [Baggio et ses collaborateurs \(2009\)](#), avec quelques modifications, par HPLC SHIMADZU couplé à un révélateur UV LCMS-2010 et de la colonne chromatographique C18MS (100mmx2.1) 5um X TERRA (Waters).

La vitesse d'écoulement de 0.6 ml / minute, le volume d'injection: 20 µl, à la température ambiante avec un gradient pour l'élution de la phase mobile consistant en 0.5% d'acide formique + méthanol + acétonitrile (50/50). La longueur d'onde utilisée pour détecter la tétracycline était de 365 nm.

Les résultats positifs ont été confirmés par la méthode de co-chromatographique conformément à la décision ([Baggio et al., 2009](#)).

Les solutions standards ont été obtenues par la société Sigma-Aldrich. Les solvants utilisés sont de qualité HPLC (99.9%) et les autres produits chimiques étaient de qualité analytique auprès de Sigma-Aldrich (Milan, Italie). Avant d'être appliquée pour les analyses HPLC, toutes les solutions ont été filtrées par des micro-filtres (4.5 µm).

#### 5.2.2.5. Dosage des métaux lourds

Entre 250mg à 300mg d'échantillon de miel ont été digérés par acide en utilisant un mélange de HNO<sub>3</sub>: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: HClO<sub>4</sub> (10: 1: 0.5; v / v / v) pendant 2 h 30 min à 110 C.

Après refroidissement, les produits de digestion ont été filtrés et dilué avec de l'eau distillée à 50 ml. Les concentrations totales de Co, Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Cr et Pb ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique (Perkin Elmer PinAAcle 900T, USA) au niveau de l'unité de service communs pour la recherche Spectroscomètre d'absorption Atomique, Faculté des Science de Bizerte, Tunisie.

Les blancs ont été traitées comme décrit ci-dessus, et utilisés pour détecter possible contamination croisée ([Sghaier et al., 2015](#)).





## 5.3 Résultats et discussion

### 5.3.1. Intensité de couleur : $ABS_{635nm}$

Un facteur important dans le classement de miel est la désignation de la couleur. Comme la couleur est une caractéristique importante utilisée par les producteurs, conditionneurs et les utilisateurs finaux, sa mesure est essentielle dans les processus de contrôle de la qualité. En effet, on estime que 75% des utilisateurs industriels comprennent des spécifications de couleur dans leurs désignations; les utilisations typiques sont les colorants et les agents de brunissement dans divers produits alimentaires. En outre, il y a un lien avec la saveur car les miels de couleur clair sont doux alors que les types les plus sombres ont des saveurs plus fortes.

À l'origine un dispositif optique simple, le niveleur de couleur *Pfund*, a été largement utilisé, qui compare le miel avec un coin de verre ambre fixe et les mesures ont été incorporées dans diverses normes.

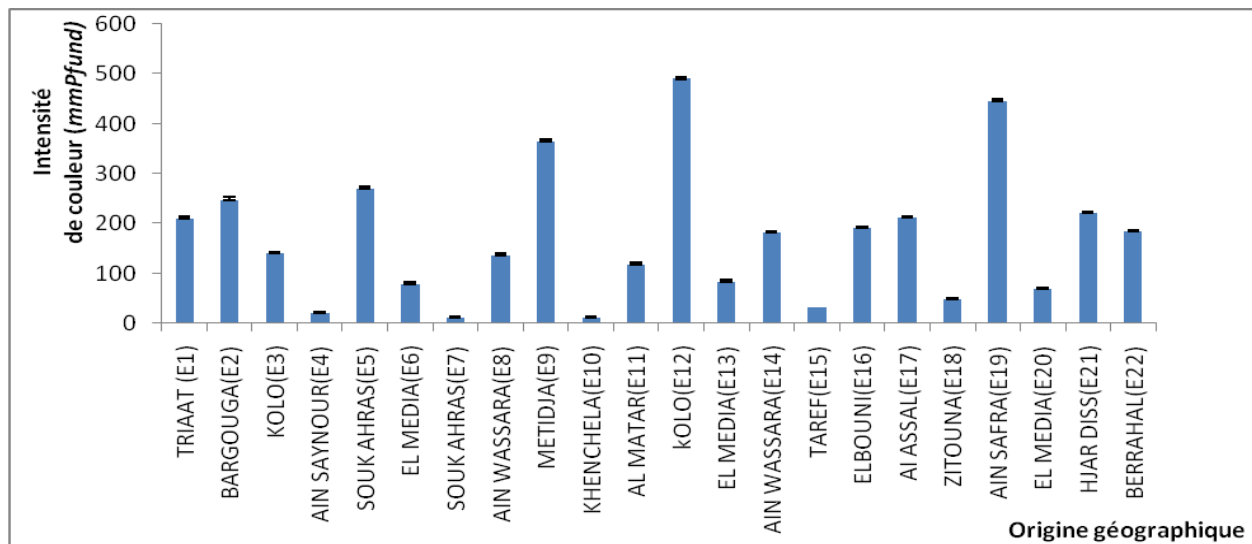
En effet, lors de la collecte des échantillons de miel, nous avons observé une différence évidente dans leur intensité de couleur. Pour classer les échantillons de miel selon la couleur, une méthode qui est facilement mise en œuvre a été utilisée. Le miel peut avoir des couleurs différentes allant du jaune clair à l'ambre, et de l'ambre foncé à presque noir avec un soupçon de rouge. Cette propriété est liée aux contenus en minéraux, le pollen et les composants phénoliques présents dans le miel et qui varie en fonction de l'origine géographique et les variétés botaniques visitées par les abeilles ([Ramalhosa et al., 2011](#)).

En outre, la couleur du miel peut être aussi influencée par la méthode de production et les pratiques agricoles ([Almeida-Muradian et al., 2013](#)). Certains changements se produisent également pendant le stockage; brunissement / assombrissement de miel est due à des réactions de Maillard, caramélisation du fructose et les réactions polyphénoliques, en fonction de la température et / ou de la durée de stockage ([Bertoncelj et al., 2007](#) ; [Moo-Huchin et al., 2015](#)) .

Dans notre étude, la valeur de la couleur varie de 11.92 à 490.4 *mmPfund* avec une moyenne de  $171.75 \pm 1.43$  *mmPfund* (Fig. 66).

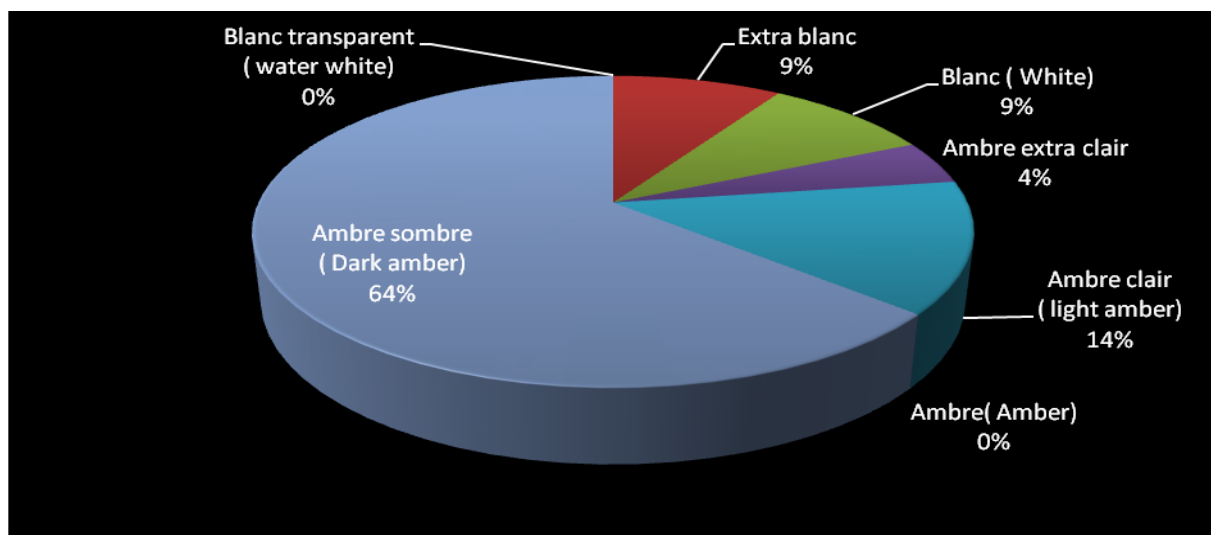




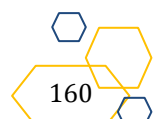


**Figure66 :** Variation de l'intensité de couleur en fonction des échantillons étudiés

Nous pouvons constater que 64% des échantillons étudiés étaient de couleur sombre **Ambre sombre (Dark amber)** c'est à dire  $>114$  mmPfund (Fig.67). 14% Ambre clair, 9% blanc et extra blanc et 4% ambre extra clair. Cependant, aucun miel n'avait une couleur de blanc transparent ou ambré. Sachant qu'un miel de même origine géographique peut avoir deux couleurs différentes et c'est l'exemple de des échantillons issus de la wilaya de Taref (E15, E17, E18).



**Figure67 :** Distribution des échantillons selon l'échelle Pfund





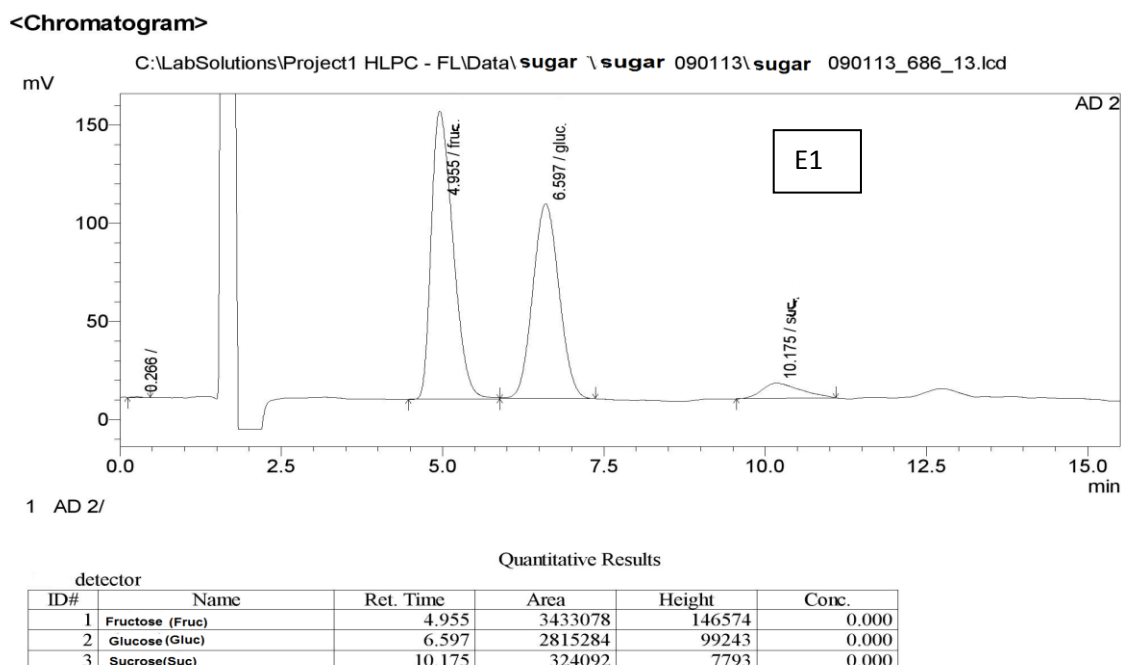
Ce résultat est semblable à celui de [Pontis et ses collaborateurs \(2014\)](#). En effet, l'intensité de couleur dépend de divers facteurs, en étant la teneur en minéraux; contenu cendres ([Al et al., 2009](#)) et de pigments tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes ([Yao et al., 2004](#)). En générale, les miels sombres sont les plus riches en sels minéraux ([Terrab et al., 2004](#); [Escuredo et al., 2012](#)).

[Singh et Bath \(1998\)](#) ont indiqué que la teneur en HMF dans le miel corrobore bien avec la valeur de couleur mesurée en densité optique.

Il n'existe aucune législation ou réglementation concernant les couleurs des miels, ce qui justifie la nécessité de nouvelles études.

### 5.3.2. SUCRES : glucose, fructose, saccharose et sucre réducteurs

Le glucose et le fructose sont les principaux sucres dans le miel et leur proportion réelle dépend en grande partie sur la source du nectar ([Anklam, 1998](#)). Les sucres de miel ont été déterminés par HPLC et un exemple de chromatogramme est présenté par la figure68. Les résultats de l'analyse des sucres pour les 22 échantillons sont présentés dans le tableau (Tab.13).



**Figure68** : Chromatogrammes des sucres de miel algérien (exemple de l'échantillon E1).



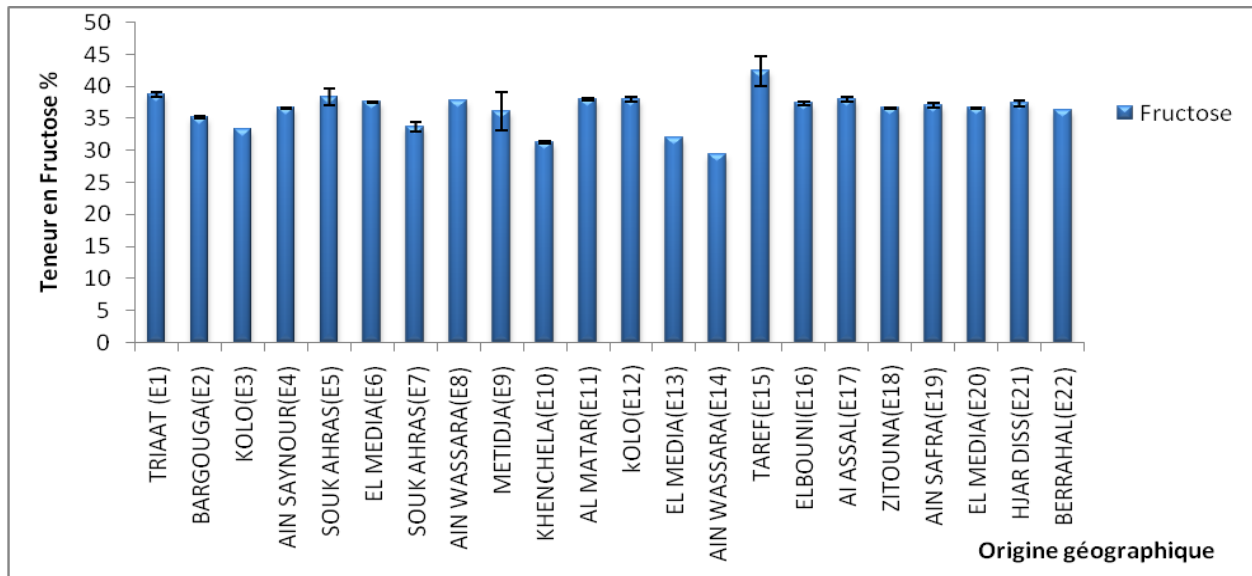
**Tableau13** : Résultats des sucres pour les échantillons étudiés

| Ech.                                                | Saccharose (%) | Fructose (%)        | Glucose (%)         | Sucres réducteurs | ratio F/G           |
|-----------------------------------------------------|----------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
|                                                     |                |                     |                     | (%)               |                     |
| E1                                                  | 3.4±0.15       | 38.72±0.53          | 32.47±0.25          | 71.49±0.007       | 1.19±0.006          |
| E2                                                  | 3.09±0.09      | 35.20±0.16          | 30.16±0.27          | 65.58±0.02        | 1.16±0.01           |
| E3                                                  | 6.30±0.14      | 33.33±0.06          | 37.65±0.00          | 71±0.00           | 0.88±0.001          |
| E4                                                  | 2.49±0.16      | 36.61±0.02          | 28.05±0.21          | 64.88±0.31        | 1.30±0.006          |
| E5                                                  | 7.11±0.78      | 38.40±1.34          | 31.17±0.12          | 69.59±0.01        | 1.23±0.02           |
| E6                                                  | 2.68±0.14      | 37.55±0.04          | 32.28±0.04          | 69.82±0.03        | 1.16±0.00           |
| E7                                                  | 6.02±0.24      | 33.69±0.79          | 37.079±0.03         | 70.79±0.01        | 0.90±0.01           |
| E8                                                  | 3.70±0.24      | 37.88±0.017         | 29.37±0.04          | 67.22±0.03        | 1.28±0.00           |
| E9                                                  | 4.00±0.17      | 36.21±2.99          | 30.91±0.58          | 68.66±0.65        | 1.17±0.07           |
| E10                                                 | 12.39±0.25     | 31.22±0.15          | 31.67±0.12          | 62.74±0.2         | 0.98±0.000          |
| E11                                                 | 2.19±1.18      | 37.98±0.23          | 30.36±0.07          | 68.32±0.03        | 1.25±0.006          |
| E12                                                 | 2.71±0.11      | 38.07±0.38          | 32.20±0.31          | 70.29±0.01        | 1.18±0.01           |
| E13                                                 | 5.90±0.32      | 31.94±0.01          | 30.71±0.06          | 62.43±0.3         | 1.04±0.001          |
| E14                                                 | 14.93±0.28     | 29.33±0.02          | 31.98±0.07          | 61.36±0.05        | 0.91±0.001          |
| E15                                                 | 1.57±0.14      | 42.39±2.35          | 36.89±0.42          | 79.29±0.007       | 1.14±0.04           |
| E16                                                 | 2.02±0.76      | 37.39±0.27          | 31.00±0.31          | 68.09±0.007       | 1.20±0.004          |
| E17                                                 | 2.71±0.11      | 38.07±0.38          | 32.20±0.31          | 70.29±0.01        | 1.18±0.01           |
| E18                                                 | 2.49±0.16      | 36.61±0.02          | 28.05±0.21          | 64.88±0.31        | 1.30±0.006          |
| E19                                                 | 2.72±0.18      | 37.14±0.37          | 33.88±3.23          | 72.07±3.92        | 1.1±0.09            |
| E20                                                 | 5.00±0.01      | 36.65±0.067         | 29.56±0.99          | 66.21±0.01        | 1.24±0.02           |
| E21                                                 | 3.91±0.17      | 37.37±0.50          | 30.80±0.93          | 68.18±0.02        | 1.21±0.01           |
| E22                                                 | 2.98±0.11      | 36.23±0.01          | 29.56±0.10          | 65.78±0.02        | 1.22±0.001          |
| <b>Limites standards internationale (Codex, EU)</b> |                |                     |                     |                   |                     |
| <b>Codex EU</b>                                     | ≤5             | Aucune limite fixée | Aucune limite fixée | ≥60               | Aucune limite fixée |



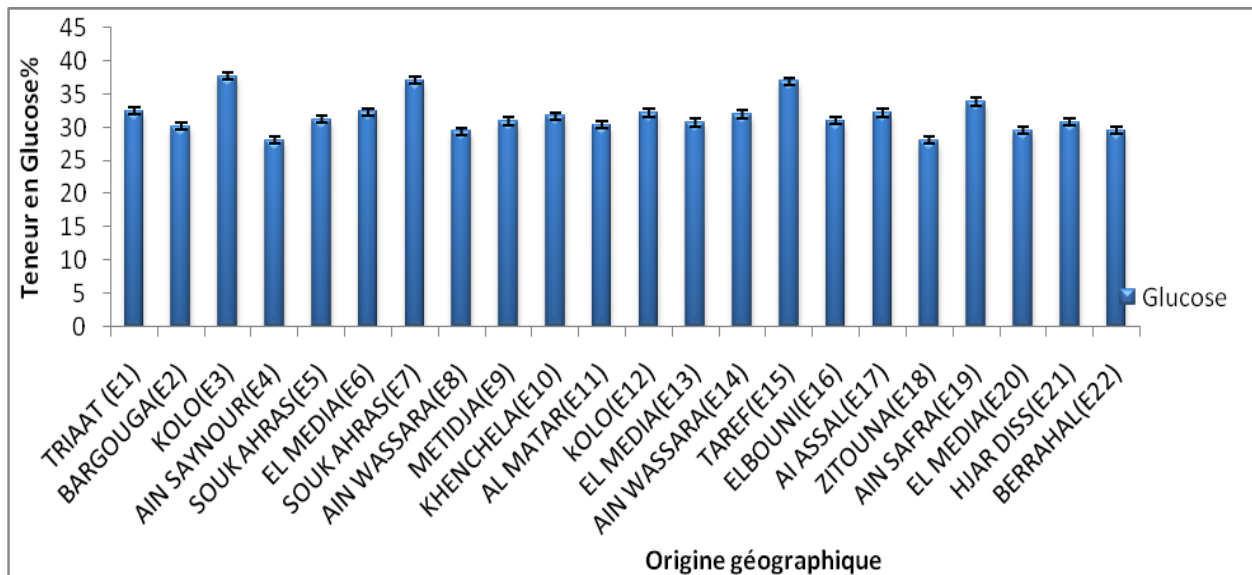


Les résultats ont montré que la teneur en fructose varie de 29.33 à 42.39%, avec une moyenne de  $36.27 \pm 0.78\%$  (Fig.69).



**Figure69 :** Variation de la teneur en fructose en fonction des échantillons étudiés

Les teneurs en glucose des échantillons étaient dans une plage de 28.05 -37.65% avec une valeur moyenne de  $31.72 \pm 0.68\%$  (Fig.70). Dans notre étude, 82% des échantillons de miel analysés avaient le fructose comme sucre dominant.

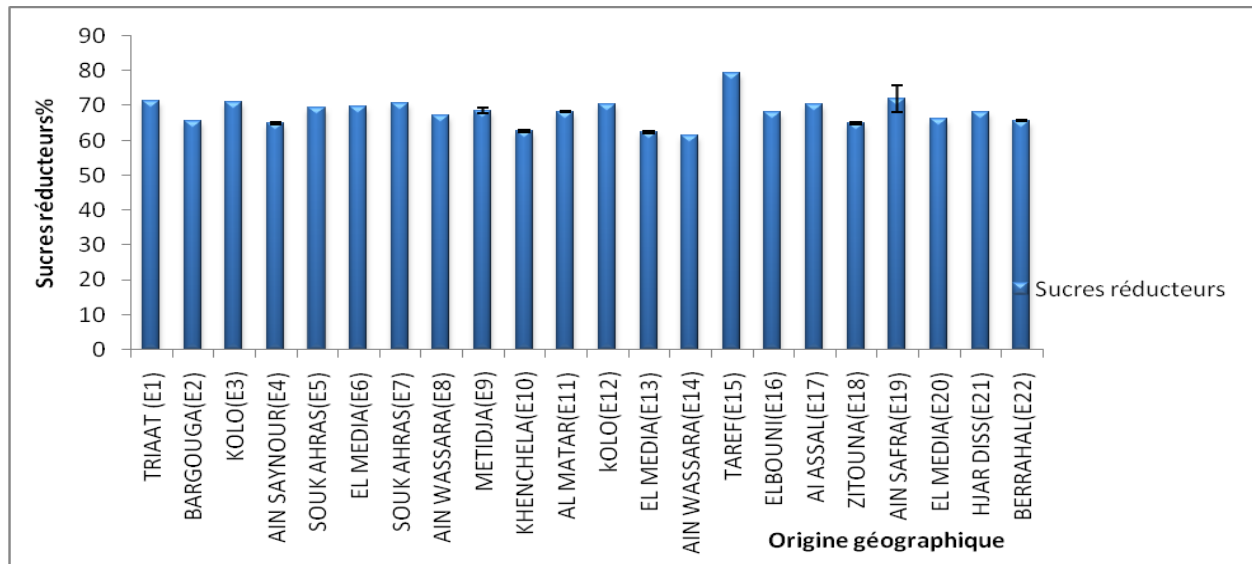


**Figure70 :** Variation de la teneur en glucose des échantillons étudiés





En ce qui concerne les sucres réducteurs (glucose et fructose), la CE impose, selon la directive 2001/110 CE que les teneurs en sucres réducteurs doivent être  $\geq 60$  g / 100 g, sauf pour le miel de miellat, qui est  $\geq 45$  g / 100 g.

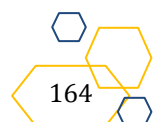


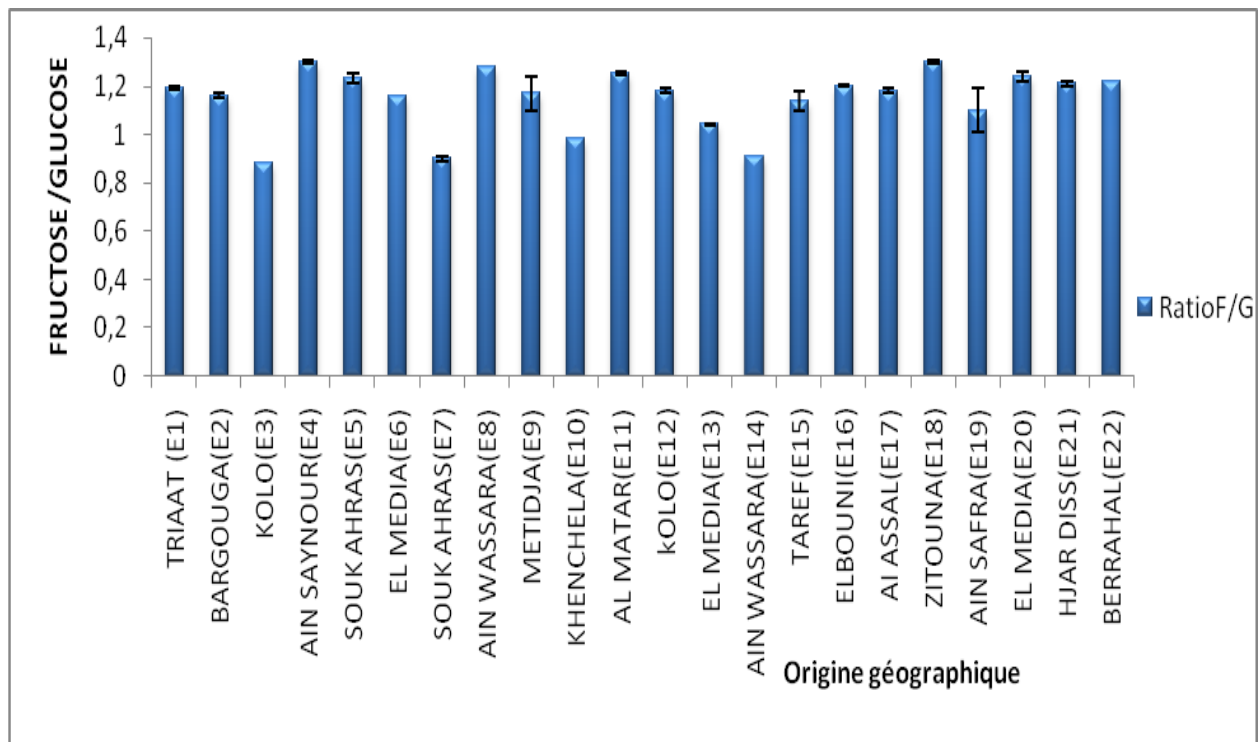
**Figure71 :** Variation de la teneur en sucre réducteurs des échantillons étudiés

Les teneurs en sucres réducteurs des échantillons étudiés varient de 61.13 et 79.29 g / 100 g avec une moyenne de  $68.13 \pm 3.94$  g / 100 g (Fig.71). Nos résultats répondent à cette norme et sont semblables à d'autres niveaux publiés pour sucres réducteurs. En outre, la teneur en sucres réducteurs du miel testé était similaire avec les résultats d'autres miels algériens précédemment étudiés (Ouchemoukh et al., 2007; Khalil et al., 2012).

Le rapport fructose / glucose pour les échantillons étudiés se situent entre 0.88 et 1.3 avec une moyenne de  $1.14 \pm 0.02$  (Fig. 72), indiquant leur origine florale, car il est connu que les miels de fleurs ont un rapport fructose / glucose d'environ 1, tandis que dans les miels de miellat le ratio varie entre 1.5 et 2.0 (Gleiter et al., 2006; Kivima et al., 2014).

En outre, le rapport fructose / glucose a été calculé pour les 22 échantillons de miel. Ce rapport raconte l'état de cristallisation des miels, qui est, lorsque le fructose est plus élevé que le glucose le miel est fluide (Ouchemoukh et al., 2010). Par conséquent, 18 échantillons examinés de miel algériens étaient fluides (rapport supérieur à 1).



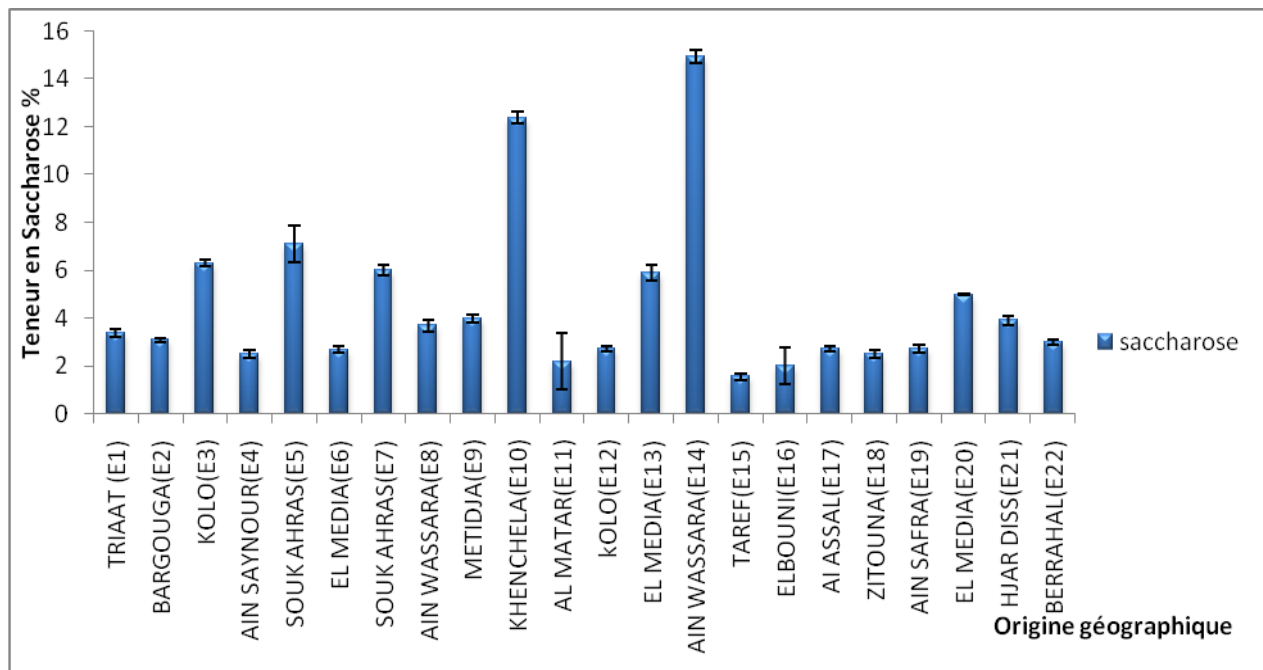


**Figure72:** Variation de ratio fructose /Glucose des échantillons étudiés

La teneur en saccharose des échantillons de miel analysés dans cette étude varie entre 1.57 à 14.9 g / 100 g avec une valeur moyenne de  $4.55 \pm 0.28$  g / 100 g ( Fig.73). Les variations dans les niveaux de saccharose peuvent être révélatrices de l'effet de différence des régions sur les variations de composition des miels (Moniruzzaman et al., 2013).

Cependant, six échantillons ne sont pas en conformité avec la norme internationale ( $\leq 5$  g / 100 g). Des teneurs élevées de saccharose pourraient être le résultat d'une récolte précoce de miel, ou le saccharose n'a pas été converti entièrement en fructose et en glucose (Azeredo et al., 2003 ; Ahmida et al.,2013) sous l'action de l'invertase. Cette valeur indique probablement que l'apiculteur a utilisé du sirop de saccharose comme nourrissage des abeilles pendant les périodes de disettes (Chefrour et al., 2009).





**Figure 73:** Variation de la teneur en saccharose des échantillons étudiés

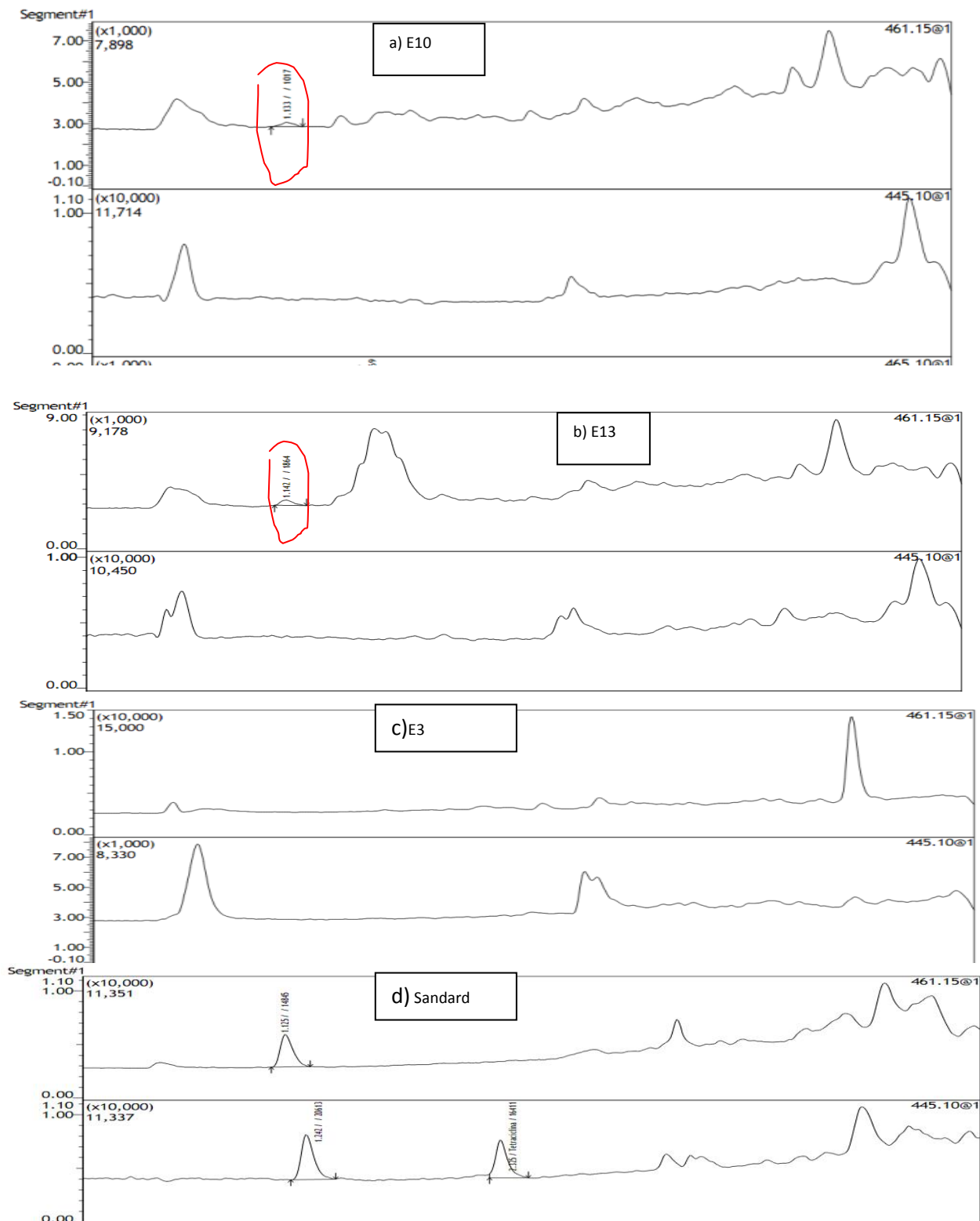
### 5.3.3. Recherche et dosage d'antibiotique

Les analyses effectuées pour la détection des résidus de tétracycline par LC / MS et de la streptomycine dans le miel par HPLC n'ont révélé que la présence de traces négligeables de l'oxytétracycline (Fig.74a.b) dans deux échantillons de miel (0.03 ppm). Tous les autres échantillons ont été négatifs pour les deux antibiotiques (Fig. 74, 75). Compte tenu de l'absence des limites maximales de résidus (LMR) fixées pour le miel, le seuil de détection a été considéré comme le seuil de positivité: 15 mg / kg pour la tétracycline et 10 mg / kg pour la streptomycine (Beneddouch et Dahmani, 2011).

Par contre, en Europe un manque d'harmonisation entre les différents pays dans ce domaine est inscrit. Par exemple, en Belgique, le seuil d'intervention pour les substances antibactériennes est fixé à 20 ng / g. En Suisse et au Royaume-Uni, la limite d'action appliquée pour la tétracycline (TC) est de 20 ng / g, respectivement (Bogdanov, 2006; Baggio et al., 2009).

Les antibiotiques sont utilisés dans l'apiculture comme traitement antibactérien contre la loque américaine (AFB). Les médicaments antimicrobiens sont efficaces contre les maladies de la loque; Cependant, les résidus de médicaments antibiotiques dans le miel constituent un risque potentiel pour la santé humaine.

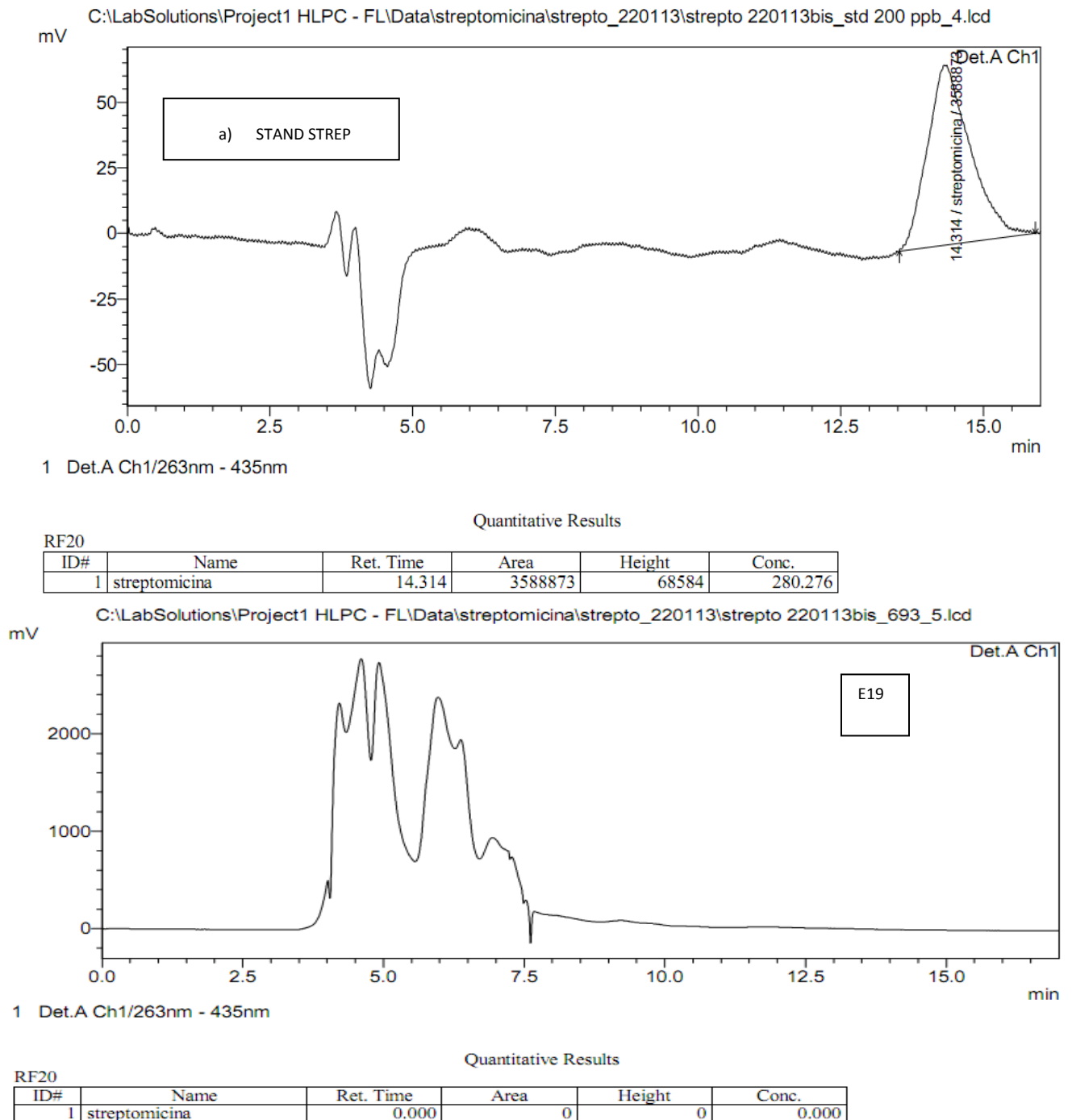




**Figure74:** Chromatogrammes de résidus de tétracycline par LC / MS de miel algérienne (a) (b) Exemple de l'échantillon E10, E13 avec présence de trace d'oxytétracycline (c), Échantillon E3 montrent une absence de résidu,(d) Standard de tétracycline







**Figure 75.** Chromatogrammes de streptomycine par HPLC dans miels algériens (a) Standard de streptomycine. (B) Exemple de miel algérien (E19) exempt de la streptomycine.

Ces résidus d'antibiotiques ont des effets toxiques aigus et chroniques sur la santé humaine et réduisent aussi l'efficacité et la qualité du miel (Zai *et al.*, 2013, Abdulwahid *et al.*, 2010).





D'autre part, pour protéger l'image du miel comme un produit sain et naturel, la présence de ces bactéricides est interdites dans le miel (Michel et al., 2004).

#### 5.3.4. Dosage de métaux lourd

La teneur en minéraux est un indice important d'une possible pollution de l'environnement et constitue également un indicateur potentiel de l'origine géographique du miel (Anklam, 1998). La pollution de l'eau, sol et de l'air peut augmenter les niveaux de minéraux dans le miel (Nabi shah et al., 2013) . En effet, l'air et le sol contiennent des métaux lourds, principalement issue de l'industrie et de trafique routier, qui peuvent également contaminer la colonie d'abeille et ses produits (Bogdanov, 2006).

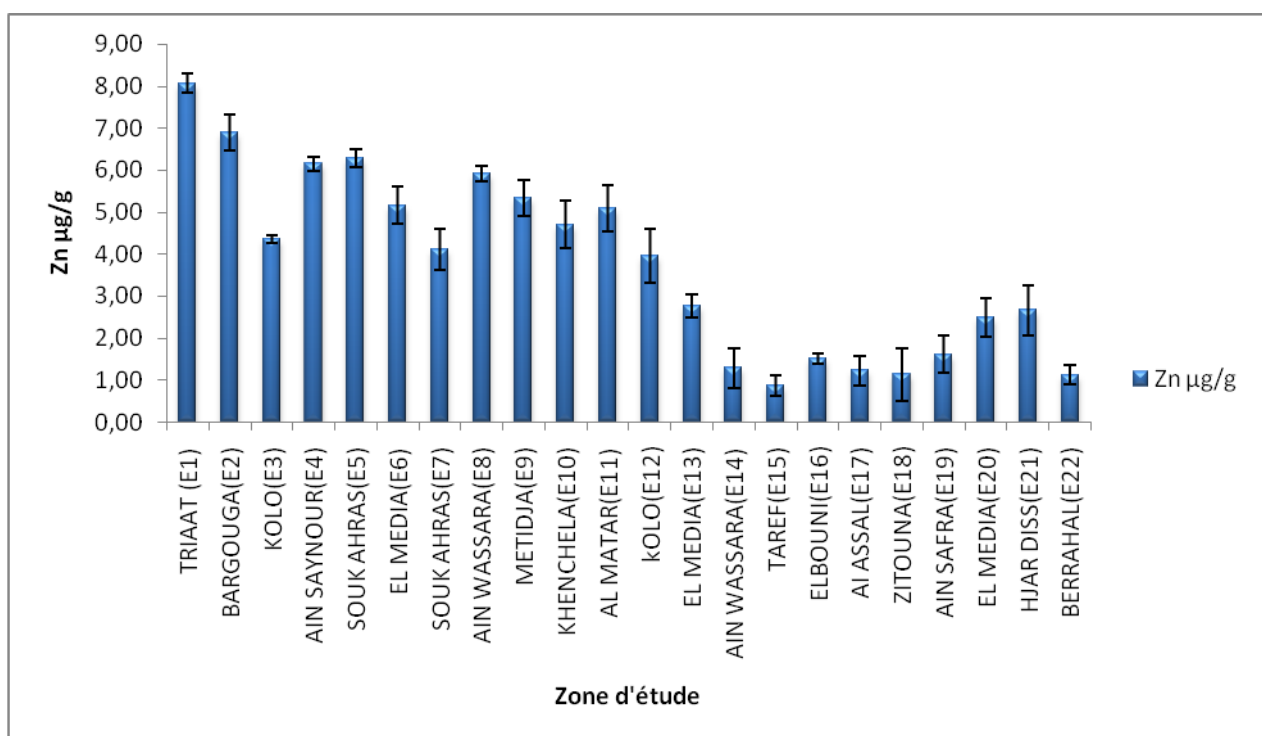
- **Teneur en Zinc**

Les teneurs obtenues montrent que le zinc est pratiquement présent dans toutes les variétés de miels étudiées avec une valeur moyenne de  $3.76 \pm 0.17$  mg/Kg (Fig.76). Elle est significativement plus élevée dans le miel (E1) d'agrumes de la région de Triaat, Annaba (8.07 mg/Kg), tandis que la teneur la plus faible (0.87 mg/Kg) est observée pour le miel d'agrumes (E15) issu de la wilaya de Taref, région Boutheldja. Cependant, Yaiche Achour et Khali (2014) ont trouvé des valeurs plus élevées que les notre avec une valeur moyenne de 11.04 mg/Kg et que les valeurs obtenues sont significativement plus élevées dans le miel d'oranger de la région de Mitidja (14.51 mg/Kg), tandis que, la teneur la plus faible (8.02 mg/Kg) est observé pour le miel toutes fleurs provenant de Médéa. Nos résultats concordent avec les résultats de Chakir et ses collaborateurs (2011) pour les miels de *Citrus* et *Eucalyptus* originaire du Maroc avec des moyennes de  $3.63 \pm 2.99$  mg/Kg et  $4.18 \pm 3.67$  mg/Kg respectivement et avec le résultat de Sitarz-Palczak et ses collaborateur (2015) montrant une teneur en Zn de 2.96 à 42.18 mg / kg. En outre des teneurs en zinc ont été trouvées pour des mélanges de miel de fabrication commerciale (0.283- 11.599 mg / kg) avec certaines valeurs aberrantes apparues dans le groupe d'échantillons de miel polyfloraux avec une teneur de 18.89 mg / kg de Zn (Vincevica-gaile et al., 2012). L'analyse de miel dans le pays Lituanie a révélé la contamination de miel avec Zn jusqu'à 41,25 mg / kg dans un cas où l'échantillon de miel ont été maintenus dans un récipient recouvert de zinc. (Joudisius et Simoneliene, 2009).





Ces résultats sont supérieurs aux valeurs trouvées par d'autres chercheurs du monde comme pour le comté de Sienne en Italie (1.820 mg/kg) (Pisani et Riccobono, 2008), l'Italie (3.205 mg/kg) (Buldini *et al.*, 2001), Slovénie (3.61 mg/kg) (Golob *et al.*, 2005), Chine (1.3295 mg/kg) (Ru *et al.*, 2013), la Nouvelle-Zélande (1.18 mg/kg) (Downey *et al.*, 2005), Taiwan et la Chine continentale (0.996 mg/kg) (Gonzalez Paramas *et al.*, 2008). Les teneurs en Zn reportées pour des miels de Czech varient de 0.40 à 3.42 ppm (Lachman *et al.*, 2007). Przybytowski et Wilczynska (2001) ont obtenu des niveaux significativement plus élevés de Zn dans des échantillons de miel polonais (22.3 mg/g), dépassant la limite de la norme polonaise de 15 mg / kg.



**Figure76:** Les teneurs en Zinc (mg/Kg) dans les échantillons de miel

La littérature attribue ce fait à la présence aléatoire de cet élément dans l'environnement, soit en tant que polluants ou comme constituants naturels des fleurs. De même, les teneurs élevées en fer et en zinc, responsables du goût de métal du miel, proviennent principalement de récipients à miel inappropriés (Bogdanov, 1995) c'est-à-dire que le stockage du miel dans des conteneurs galvanisés peut être considéré comme une source de contamination par le zinc.





(Bogdanov *et al.*, 2003 ; Yaiche Achour et Khali 2014) . Ce qui approuve l'importance des matériaux d'équipements utilisés pour le stockage et le traitement du miel.

Les différences significatives dans la valeur de cet élément peuvent être dues à différentes conditions climatiques et différence de sol, ainsi que les différents niveaux de pollution de l'environnement (Sitarz-Palczak *et al.*, 2015).

- **Teneur en fer :**

Concernant les teneurs en fer, nous avons trouvé des valeurs entre 60.62 et 201.07 mg/Kg avec une moyenne de  $103.51 \pm 6.64$  mg/Kg (Fig.77). Ces valeurs sont largement supérieures à celles trouvées par Yaiche Achour et Khali (2014) qui étaient de 1.95mg/kg à 6.37mg/kg mais semblable aux résultats de Rashed et Soltan (2004) limités entre 58 à 202 mg/kg pour des miels originaire de l'Egypte et de  $162.31 \pm 49.21$  avec un intervalle de 55.83–233.00 mg/kg et une valeur de  $216.97 \pm 10.27$  mg/kg pour les miels Malaisien et le miel de Manuka respectivement (Moniruzzaman *et al.*, 2014). Des échantillons de miels ont montré des valeurs moyenne de 15,043 mg/kg pour des miels Italien (Perna *et al.*, 2012). Le même auteur a trouvé une grande variabilité de la teneur en Fe, certainement à cause des origines botaniques différentes, les valeurs diminues dans l'ordre suivant: 27.294 mg/kg (châtaignier) <14.213 mg/kg (sulla) <12.477 mg/kg (agrumes) <11.610 mg/kg (polyfloral) < 9.624 mg/kg (eucalyptus). Ceci peut être expliqué en tenant compte du fait que, parmi les oligo-éléments, le fer est le plus important pour la classification des miels mono-florales, parce qu'il est un micronutriment qui joue un rôle important dans les plantes (Bogdanov *et al.*, 2007).

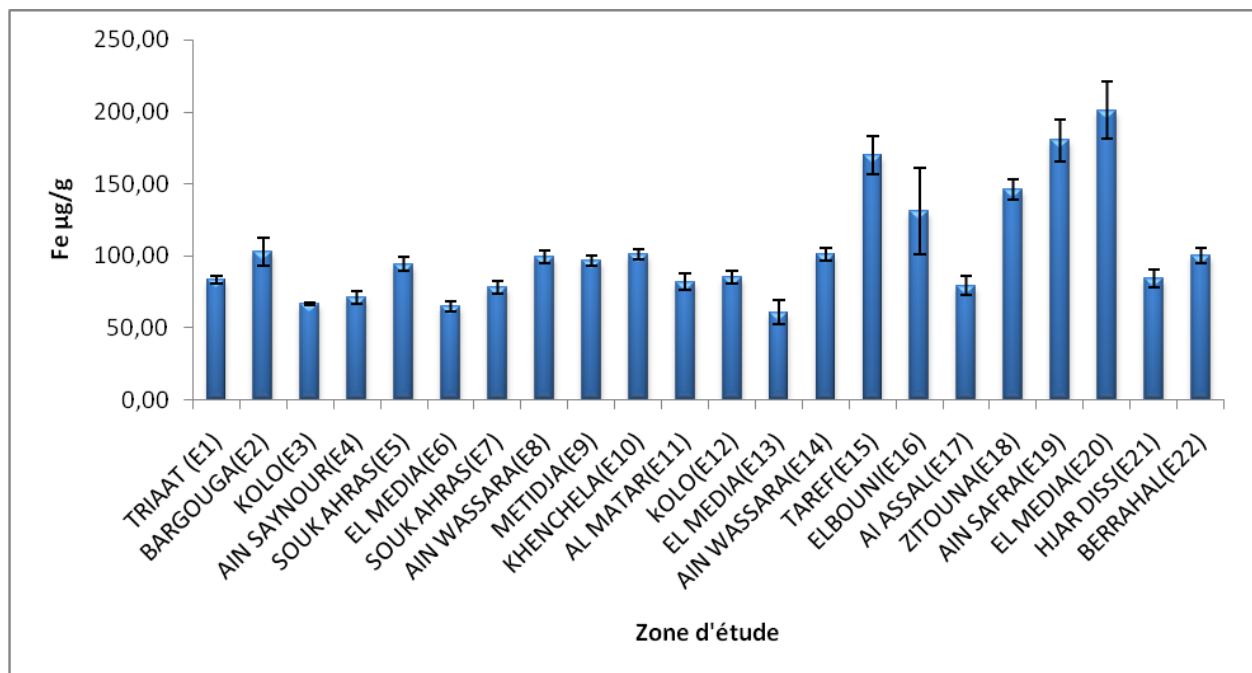
Pour nos miels étudiés cas de miel (E2) région Bargouga, (E11) Al Matar, (E21) Hjar Diss, (E16) El Bouni, wilaya d'Annaba, le contenu métallique élevé peut être expliqué compte tenu de la pollution développé par l'usine métallurgique Arcelor métal situé à proximité de la zone où les ruchers ont été placées, autrement dit, c'est à cause de la direction des vents dominants (d'Ouest en Est) qui transportent les émanations de poussière de produits ferreux produits par l'usine sidérurgique vers la partie Est de la région d' Annaba et aussi due à l'hydrodynamisme particulier à cette partie du golfe qui reçoit les courants de Nord Est et favoriserait ainsi la dissémination du fer car selon les travaux de Louhi et ses collaborateurs (1998) signalent de fortes teneurs en fer, dans les eaux de Meboudja situées à proximité du complexe sidérurgique; ces teneurs élevées auraient pour origine les poussières de minerai de fer qui





au contact de l'eau et dans certaines conditions oxydo- réductrices donneraient du fer ferreux soluble ; avec la distance parcourue, les conditions oxydo- réductrices (rôle du carbone organique, ammoniacque et sulfate), du fer ferreux soluble baissent provoquant à nouveau la précipitation de  $\text{Fe}^{2+}$  sous forme d'hydroxydes.

En plus, le sol est probablement polluée par des métaux lourds Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Cr (Farcail *et al.*, 2009) et la traçabilité fonctionne le long de la chaîne sol-plantes-abeilles miel (Bodea *et al.*, 2009 ; Mihaly Cozmuta *et al.*, 2011) .



**Figure77 :** Les teneurs en Fer (mg/Kg) dans les échantillons de miel

Concernant les autres échantillons les valeurs élevée peuvent probablement parvenir dans le miel à partir de matériaux d'emballage inappropriés, d'outils apicole de même que directement de l'environnement. La concentration de fer élevée dans les échantillons E15, E19 et E 20, est due au fait que l'extraction des miels est effectuée par des anciens extracteurs de tôle galvanisée.

En effet, les principales sources de fer sont l'environnement (sol, poussière, etc.) et l'origine de la transformation. Sachant que l'acidité du miel favorise la corrosion, l'usure et la dissolution des outils d'apiculteurs, l'équipement et les conteneurs en métal de stockage. La teneur en fer influe sur les propriétés sensorielles de miel.



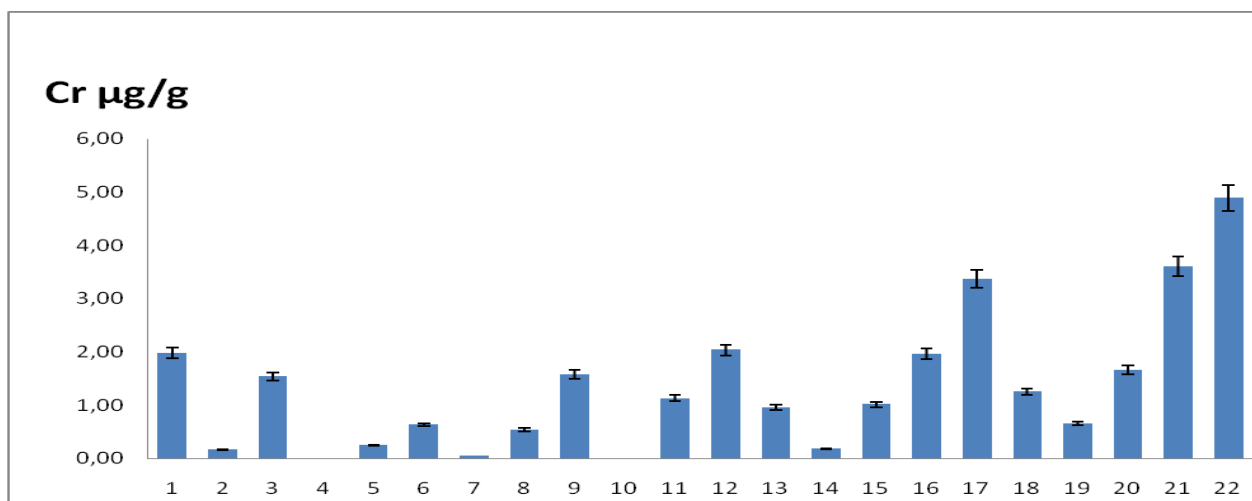


Cependant, la concentration élevée en fer peut conduire à ce qu'on appelle l'effet de thé goudron noir (Merin, 1998).

- **Teneur en chrome :**

Les teneurs en chrome pour l'ensemble des variétés de miels dosées se situent dans l'intervalle de n.d à 4.89 mg/Kg avec une moyenne de  $1.34 \pm 0.90$  mg/Kg (Fig.78). Ce résultat est similaire a une étude effectuée sur des miels originaire de la province de Buenos Aires (Argentine) et qui a révélée des teneurs en chrome entre 0.9 à 6 mg/Kg (Enrich *et al.*, 2007).

En outre, ces teneurs sont largement supérieures à des valeurs annoncées par Yaiche Achour *et Khali* (2014), qui ont trouvé une valeur moyenne de 0.023 mg/Kg pour des miels Algérien ; Chakir *et ses collaborateurs* (2011) qui ont trouvé des valeurs de 0 à 0.262 mg/Kg pour des miels Marocains et des teneurs de 0.521 à 0.889 mg/Kg pour des miels Italien (Perna *et al.*, 2012).



**Figure78:** Les teneurs en Chrome (mg/Kg) dans les échantillons de miel

Toutefois, il semble que les différences de la teneur en Cr dans les différentes zones des échantillons sont dues à des facteurs environnementaux ou géographiques (Bogdanov *et al.*, 2007). Il a été postulé que la teneur en Cr de miel est fonction des conditions climatiques (Petrovic *et al.*, 1994) et que les teneurs élevée sont liées pour l'essentiel à des émissions d'origine industrielle surtout dans la zone de Berrahal .





En effet, les entreprises industrielles de Berrahal (la zone industrielle de Kalitoussa à Berrahal) et de Kherraza sont responsables, dans la majorité des cas, de la présence des éléments toxiques tels les métaux lourds (Cr) en fortes teneurs. Ces industries constituent les principales sources de pollution par le biais des rejets de leurs effluents, les fumées, etc... (Adamo et al., 2002).

Les rejets liquides de quelques entreprises (galvanisation, transformation des métaux, raffinerie,...) qui sont rejetés soit à l'air libre au niveau des oueds ou à proximité du lac Fetzara sont très chargés et constituent une menace pour la santé car les abeilles *Apis mellifera* représentent un détecteur écologique fiable et irréprochable (Porrini et al., 2003). Elle prélève des échantillons dans presque tous les secteurs environnementaux lors de ses activités de butinage, fournissant ainsi plusieurs indicateurs pour chaque saison. Elles peuvent capter les métaux lourds dans l'atmosphère, par les poils dont leur corps est revêtue, et transportés dans la ruche avec le pollen, soit ingérés lorsqu'elles prélèvent le nectar des fleurs, l'eau de flaques, de fossés ou de ruisseaux, ou encore le miellat des aphidius.

En outre, le contact avec des surfaces en acier inoxydable au cours de la récolte, la transformation et/ou la préparation des miels peut le contaminer par le chrome, en raison de l'effet corrosif de l'acidité du miel (Fredes et Montenegro, 2006).

En général, la présence de cet élément peut indiquer une contamination pendant le traitement du miel, transport ou de stockage relié à l'utilisation d'acier ou conteneurs galvanisé (Pohl et al., 2012 ; Conti et al., 2014).

- **Teneur en manganèse :**

Le manganèse est considéré comme un élément de trace essentiel pour une bonne santé et est retrouvé naturellement dans les sols, l'eau des rivières, des lacs et des sources souterraines, dans l'air ambiant de même que dans la nourriture. Chacun d'entre nous est exposé à des traces dans l'air et en consomme par voie orale à travers l'eau et la nourriture tel que le miel. Sachant que l'apport quotidien de manganèse à travers la nourriture est de l'ordre de 1 à 10 mg (ATSDR 2000 ; WHO 1997). L'absorption respiratoire est estimée à moins de 2 µg/jour (WHO 1981).

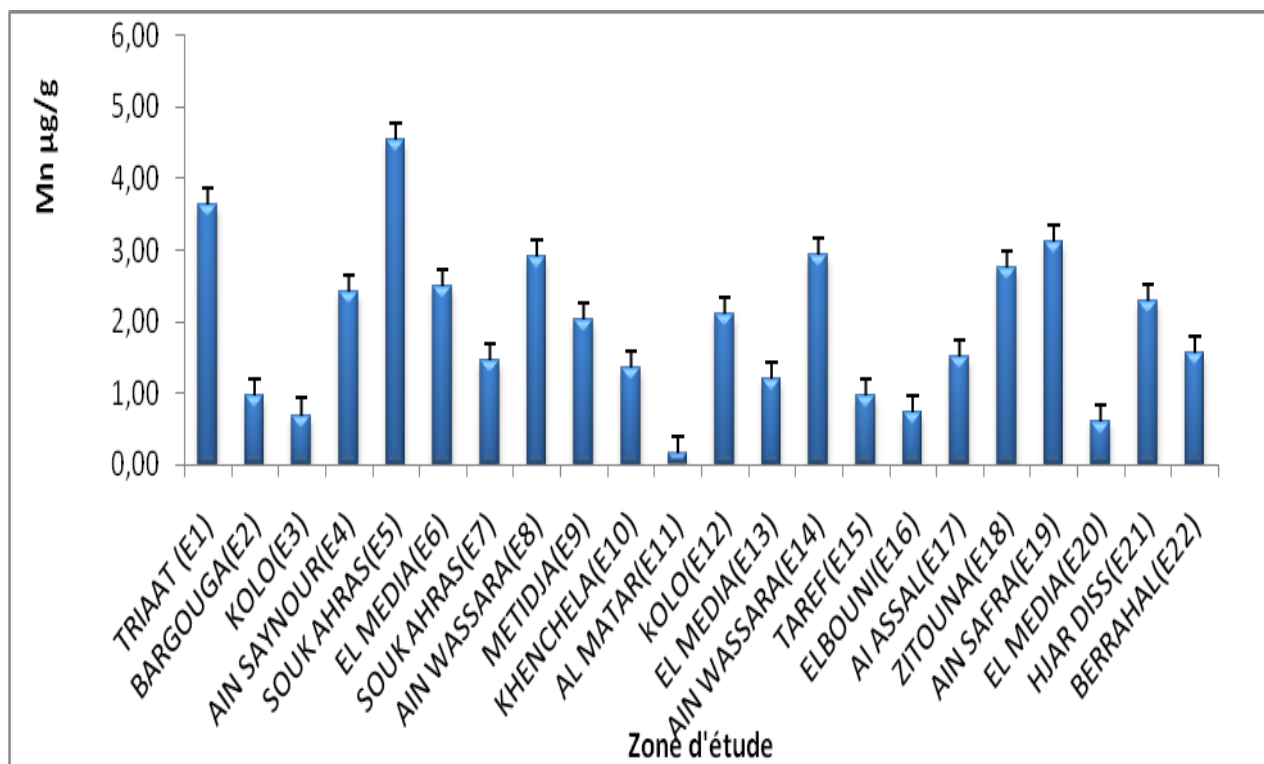
Une surexposition au manganèse peut conduire à une perturbation de contrôle homéostatique et occasionner différents problèmes de santé comme des problèmes pulmonaires, des atteintes du système nerveux et aussi des problèmes de reproduction.





Dans cette étude les teneurs en manganèse varient entre 0.15 et 4.55 mg/Kg ont été décelés pour les miels étudiés, la valeur moyenne de l'ensemble est de  $1.93 \pm 0.47$  mg/Kg (Fig.79). Les concentrations de manganèse trouvées sont en accord avec les résultats de [Belouali et ses collaborateurs \(2008\)](#) (1.41mg/Kg) et de [Chakir et ses collaborateurs \(2011\)](#) (1.507mg/Kg) pour des miels de Maroc ; [Pisani et ses collaborateurs, 2008](#) (1.51mg/Kg) pour des miels italiens.

Des résultats allant de 2.50 à 3.49 mg/Kg ont été décelés pour les miels étudiés par [Yaiche Achour et Khali \(2014\)](#), la valeur moyenne de l'ensemble est de 3.06 mg/Kg et [Derebaşı et ses collaborateurs \(2014\)](#) ont également trouvés des valeurs entre 0 et 5.30 avec une moyenne de 0,32mg/Kg pour des miels de la région de mer noir en Turquie.



**Figure79** : Teneurs en manganèse (mg/Kg) dans les échantillons de miel

- **Teneur en cobalt :**

Concernant le cobalt qui est un métal très dur doué de propriétés magnétiques dont les principaux minerais sont des arséniures, des sulfures et des oxydes. Il est utilisé en raison de ses propriétés, notamment dans l'industrie des superalliages (avec le tungstène et le nickel), dans l'industrie céramique mais aussi dans le meulage de prothèses chirurgicales et dentaires, où il forme des alliages avec d'autres métaux (chrome, molybdène). Le cobalt est aussi un oligo-







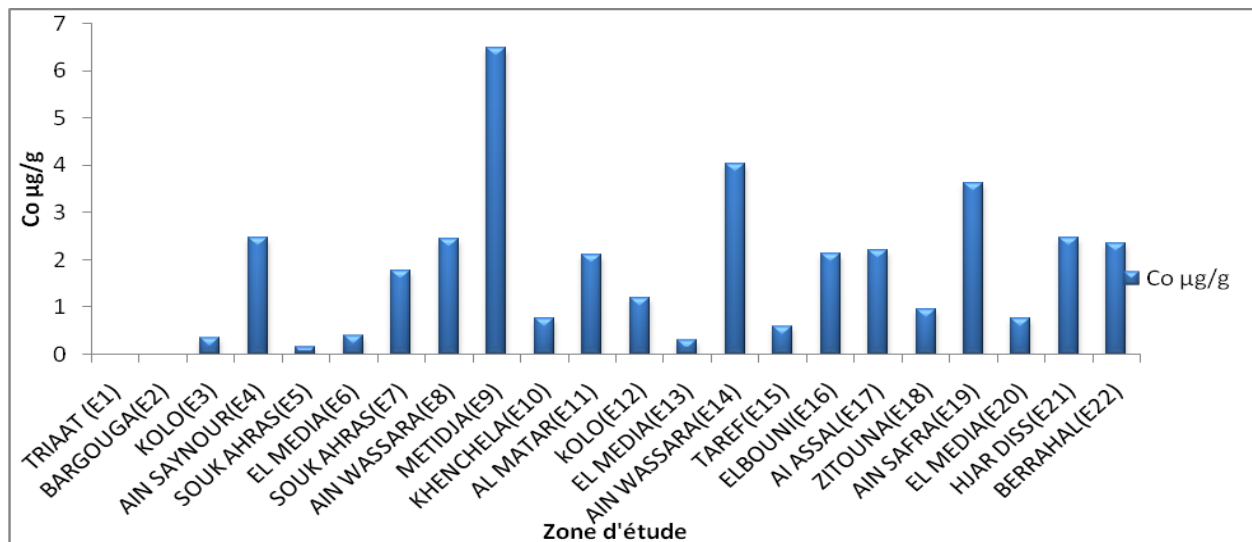
élément ultra-trace indispensable à l'homme dont le rôle biologique est lié à celui de la vitamine B12, mais qui doit être fourni sous forme de vitamine (cyanocobalamine) pour être physiologiquement actif.

Des valeurs entre 0 et 6.48 mg/Kg ont été observées dans cette étude avec une moyenne de  $1.70 \pm 0.80$  mg/Kg (Fig.80). Ce résultat est semblable aux résultats de [Yilmaz et Yavuz \(1999\)](#) avec des valeurs de 1mg/kg pour les miels de la Turquie. [Ozcan et Al Juhaimi \(2012\)](#) ont trouvés des valeurs de 1.22mg/kg pour des miels Indien. Cependant, des faibles concentrations de Co (n.d–0.107mg/kg) ont été observées dans les échantillons de miels issus de Malaisie ([Moniruzzaman et al., 2014](#)).

La forme la plus inquiétante de l'empoisonnement au cobalt se produit, lorsqu'on mange un aliment contaminé par du cobalt inorganique. Une cardiomyopathie et une insuffisance cardiaque congestive ont été reliées au cobalt introduit durant le processus de fabrication de bière (la bière avait une fois de sels de cobalt ajouté comme un stabilisateur de mousse). Alors que le cobalt a été rapporté avoir une toxicité orale faible, deux rapports de la cardiomyopathie, probablement en raison de l'apport de cobalt excessive, ( $\geq 12$  litres / jour) cas des buveurs de bière ([Hokin et al., 2004](#)). Une consommation accrue de ce type d'aliment (cobalt) peut affecter la thyroïde ou provoquer une surproduction de globules rouges consécutive à une activité accrue de la moelle osseuse.

En effet, la dose journalière normale de cobalt a été signalé comme étant dans la plage de 2.5 à 3.0 mg / jour. En revanche, deux échantillons ont dépassé cette marge et qui sont représentés par l'échantillon E9, E14 et E19. Sachant que l'intoxication est observée si on dépasse la gamme de plus de 23-30mg cobalt par jours ([Hokin et al., 2004](#))





**Figure 80:** Teneurs en Cobalt (mg/Kg) dans les échantillons de miel

- **Teneur en plomb :**

Le plomb est un métal lourd d'un gris bleuté et toxique pour les êtres humains. Lorsqu'il est ingéré, ses effets les plus graves s'exercent sur le système nerveux central mais il peut aussi atteindre les globules rouges et le système digestif. Ce sont surtout les enfants qui sont vulnérables. La principale source de contamination du miel par le plomb est le matériel qui contient ce métal. Le miel est un produit acide qui peut réagir au contact de surfaces contenant du plomb. En conséquence, le plomb peut être absorbé par le miel. En raison de l'importance toxicologique de Pb, de nombreuses études ont été menées pour étudier le niveau de cet élément dans les miels de plusieurs pays : Turquie, Egypte, Arabie Saoudite, Maroc, Italie, Algérie et Malaisie (Yilmaz et Yavuz, 1999 ; Rashed et Soltan, 2004 ; Osman et al., 2007 ; Chakir et al., 2011 ; Perna et al., 2012 ; Yaiche Achour et Khali, 2014 ; Moniruzzaman et al., 2014) .

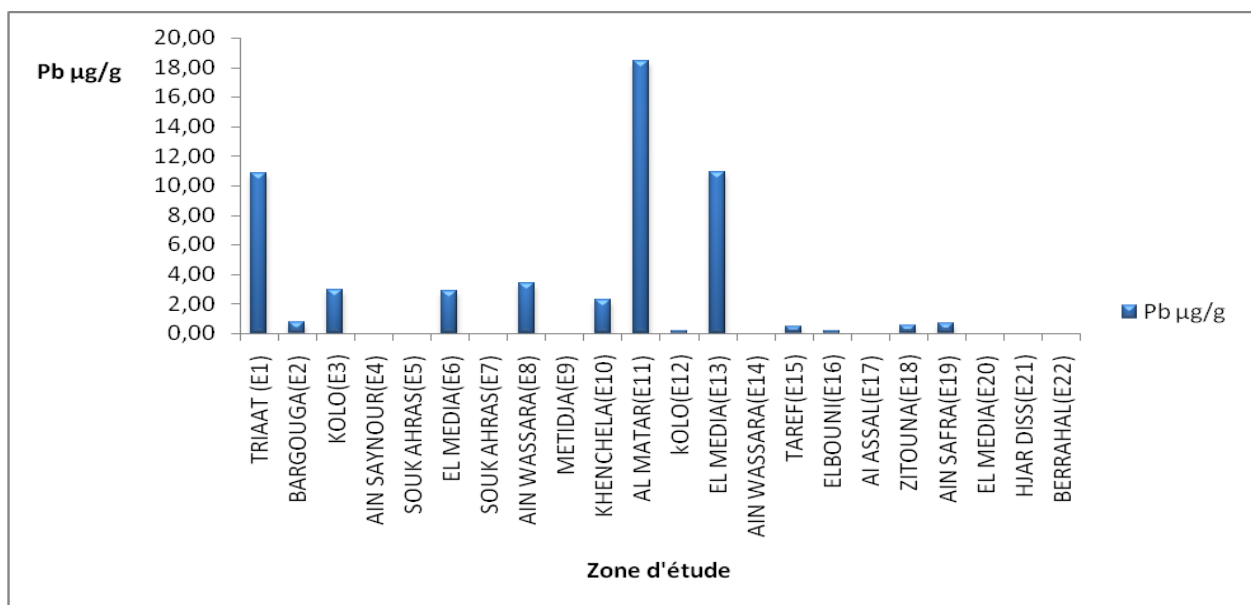
Dans cette étude nous avons trouvé que les valeurs de plomb dans les échantillons étudiés varient entre n.d et 18.40 mg/Kg avec une moyenne de  $2.47 \pm 3.00$  mg/Kg. Cette valeur est supérieure à la limite proposée par l'union Européenne (1 mg/Kg) (Byrne, 2000; Bogdanov et al., 2007). Cette moyenne reste toujours dans la dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de Pb recommandée par l'Organisation mondiale de la Santé pour les adultes (3 mg). Cependant, un niveau inférieur de 0.3 mg recommandée est suggéré





pour les bébés, les enfants et les personnes âgées, ce qui rend certains des miels impropres à être consommé par ces groupes d'âge (Moniruzzaman et al., 2014).

Ces valeurs sont très largement supérieures aux valeurs trouvées par Yaiche Achour et Khali (2014) pour des miels algériens où la valeur moyenne du plomb contenue dans les miels analysés était de 0.22 mg/Kg; Conti et ses collaborateurs (2014) pour le miel d'Argentine avec une valeur de  $0.02 \pm 0.01$  mg/Kg ; Moniruzzaman et ses collaborateurs, 2014 ont trouvés des valeurs en Pb de n.d.–1017 mg/Kg dans des miels issus de Malaisie ; Osman et ses collaborateurs (2007) ont notés des teneurs de 0.038 à 0.08 mg/Kg issus de l'Arabie Saoudite. En outre, des résultats largement supérieures ont été également trouvées par Yilmaz et Yavuz (1999) (4.2-6.3 mg/Kg) pour des miels originaire de Turquie et par Rashed et Soltan (2004) pour des miels égyptiens avec des concentrations de 6.3 ; 5.7 et 4.2 mg/Kg pour le miel de sésame, miel d'orange et miel de trèfle respectivement.



**Figure80:** Teneurs en plomb (mg/Kg) dans les échantillons de miel

Toutefois, les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques, ils proviennent d'abord des industries de première et deuxième fusion du plomb, et au niveau urbain ou routier, des rejets des véhicules à moteur (Pichard , 2003), surtout l'essence au plomb d'autoroutes très fréquentées. C'est ainsi le cas de l'échantillon E11 originaire de la région Al matar, wilaya d'Annaba.





Aussi, le matériel contenant du plomb figure le matériel galvanisé (tel que les extracteurs et les réservoirs); le matériel soudé (par exemple les extracteurs en acier inoxydable, les réservoirs, les unités d'emballage ou tout autre matériel contenant des soudures au plomb); des raccords en bronze ou en laiton et le matériel fait de fer terne (un alliage métallique autrefois utilisé pour la fabrication de matériel).

Par conséquent, certains oligo-éléments comme le plomb, le fer, le zinc, l'aluminium, etc. peuvent parvenir dans le miel à partir de matériaux d'emballage inappropriés, d'outils apicoles de même que directement de l'environnement.

- **Teneur en nickel :**

Le nickel est un essentiel métal trace sur le plan nutritionnel pour au moins plusieurs espèces animales, les micro-organismes et les plantes, et donc soit une carence ou des symptômes de toxicité peuvent se produire lorsque, respectivement, trop peu ou trop de Ni sont repris ([Bencko, 1983](#) ; [Cempel et Nikel, 2006](#) ; [Hussain et al., 2015](#))

Toutefois, il est présent naturellement dans l'environnement. On le trouve le plus souvent associé au soufre, à l'arsenic et à l'antimoine. Il est dispersé sous diverses formes à la suite de phénomènes naturels comme par exemple les feux de forêts, les embruns de mer, les irrutions volcaniques ([INERIS, 2006](#), [Statistique Canada, 2012](#)).

Le nickel est présent en quantité de  $2.10 \pm 2.09$  mg/Kg pour l'ensemble des variétés de miels étudiées avec des teneurs entre 0 et 18.49 mg/Kg (Fig.82). Ce résultat est largement supérieur aux résultats de [Yaiche Achour et Khali \(2014\)](#) avec une moyenne de 0.320 mg/Kg.

Ainsi, une valeur de 18.49 mg/Kg a été observée dans l'échantillon E18 issu de la région Zitouna, wilaya de Taref suivie d'autre valeur de l'échantillon de Ain Safraa (E19) 8.92 mg/Kg, E13 originaire d'El Medea (8.08 mg/Kg), l'échantillon de Berrahal, wilaya d'Annaba avec une teneur de nickel de 7.34 mg/Kg et une valeur de 3.42 mg/Kg a été observée dans l'échantillon issu de la région de Kolo, wilaya de Skikda. Le nickel serait un élément essentiel à la vie; à de faibles doses, il pourrait avoir certains effets bénéfiques sur la santé humaine et comme pour la plupart des éléments essentiels à la vie auxquels nous sommes exposés, une plus forte dose peut s'avérer toxique. En outre, le sol peut se trouver enrichi par des apports dus aux activités industrielles, domestiques et agricoles. Des teneurs élevées peuvent être aussi expliquées



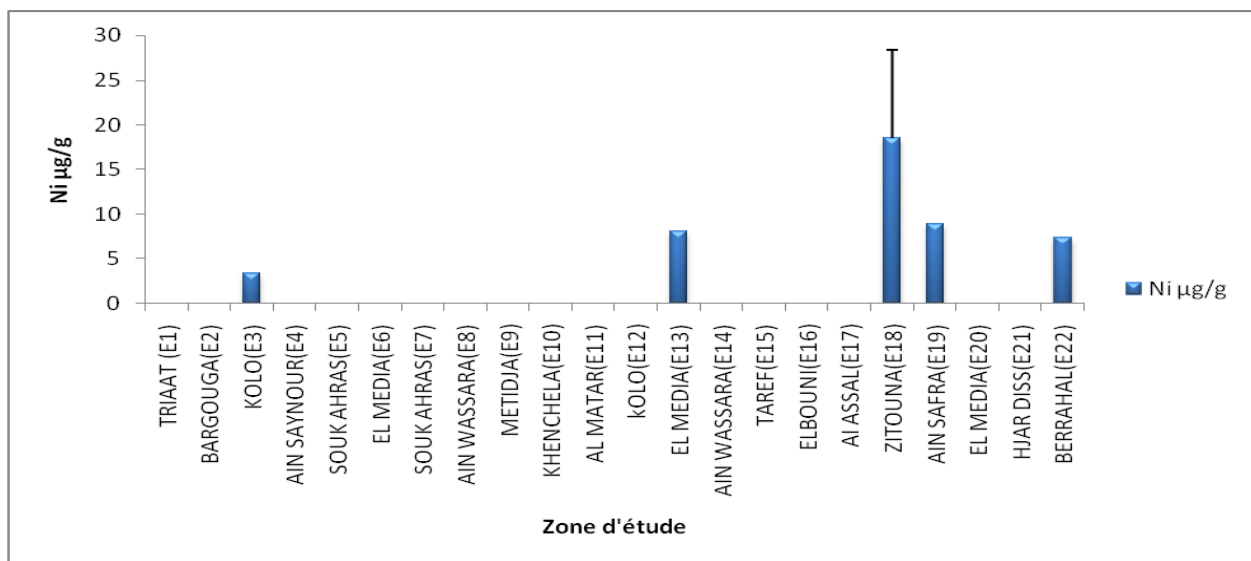


par la présence de Ni dans l'air ambiant à la suite de la combustion du charbon, du gazole et de fioul, l'incinération des déchets et des eaux usées, et à partir de sources diverses (Grandjean, 1984 ; Ruschioni et al., 2013). Or, dans la littérature il n'est pas fait mention d'apports atmosphériques (Kadem, 2005).

En plus, cette contamination peut être due probablement à l'utilisation de matériel d'apiculture inapproprié. En revanche, l'acier inoxydable, composé aussi de nickel, est utilisé pour de nombreuses applications (usages domestique, médical et industriel). Le nickel entre dans la fabrication de produits d'entretien ménager et de blanchiment (Statistiques Canada, 2012).

Par contre, au niveau du reste des échantillons aucune valeur de contamination par le nickel n'a été détectée.

Toutefois, l'acier inoxydable, composé aussi de nickel, est utilisé pour de nombreuses applications (usages domestique, médical et industriel). Le nickel entre dans la fabrication de produits d'entretien ménager et de blanchiment.



**Figure 82:** Teneurs en nickel (mg/Kg) dans les échantillons de miel

Le nickel est présent dans l'environnement principalement en raison des activités humaines telles que la combustion de carburant (dont l'huile à chauffage), l'extraction et la production de nickel (fusion, affinage, transbordement de matériel à différents stades de transformation), la fabrication de l'acier, le nickelage, la transformation du plomb dans les fonderies,





l'incinération de déchets et la production de boues de station de traitement des eaux usées (INERIS, 2006, Statistiques Canada, 2012).

Bien que Ni est omniprésent et est vital pour la fonction de nombreux organismes, les concentrations dans certains domaines à la fois les rejets anthropiques et divers niveaux naturellement peuvent être toxiques pour les organismes vivants (Diagomanolin et al., 2004 ; Pravin et al., 2012). Les composés du nickel ont été bien établies comme cancérogènes chez de nombreuses espèces animales et par de nombreux modes d'exposition humaine, mais leurs mécanismes sous-jacents ne sont pas encore pleinement compris.

- **Teneur en cuivre :**

Le cuivre est un métal biogénique et il est souvent présenté dans métalloenzymes redox. Apparemment, les mines et les aciéries, les zones industrielles et urbaines ou des autoroutes peuvent se traduire par une augmentation de certains métaux, tels que Cd et Cu. Par conséquent, la Comité mixte FAO / OMS d'experts sur l'alimentation Additifs (JECFA) a estimé l'apport maximal tolérable provisoire quotidienne pour l'homme (DJMTP) 0.05-0.5 mg / kg par jour.

Dans cette étude tous les échantillons étaient exempts de cuivre, ce qui signifie qu'il n'existe aucune contamination par ce métal. Par contre, les valeurs observées pour le cuivre étaient de 3.22 mg/Kg à 2.72 mg/Kg (Yaiche Achour et Khali ,2014) et de n.d. à 2.93 mg/Kg avec une moyenne de  $1.96 \pm 0.94$  mg/Kg dans des miels de Malaisie (Moniruzzaman et al., 2014).

Des valeurs de cuivre faible ont été rapportées dans la littérature variant de 0.05 à 1.84 mg/Kg pour différentes variétés de miels marocains (Chakir et al., 2011), des valeurs de  $0.29 \pm 0.31$  mg/Kg pour des miels Argentin (Conti et al., 2014) ; des valeurs de 0.230-2.410 mg / kg dans des échantillons de miel en provenance d'origine botanique différente, recueillies partout dans le Turquie (Tuzen et al., 2007) ;

Le cuivre peut contaminer le miel par les manipulations des apiculteurs et leurs outils et l'équipement transformé (Pohl, 2009) et peu aussi contaminer l'environnement par l'utilisation des pesticides contre les parasites qui endommagent les récoltes (Provenzano et al., 2010 ; Yaiche Achour et Khali , 2014) .







# ***CHAPITRE 6***

A decorative background featuring a white diagonal band. On the left, a musical staff with a treble clef and several notes is visible. The right side of the band is adorned with a lush floral arrangement of green vines, leaves, and various flowers in shades of pink, yellow, and orange. The text "DISCUSSION GENERALE" is centered on the white band in a blue, italicized serif font.

# *DISCUSSION GENERALE*





## **Discussion générale :**

Le miel fait partie de la médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures et surtout dans la culture algérienne, bien qu'il soit le plus largement utilisé comme édulcorant dans les pays occidentaux. Il est composé d'au moins 181 éléments et est essentiellement une solution sursaturée en sucres. En outre, il existe une grande variété de composants majeurs et mineurs. La composition réelle de miel varie en fonction de nombreux facteurs tels que la source de pollen, le climat, les conditions environnementales, et le traitement qu'il subit (Gheldof et *al.*, 2002; Azeredo et *al.*, 2003).

L'Algérie par sa topographie, son climat, sa richesse floristique et surtout la flore apicole permet la production de diverses variétés de miels.

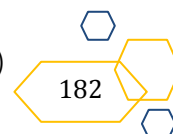
89 échantillons de miel algériens ont été étudiés dont 67 ont fait l'objet de l'étude de propriétés physico-chimiques et botaniques et le reste a servi pour la recherche de contamination par les métaux lourds et les résidus d'antibiotique.

Les données obtenues à partir des analyses palynologiques et physicochimiques de 67 échantillons de miels, récoltés dans des ruches modernes et traditionnelles installées dans les différentes régions de l'Algérie, nous ont permis d'établir les caractéristiques des miels et leur origines botaniques.

La liste des espèces mellifères dressée pour les régions d'étude, a révélé que la flore mellifère est principalement spontanée. 367 types polliniques appartenant à 59 familles botanique récoltés par les butineuses, ont été identifiés par les méthodes de la méliissopalynologie. Une présence de pollen non déterminé et des asques ont été également soulevée.

Dans cette étude nous avons observé que les miels analysés sont riches en pollen et donc présence d'une variabilité bien constatée et que le nombre de grain de pollen varie de 22000 grains de pollen dans 10g de miel (M5) originaire de Ain Barda, wilaya d'Annaba et 13600000 grains de pollen dans 10g de miel (M28) originaire de Souk Ahras.

Les miels sont très riches en pollen, dont la majorité occupe les classe II (15% des miels analysés M1, M6, M8, M10, M11, M12, M17, M21, M43 et M63) ; classe III (46% des





miels), 14% des échantillons appartiennent à la classe IV et enfin la cinquième classe (V) caractérisée par le nombre très élevé en grain de pollen. Ainsi 25% des échantillons sont très riche en grains de pollen.

La majorité des miels de la région d'étude sont polyfloraux avec la présence de deux miels à dominance d'*Eucalyptus* (miels monofloraux).

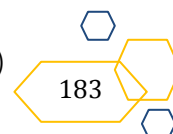
La présence des grains de pollen des espèces d'*Eucalyptus* dans la majorité des miels analysés révèle l'air biogéographique de cette essence qui est omniprésente dans les quatre coins de l'Algérie soit sous forme de pollens dominants, d'accompagnements ou pollens minoritaires. Ainsi, cette plante sus-mentionnée représente une source apicole très importante en Algérie.

La lecture des spectres a révélé que les familles les plus représentées dans les miels analysés sont celles des *Fabaceae* avec 53 taxons botaniques, suivi par les *Asteraceae* avec un nombre de 52 taxons, les *Rosaceae* avec 35 taxons, les *Brassicaceae* avec 31 taxons. La famille des *Apiaceae* est représentée par 27 taxons mellifères, les *Lamiaceae* 21, les *Boraginaceae* 19 taxons et les *Scrophulariaceae* avec un nombre de 11 taxons. En outre, le reste des familles est présent avec peu des taxons.

Les spectres polliniques des régions d'études montrent que la flore qui rentre dans la composition des miels est riche et diversifié.

Cependant, suite à l'étude botanique nous avons pu constater une relation intime entre le type de la flore mellifère, le type de ruche, moderne ou traditionnelle, ruche fixe ou transhumante, et la méthode d'extraction de ces miels.

Dans le deuxième volet nous avons traité les propriétés physico-chimiques (teneur en HMF, sucre totaux, saccharose, conductivité électrique, teneur en matière minérale, teneur en eau, teneur en matière sèche, activité diastasique, taux de protéine, densité, acidités et pH) pour l'ensemble des échantillons de miels collectés et achetés auprès des apiculteurs, amateurs et professionnels, ou des sociétés d'apiculture ou d'apiculteurs vendeurs dans des foires commerciales (marchés de plein air locaux). Les résultats de ces analyses nous ont permis de vérifier l'état naturel des miels. Par conséquent cette étude a révélée :





Une valeur moyenne ( $16.8 \pm 1.7$ ) de la teneur en eau pour l'ensemble des échantillons de miels étudiés cadrent ainsi la norme internationale proposée par le *Codex* ( $\leq 21\%$ ) et indiquant des bonnes pratiques apicoles respectant les conditions d'extraction par les apiculteurs Algériens et que les miels analysés n'ont pas subi une extraction prématurée des ruches. Or, nous avons constaté que de points de vue fragilité, 10% des miels présentent des teneurs en eau élevées égale ou supérieures à 19% qui les rend des sujets de fermentation lors de l'entreposage. En plus, nous avons remarqué que le taux de matière sèche est strictement corrélé avec le taux d'humidité.

Les valeurs de pH varient de 2.88 à 6.62 avec une moyenne de  $3.86 \pm 0.60$ . Nos résultats cadrent les normes internationales et indiquent que 91% des échantillons son d'origine florale et donc issus de nectar. Parmi les paramètres de qualité pour la détermination de l'origine botanique de miel figurant dans les normes du *Codex Alimentarius* et les règles de l'Union Européen on trouve, également, le dosage des cendres qui offre la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel. En effet, les résultats obtenus pour la teneur en cendre de nos échantillons montrent une teneur moyenne de  $0.475 \pm 0.29$  indiquant que 79% des échantillons ont présentés des valeurs en cendre inférieures ou égales à 0.6% et donc d'origine nectarifère. Le troisième paramètre, la conductivité électrique, est nécessaire pour la détermination de l'origine botanique du miel et peut remplacer la mesure de la teneur en cendre.

La conductivité représente un outil fiable pour la détermination de l'origine botanique du miel, car un miel de nectar a une plus faible conductibilité qu'un miel de miellat, et est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine du miel. Dans cette étude nous avons constaté une grande variation des valeurs de conductivité éclectique allant de 0.100 mS /cm à 2.56 mS /cm avec une moyenne de 0.869 mS /cm  $\pm 0.47$  indiquant que 55% des échantillons sont probablement des miels de nectar. Tandis que les 45% échantillons restants peuvent être des miels de miellats, un mélange de miellat et de nectar ou probablement à cause de l'influence de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel.

L' HMF et l'activité diastasique représentent les paramètres les plus couramment utilisés pour contrôler la fraîcheur du miel. En effet, nous avons constaté que les niveaux d'HMF

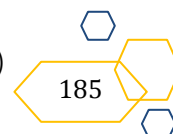




varient de 0 à 554.6 mg/ kg et que 87% des échantillons avaient des niveaux en dessous de la limite d' HMF acceptable ( $\leq 40$  mg / kg) selon les recommandations du *Codex Alimentarius* (2001) et de la directive du Conseil de l'UE (2002). Ce taux est augmenté à 95.5% vu que l'Algérie est un pays subtropical et les recommandations du *Codex* (2001) fixent un maximum de 80 mg /Kg pour les pays subtropicaux. (4%) d'échantillons (M33, M38 et M57) ont été considérés comme de qualité inacceptable avec des valeurs très élevées d' HMF. Il y a une très forte possibilité que les miels achetés sur le marché en plein air sont soit falsifiés soit de mauvaise qualité due à des chauffages excessives ou des miels âgés, puisque leurs valeurs en HMF sont supérieures à 100 mg / kg. C'est l'exemple de l'échantillon M57 originaire de Hammamet, Tébessa qui est un miel qui a montré une valeur basse d'enzyme de 5.54 Unité de Schade avec une teneur en eau élevée de 19.93% qui favorise généralement la dégradation des sucres en HMF (552.63 mg/kg) dans un milieu acide (52. 25 meq/Kg). Ainsi, d'autres échantillons comme M18, M48 ont montré des teneurs élevées en HMF et basses en enzyme. Par conséquent, ces résultats confirment la relation étroite entre l'HMF et la diastase comme indicateurs de fraîcheur d'un miel. En revanche, l'activité diastasique pour l'ensemble des échantillons d'analyses a montré des valeurs moyennes de 20.98 unités Schade  $\pm$  15.61 et que 87% des échantillons analysés sont des miels frais, qu'ils ont été stockés dans de bonnes conditions et/ou qu'il n'a pas été trop réchauffé pour d'éventuels transvasages.

Un autre paramètre très important pour la qualification des miels est celui de spectre des sucres, cependant, la teneur en saccharose des échantillons de miel analysés dans cette étude varie entre 0 et 15.12g/ 100g avec une valeur moyenne de 3.27 g/100g  $\pm$  2.82.

Pour le miel M4 nous avons constaté un excès en saccharose probablement due à la présence d'un reboisement d'Eucalyptus, essence connue par l'abondance de sécrétion du nectar qui est naturellement riche en disaccharides (*Chefrou, 2007*), près des ruches c'est à dire dans la région de butinage. Ce résultat est bien confirmé par l'étude botanique et qui a révélé que c'est un miel monofloral d'*Eucalyptus globulus* ce qui fait que la réglementation tolère un taux de 10% (*Codex Alimentarius, 2001*). Dix-huit pourcent des échantillons ne sont pas en conformité avec la norme internationale ( $\leq 5$  g / 100 g) est cela est due soit à des miels immatures, avec des teneurs en eau dépassant le 18%, lesquels le saccharose n'a pas été entièrement transformé en glucose et en fructose sous l'action de l'invertase.





C'est l'exemple des échantillons M1, M5, M27 et M33. Soit suite à l'ajout de sucre ou sirops saccharose pour nourrir les abeilles dans la saison d'hiver ou du reste de nourriture d'hivernage non consommée au printemps ou carrément suite à une tentative de fraude.

Concernant les données des sucres totaux, nous avons constaté des valeurs entre 77.38 à 84.60 g / 100 g avec une moyenne de 77.38 g / 100 g  $\pm$  5.92, qui sont en accord avec les normes du Codex (2001), qui devrait être plus de 60% pour les miels de fleurs et au moins 45% pour le miel de miellat.

La teneur en minéraux est un indice important d'une possible pollution de l'environnement et constitue également un indicateur potentiel de l'origine géographique du miel. Cette teneur influence généralement la coloration des miels. Cette dernière est aussi due à l'augmentation du taux d'HMF qui est lui aussi produit de dégradation des sucres.

Dans ce modeste travail on a essayé de rechercher la contamination par des résidus d'antibiotique et aussi de doser quelques éléments traces et quelques métaux lourds pour mieux reconnaître la pureté et la sûreté de 22 types de miel et étudier aussi le rôle de choix de l'emplacement des ruches.

La couleur représente un facteur important dans le classement de miel. C'est une caractéristique importante utilisée par les producteurs, conditionneurs et les consommateurs du produit, ce qui rend sa mesure indispensable dans les processus de contrôle de la qualité de miel.

Dans ce travail on a constaté que 64% des échantillons étudiés étaient de couleur sombre Ambre sombre (Dark amber)  $>114 \text{ mmPfund}$ . En générale, les miels sombres sont les plus riches en sels minéraux. 14% Ambre clair, 9% blanc et extra blanc et 4% ambre extra clair. Cependant, aucun miel n'avait une couleur de blanc transparent ou ambré. Sachant qu'un miel de même origine géographique peut avoir deux couleurs différentes et c'est l'exemple de des échantillons issus de la wilaya de Taref (E15, E17, E18). En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer la couleur des miels comme l'origine florale, richesse en contenu minéral et bien sur les conditions de stockage. Cependant, il n'existe





aucune législation ou réglementation concernant les couleurs des miels, ce qui justifie la nécessité de nouvelles études.

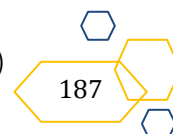
Pour l'étude des sucres de miel, nous avons constaté que la teneur en fructose varie de 29.33 à 42.39%, avec une moyenne de  $36.27 \pm 0.78\%$ , le glucose des échantillons était de  $31.72 \pm 0.68\%$ . Dans notre étude, 82% des échantillons de miel analysés avaient le fructose comme sucre dominant. Concernant, les teneurs en sucres réducteurs des échantillons étudiés varient de 61.13 et 79.29 g / 100 g avec une moyenne de  $68.13 \pm 3.94$  g / 100 g. Nos résultats répondent à cette norme  $\geq 60$  g / 100 g et sont semblables à d'autres niveaux publiés pour sucres réducteurs.

Le rapport fructose / glucose pour les échantillons étudiés se situait entre 0.88 et 1.3 avec une moyenne de  $1.14 \pm 0.02$  indiquant leur origine florale des échantillons analysés et que 82% des échantillons examinés de miel algériens étaient fluides (rapport supérieur à 1).

La teneur en saccharose des échantillons de miel analysés dans cette étude variait entre 1.57 à 14.9 g / 100 g avec une valeur moyenne de  $4.55 \pm 0.28$  g / 100 g et que 6 échantillons ne sont pas en conformité avec la norme internationale probablement à cause d'une récolte précoce de miel ou l'ajout du sirop de saccharose pour nourrir les abeilles dans la saison d'hiver.

En ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques dans l'apiculture comme traitements antibactérien efficace contre la loque américaine (AFB). Toute présence de résidus de médicaments dans le miel constitue un risque potentiel pour la santé humaine et par conséquent interdites dans le miel. Les analyses effectuées pour la détection des résidus de tétracycline et de la streptomycine dans le miel n'ont révélé que la présence de traces négligeables (0.03 ppm) de l'oxytétracycline dans deux échantillons (E10 et E13). Tous les autres échantillons ont été négatifs pour les deux antibiotiques.

Les teneurs obtenues pour le zinc montrent qu'il est pratiquement présent dans toutes les variétés de miels étudiées avec une valeur moyenne de  $3.76 \pm 0.17$  mg/Kg. Or, la littérature attribuait ce fait à la présence aléatoire de cet élément dans l'environnement, soit en tant que polluants ou comme constituants naturels des fleurs.





Concernant les teneurs en fer, nous avons trouvé des valeurs entre 60.62 et 201.07 mg/Kg avec une moyenne de  $103.51 \pm 6.64$  mg/Kg. Les miels (E2) région Bargouga, (E11) Al Matar, (E21) Hjar Diss, (E16) El Bouni, wilaya d'Annaba, représentent un taux métallique élevé qui peut être expliqué par la pollution développée par l'usine métallurgique Arcelor métal situé à proximité de la zone où les ruches ont été placées et pour les autres échantillons les valeurs élevées peuvent probablement parvenir dans le miel à partir de matériaux d'emballage inappropriés, d'outils apicoles de même que directement de l'environnement.

Les teneurs en chromes pour l'ensemble des variétés de miels dosées se situent dans l'intervalle de n.d à 4.89 mg/Kg avec une moyenne de  $1.34 \pm 0.90$  mg/Kg. La présence de cet élément peut indiquer une contamination pendant le traitement du miel, transport ou de stockage relié à l'utilisation d'acier ou conteneurs galvanisés, en plus, les entreprises industrielles de Berrahal (la zone industrielle de Kalitoussa à Berrahal) et de Kherraza constituent les principales sources de pollution par le biais des rejets de leurs effluents, les fumées.

Le manganèse est considéré comme un élément de trace essentiel pour une bonne santé et est retrouvé naturellement dans les sols, l'eau des rivières, des lacs et des sources souterraines, dans l'air ambiant de même que dans la nourriture. En outre, une surexposition au manganèse peut conduire des graves problèmes de santé. Des valeurs moyennes de l'ensemble des échantillons étaient de  $1.93 \pm 0.47$  mg/Kg, ce qui concorde avec le résultat d'autres chercheurs.

Concernant le cobalt, des valeurs entre 0 et 6.48 mg/Kg ont été observées dans cette étude avec une moyenne de  $1.70 \pm 0.80$  mg/Kg. Toutefois, la dose journalière normale de cobalt a été signalée comme étant dans la plage de 2.5 à 3.0 mg / jour. En revanche, trois échantillons ont dépassé cette marge et qui sont représentés par l'échantillon E9, E14 et E19. Sachant que l'intoxication pourra être observée si on dépasse la gamme de plus de 23- 30 mg cobalts par jours.





Pour le plomb nous avons constaté des valeurs moyennes de  $2.47 \pm 3.00$  mg/Kg supérieurs à la limite proposée par l'union Européenne (1 mg/Kg). Néanmoins, ce résultat reste Commère dans la dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de Pb recommandée par l'Organisation mondiale de la Santé pour les adultes (3 mg). Mais il faut dire que quelques miels (E11, E13 et E1) sont impropres à être consommés car ils sont largement contaminés. Les autres échantillons positifs peuvent aussi être déconseillés pour les bébés et les sujets âgés à cause du niveau inférieur de 0.3 mg recommandée pour cette tranche d'âge.

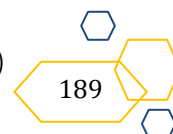
En ce qui concerne le nickel, un essentiel métal trace sur le plan nutritionnel pour au moins plusieurs espèces, des quantités de  $2.10 \pm 2.09$  mg/Kg pour l'ensemble des variétés de miels ont été décillées. Cinq échantillons ont montré un degré de contamination élevée (E18 issu de la région Zitouna, wilaya de Taref (18.49 mg/Kg), E19 de Ain Safraa (8.92 mg/Kg), E13 originaire d'El Medea (8.08 mg/Kg), l'échantillon de Berrahal, wilaya d'Annaba avec une teneur de nickel de 7.34 mg/Kg et une valeur de 3.42 mg/Kg a été observée ans l'échantillon issu de la région de Kolo, wilaya de Skikda). Cette contamination peu être due probablement à l'utilisation de matériel d'apiculture inapproprié, en raison des activités humaines telles que la combustion de carburant (dont l'huile à chauffage), l'extraction et la production de nickel et aux activités industrielles, domestiques et agricoles.

Enfin pour le cuivre, métal biogénique, présente des contaminations par des taux élevés à cause des mines et les aciéries, des zones industrielles et urbaines ou des autoroutes. Dans cette étude tous les échantillons étaient exempts de cuivre, ce qui signifie qu'il n'existe aucune contamination par ce métal.

Les résultats obtenus sont encourageants, nécessitant d'être poursuivie pour mieux connaître les potentialités mellifères et pollenifères de chaque région du pays.

Finalement, nous pouvons dire que ces travaux permettent d'apporter quelques éléments de réponse sur la qualité des miels algériens, du point de vu physicochimique et botanique et aussi détermination des contaminations surtout par les métaux lourds, mais aussi de soulever de nouvelles questions. Les informations obtenues sur la bonne qualité des miels algériens restent similaires aux quelques études publiées mais pour les miel 40% des échantillons hors normes en plus la présence de valeurs non négligeables de métaux et surtout le plomb qui représente un majeur risque du faite de sa toxicité, n'appuient pas cette thèse et laissant ainsi un large champ d'étude à explorer.

L'exploration suggèrerait de pousser plus loin et de faire de nouveaux échantillons des mêmes types de miels dans les mêmes endroits et aussi d'essayer de récolté des échantillons des 4 coins de l'Algérie pour mieux reconnaître notre produit.







# *CONCLUSION*





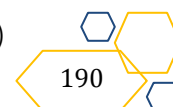
### Conclusion et perspectives

La nature et la richesse du territoire Algériens, unique par son emplacement, ses montagnes, ses forêts et son désert, ainsi que la diversité de ses conditions climatiques, permettent de produire différents genres de miel très riches et aux saveurs exquises.

Un total de 89 échantillons de miel algériens ont été étudiés dont 67 ont fait l'objet de l'étude de propriétés physico-chimiques et botaniques et le reste a servi pour la recherche de contamination par métaux lourds et résidus d'antibiotique.

Les données obtenues à partir des analyses palynologiques et physicochimiques des 67 échantillons de miels, récoltés à partir des ruches modernes et traditionnelles installées dans les différentes régions de l'Algérie, nous ont permis d'établir les caractéristiques des miels et leur origine botanique. Par conséquent, nous pouvons conclure que :

- La liste des espèces mellifères dressée pour les régions d'étude, a révélé que la flore mellifère est principalement spontanée vu que la majorité des ruchers ont été installés dans des parcours naturels favorisant ainsi sa richesse et diversification ;
- Les miels analysés sont riches en pollen et le nombre de grain de pollen varie de 22000 grains de pollen dans 10g de miel à 13600000 grains de pollen dans 10g de miel, nous avons classé nos échantillons en quatre classes (II, III, IV et V) dont la classe dominante est la classe III ;
- Présence de 367 types polliniques appartenant à 59 familles botaniques ;
- Présence de deux miels monofloraux de type Eucalyptus et les autres miels sont polyfloraux ;
- Les familles les plus présentes sont : *Fabaceae* avec 53 taxons botaniques, suivis par les *Asteraceae* avec un nombre de 52 taxons, les *Rosaceae* avec 35 taxons, les *Brassicaceae* avec 31 taxons.
- L'aire biogéographique de la plante Eucalyptus a été bien représentée vu l'omniprésence des grains de pollen, de ce dernier, dans pratiquement la majorité des miels d'études ;





Cependant, suite à l'étude botanique nous avons pu constater une relation intime entre le type de la flore mellifère, le type de ruche, moderne ou traditionnelle, ruche fixe ou transhumante, et la méthode d'extraction de ces miels. Cependant, malgré les informations précieuses tirées par ce type d'analyse, elles restent insuffisantes car elles informent sur le bio- environnement mais le caractère intrinsèque, qualité du produit, ne peut être déterminé qu'à la suite d'une étude physicochimique. Cette dernière s'adresse à analyser les critères de qualité préconisés par la commission du *Codex Alimentarius* et les directives de l'Union Européenne tel que : taux d'humidité, teneur en HMF, taux d'acidité, pH, teneur en enzyme, teneur en matière minérale, conductivité électrique et teneur en sucres totaux et saccharose. Le dosage du reste des paramètres comme pour la densité, taux de matière sèche et teneur en protéine restent facultatif et accessoire pourtant il peut être utile pour l'étude de qualification des miels purs. Une analyse approfondie des miels révèle de grandes différences sur le plan de la qualité.

Par ailleurs, cette étude physicochimique a révélé que seulement 60% des échantillons de miels Algérien rependent aux exigences de l'Union européenne et les normes du *Codex Alimentarius*. Ces constatations mettent clairement en exergue la bonne qualité physicochimique du miel produit par la majorité des apiculteurs. En plus, la majorité des échantillons sont d'origine nectarifère et ou un mélange de nectars et de miellat. Tandis que, 40% d'entre eux, malgré le fait qu'ils sont vendus chers sous le titre de miels naturels, ne sont pas conforme aux normes, et donc ne méritent pas la nomination de miels naturels de qualité.

Malheureusement, l'exclusion de ces miels est due aux taux élevés d'hydroxyméthylfurfural, à l'élévation de la teneur en saccharose ainsi que l'acidité totale. En plus de ces paramètres, un pH inférieur à la norme avec une activité diastasique et une densité basse ont rendu ces miels de qualité moindre. Du point de vue fragilité, une teneur en eau supérieur à 19% pourra détériorer le produit par fermentation suite à une mauvaise conservation pour des longues périodes.

Comme déjà prouvé en haut, le miel est intrinsèquement lié au territoire dans lequel il est produit et il est aussi étroitement lié à la flore visitée par les abeilles pour sa production, par le climat et les conditions environnementales. Il peut donc être un moniteur biologique



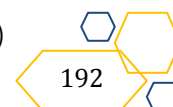


de toutes sortes de contamination vu que les abeilles patrouille des longues distances pour butiner.

Toutefois, le travail effectué sur 22 échantillons issus de 8 régions Algérienne a pour but de doser quelque élément traces et métaux lourds pour détecter des contaminations par ces derniers, pour déterminer la qualité de l'environnement dans des environnements suspectés pollués, et par des résidus de traitement bactéricide de la ruche contre la loque. En effet, la teneur en minéraux correspond à un indice primordial d'une possible pollution de l'environnement et constitue un indicateur fiable de l'origine géographique du miel. Cette teneur influence certainement la coloration des miels. Cette dernière est aussi due à l'augmentation du taux d'HMF (produit de dégradation des sucres surtout fructose).

Dans ce travail nous avons constaté que :

- 64% des échantillons étudiés étaient riche en matière minérale du fait que leurs couleur étaient sombre (Ambre sombre  $>114 \text{ mmPfund}$ ).
- 82% des échantillons de miel analysés étaient fluide et avaient le fructose comme sucre dominant. Ce dernier, pourra se dégrader facilement en HMF au cours de mauvaises conditions de stockage et /ou après subissions d'un traitement thermique, ce qui intensifiera la couleur et changera le gout de miel.
- Six échantillons ne sont pas en conformité avec la norme internationale probablement à cause d'une récolte précoce de miel ou suite à un ajout du sirop de saccharose pour nourrir les abeilles dans la periode hivernal ;
- Détection de contamination par le Co, le Ni, le Zn, le Fe. Cette contamination peu être due probablement à l'utilisation de matériel d'apiculture inapproprié et/ ou suite à la pollution, de l'environnement, développé par les usines situé à proximité des zones où les ruches ont été placées. Malheureusement, il n'existe pas de normes spécifiques au miel pour les éléments traces, sus mentionnés, ce qui fait qu'il faux juste respecter la dose journalière de consommation pour éviter tout risque d'intoxication ;
- Par contre, nous avons constaté une valeur moyenne de  $2.47 \pm 3.00 \text{ mg/Kg}$  pour le Pb, cette dernière est supérieure à la limite proposée par l'union





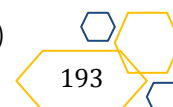
Européenne (1 mg/Kg) mais dans quelques échantillons (E11, E13 et E1) nous devons déclencher une alarme car ces derniers sont des miels impropres à être consommés. En effet, ce métal toxique peut parvenir dans le miel à partir de matériaux d'emballage inappropriés, d'outils apicoles de même que directement de l'environnement (provient d'abord des industries de première et deuxième fusion du plomb, et au niveau urbain ou routier, des rejets des véhicules à moteur surtout l'essence au plomb d'autoroutes.

- Présence des éléments trace, Mn, Cr, nécessaire pour le corps a des doses acceptable et non détection pour le cuivre ;
- Les analyses effectuées pour la détection des résidus de tétracycline et de la streptomycine dans le miel n'ont révélé que la présence de traces négligeables (0.03 ppm) de l'oxytétracycline dans deux échantillons (E10 et E13). Tous les autres échantillons ont été négatifs pour les deux antibiotiques (bonne nouvelle). Cependant, l'utilisation des antibiotiques dans l'apiculture et la présence de résidus de ces traitements antibactériens dans le miel constitue un risque potentiel pour la santé humaine et par conséquent interdites dans le miel.
- D'autre part, on a également conclu de cette étude que les apiculteurs Algérien n'utilisent pas les antibiotiques, streptomycine et tétracyclines, pour le traitement des ruches contre les maladies bactériennes des abeilles.
- Il serait intéressant d'explorer ces paramètres pour pousser les analyses plus loin, et de les comparer avec d'autres études.

Selon les résultats certaines considérations peuvent être accordées aux apiculteurs algériens:

(I) Il serait nécessaire de créer des services de vulgarisation plus efficace pour améliorer les connaissances des apiculteurs sur les techniques de récolte de miel, le traitement du miel et les technologies de stockage.

(Ii) En outre, il y a la nécessité d'accroître l'activité éducative adressée aux apiculteurs de prendre soin de la production algérienne du miel avec une référence particulière à caractéristiques physico-chimiques, et ont plus de responsabilité pour





la qualité du miel à être mis sur le marché avec l'étiquette appropriée comprenant l'origine floral et la composition chimique du miel.

(Iii) Il est nécessaire d'utiliser des méthodes fiables de contrôle afin d'assurer la conformité du produit de miel pour éviter tout risque de falsification et altération de miels algériens.

En outre, fournir le soutien scientifique, avec bien sur une collaboration des apiculteurs (sensibilisation à fournir des échantillons de miel et ne pas les vendre aux chercheurs) pour une bonne connaissance du produit algérien dans le but d'une introduction d'une norme nationale pour le miel.

Enfin et comme perspective nous insistons beaucoup à :



Poursuivre ce travail (caractérisation physicochimique, botanique et sensoriels) et l'élargir dans le maximum de wilaya Algériennes avec établissement d'une cartographie des grandes et importantes zones mellifères afin d'arriver à déterminer un référentiel biogéographique pour faciliter le choix de l'installation des ruches dans le but d'améliorer la production du miel Algérien (qualité- quantité) ;



Se pencher vers l'étude des propriétés anti-oxydantes et antibactérienne des miels Algériens ;



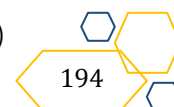
Poursuivre le travail sur la recherche de contamination par métaux lourd en ciblant les miels issus de zones reconnues par leurs charges démographiques et industrielles et les comparants avec ceux originaires des zones saines et propres ;



Poursuivre la recherche de contamination par les produits de traitements phytosanitaires et des pesticides et faire des recherches sur la contamination microbienne ;



L'instauration d'un organisme certificateur spécialisé dans la labellisation du miel Algérien et création d'une réglementation nationale afin d'arriver à une spécification, sans ambiguïté des données, pour caractériser la qualité





physicochimique, organoleptique, sensorielle et microbiologique, ses modes d'élevage et son environnement naturel ;



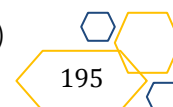
Etablir une norme spécifique pour les miels Algérien et surveiller les miels vendus sans contrôle pour éviter toutes sorte de fraude et adultération au niveau de l'appellation ou par ajout de sirop de sucre, de l'eau sucrée ou d'autres produits à base de sucre par certains apiculteurs malhonnêtes et/ou vendeurs ;



Adopter des stratégies qui visent a recherché des marchés stables, nationaux et internationaux, vers lesquels le miel Algérien peut être régulièrement acheminé ;



Enfin, nous dirons aux consommateurs que le prix n'est pas un indice fiable de qualité car on a noté de grandes différences de prix, mais un miel cher n'est pas forcément d'excellente qualité.





# *RESUMES*





## Résumé

Cette recherche s'inscrit dans le cadre de la valorisation des miels en Algérie. L'étude a utilisé une approche pluridisciplinaire qui combine différentes spécialités: l'apiculture, la biochimie, la biologie végétale et l'écologie.

Le choix du sujet est justifié aussi bien sur le plan économique que de santé publique. Dans les pays développés, la mise en marché du miel nécessite le passage obligatoire par l'expertise et le contrôle de la qualité afin d'obtenir le certificat de conformité aux normes du Codex. En Algérie, malgré la richesse floristique et le développement du créneau de la filière apicole, on assiste à l'absence du contrôle de la qualité et de la maîtrise du marché du miel.

Ainsi, l'objectif de ce travail est l'évaluation et le contrôle de la qualité des échantillons de miels naturels issus des ruches Langstroth en Algérie pour une meilleure connaissance et valorisation de ces produits naturels afin d'en établir des normes Algériennes.

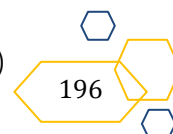
Les données obtenues indiquent que la majorité des miels sont polyfloraux avec une dominance remarquée dans deux échantillons par l'*Eucalyptus globulus* de la famille des *Myrtaceae*. 367 types polliniques appartenant à 59 familles botaniques ont été récoltés par les butineuses.

Les analyses physico-chimiques de ces miels ont montré que 60% des échantillons sont conformes aux normes requises exigées par le *Codex Alimentarius* et que 40% ne sont pas en accord avec ces normes. L'exclusion de ces miels est due aux taux élevés d'hydroxy méthylfurfural, de saccharose et de l'acidité totale dans ces derniers. En plus de ces paramètres, un pH inférieur à la norme et une activité diastasique basse ont rendu ces miels de qualité moindre.

La recherche d'éventuelle contamination pour quelque miel récolté a révélé qu'il existe des contaminations par des métaux lourds comme le plomb, le cuivre, le zinc, le fer mais aucune contamination n'a été observée par les antibiotiques à l'exception de présence de trace négligeable d'oxytetracycline.

L'amélioration qui peut être introduite au miel Algérien en général est d'inciter les apiculteurs à tester en laboratoire les caractéristiques des miels (botanique et physicochimique) et bien sur contrôler l'absence d'antibiotiques et de métaux lourds pour s'assurer que les miels sont 100% naturels et sains.

**Mots clés :** Algérie, Qualité du miel, Analyses physico-chimiques, Melissopalynologie, Résidus d'antibiotique, Métaux lourds



## Summary

This research is part of the valorization of honey in Algeria. That is why it took into consideration a multidisciplinary approach combining different specialties: beekeeping, biochemistry, plant biology and ecology. Indeed, the choice of subject is justified as well as economically and in terms of health because in developed countries the marketing of honey requires the obligatory passage through the expertise and quality control to obtain the certificate of conformity to *Codex* standards. But in Algeria, despite the rich flora and development of niche beekeeping, there is a lack of quality control and control of the honey market.

Thus, the objective of this work is the evaluation and quality control of natural honey samples from the Langstroth hives in Algeria for a better knowledge and valorization of these natural products in order to establish Algerian standards.

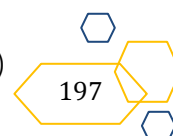
Therefore, the data obtained indicate that the majority of honeys are polyfloral with remarkable dominance in both samples by *Eucalyptus globulus* of the *Myrtaceae* family and 367 pollen types belonging to 59 botanical families were harvested by forager's bees.

Furthermore, the physico-chemical analyzes of these honeys have shown that 60% of the samples are consistent with the required standards required by the *Codex Alimentarius* and 40% do not in accord. However, the exclusion of these honeys is due to high levels of hydroxymethylfurfural, sucrose and total acidity. Thus, a pH below standard and low diastasic activity made these honeys lower quality.

In addition, the search for possible contamination of some honey collected revealed that there is a contamination with heavy metals such as lead, copper, zinc, iron but no contamination was observed by antibiotics but just have revealed the presence of insignificant traces of oxytetracycline in two samples of honey.

In the end, improvements that can be introduced to Algerian honey in general is to encourage beekeepers to test in the laboratory the characteristics of honey (botany and physicochemical) and of course control the absence of antibiotics and heavy metals in order to ensure that the honeys are 100% natural and healthy.

**Keywords:** Algeria, Honey quality, physico-chemical analysis, Melissopalynologie, antibiotic residues, heavy metals.



## ملخص :

يندرج هذا البحث في إطار تثمين العسل في الجزائر لذا اخذ بعين الاعتبار إتباع نهج متعدد التخصصات يجمع بين مختلف الاختصاصات : تربية النحل , الكيمياء الحيوية, علم البيئة والأحياء النباتية.

في الواقع, اختيار العنوان من حيث البنية الاقتصادية والصحة العامة ناتج عن إجبار الدول المتقدمة على عرض العسل لجهات التقييم ومطابقة النوعية من أجل الحصول على رخصة المطابقة للمعايير الخاصة بـ *Codex* ولكن في الجزائر وبالرغم من الثروة النباتية والغابية الهائلة والتطور في مجال تربية النحل فإننا نستشعر غياب الرقابة لجودة المنتج وكذلك عدم التمكن من تسيير سوق العسل . وعليه فإن الهدف من هذا العمل هو تقييم ومراقبة جودة بعض عينات العسل الطبيعي المنتج في الجزائر من خلايا *Langstroth* بهدف التعمق في معرفة وتثمين هذا المنتج الطبيعي بغية إحداث معايير محلية .

وعليه فإن النتائج المتحصل عليها تشير إلى أن غالبية العسل *polyfloraux* (متعدد الأزهار) باستثناء عينتين لوحظ فيهما هيمنة *Eucalyptus globulus* التابعة لعائلة *Myrtaceae* و 367 نوع طلعي ينتمي إلى 59 عائلة نباتية تم حصدهم من طرف العاملات .

بالإضافة إلى ذلك فقد أظهرت التحاليل الفيزيوكيميائية لعينات العسل نسبة 60 % تطابق مع المعايير المفروضة من طرف *Codex* و 40% غير مطابقة. وعليه فإن إقصاء هذه العينات الأخيرة راجع إلى وجود نسبة عالية لسكر *HMF* , السكاروز والحموضة الكاملة . زيادة على ذلك فإن وجود *pH* و نشاط لانزيم الدياستاز منخفض جعل من هذا العسل ذو نوعية رديئة .

و قد كشف البحث أيضا عن احتمال تلوث بعض العسل بالمعادن الثقيلة مثل الرصاص والنحاس والزنك والحديد فيما لوحظ عدم وجود تلوث بالمضادات الحيوية باستثناء العثور على آثار من الاكسيتيتراسيكلين .

ختاما فإن التحسينات التي يمكن إدخالها على العسل الجزائري بشكل عام هو تحفيز وتشجيع مربّي النحل على اختبار خصائص العسل ( النباتية والفيزيوكيميائية) في مخابر بحث متخصصة و مراقبة خلوها من المعادن الثقيلة والمضادات الحيوية للتأكد من أن العسل نقي و طبيعي 100 % .

**كلمات البحث :** الجزائر - جودة العسل - التحاليل الفيزيوكيميائية - *Melissopalynologie* - بقايا المضادات الحيوية - المعادن الثقيلة .

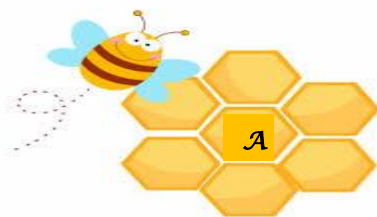




# *REFERENCES* *BIBLIOGRAPHIQUES*

---

## Références bibliographiques:



1. Abramovič, H., Jamnik, M., Burkan, L., Kač, M. (2008). Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*, 19: 1086-1090
2. Adriennen, M. (1995). Mad honey, toxic honey in history. *Archaeology*, 48 (6) :234-240
3. Ahmida, M. H. S., Elwerfali, S., Agha, A., Elagori, M., Ahmida, N. H. S. (2013). Physicochemical, Heavy Metals and Phenolic Compounds Analysis of Libyan Honey Samples Collected from Benghazi during 2009-2010. *Food and Nutrition Sciences*, 4 : 33-40
4. Ahn, M. R., Kunimasa, K., Ohta, T.; Kumazawa, S., Kamihira, M., Kaji, K., Uto, Y., Hori, H., Nagasawa, H. et Nakayama, T (2007). Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis : major component artemisin C inhibits in-vitro tube formation and endothelial cell proliferation *Cancer Lett.*, 252(2):235-43
5. Ajibola, A.W., Joseph, P.C., Kennedy, H.E. (2012). (Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *J. Nutr. Metabol.*, 61(9): 1743-7075.
6. Ajlouni, S., Sujirapinyokul, P. (2010) Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australia honey. *Food Chemistry*, 119 : 1000-1005.
7. Al, M. L., Danel, D., Moise A, Bobis, O., Lasio, L. et Bondanov, S. (2008). Physicochemical and Bioactive Properties of Different Flora Origin Honeys from Romania. *Food Chemistry*, 2009 ,112(4) : 863-867. doi:10.1016/j.foodchem. 06.055



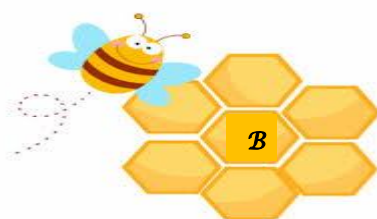


8. Aličić, D., Drago, Š., Midhat, J. , Hatidža, P., Đurđica, A.(2014). Antioxidant properties of pollen. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 3 (1) : 6-12
9. Al-Khalifa, A.S. et Al-Arif, I.A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Journal of Food Chemistry*, 67 :21–25.
10. Almeida-Muradian, L., Stramm, K., Horita, A., Barth, O., Freitas, A. et Estevinho, L. (2013). Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology*, 48 : 1698-1706.
11. Al-Waili, N., Salom, K., Al-Ghamdi, A. et Ansari, J. (2012). Antibiotic, pesticide, and microbial contaminants of honey: Human health hazards, *The Scientific World Journal*, 9p.
12. Al-Waili, N.S. (2004). An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study *Complement Ther Med.*, 12(1):45-47
13. Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proc Nat Acad Sci.* , 90 : 7915-7922
14. Amri, A. et Ladjama, A. (2013). Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *Afr. J. of Food Sci.* , 7(7) :168-173
15. Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63 (4) :549-562.
16. AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington, DC, USA
17. AOAC (1998). *In P. Cunniff (Ed.), Official methods of analysis* (16th ed.). USA: Association of Official Analytical Chemists.
18. Assie, B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de Docteur en medecine. Université Toulouse III – Paul Sabatier – Faculté de médecine, 117p





19. ATSDR. (2000). Toxicological Profile For Manganese (updated). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services. PB2000108025, September 2000.
20. Attia, W.Y., Gabrys, M.S., El-Shaikh, K.A., Othman, G. A. (2008). The anti-tumor effect of bee honey in Ehrlich ascite tumor model of mice is coincided with stimulation of the immune cells Egypt J. Immunol., 15(2):169-83
21. Azeredo, L. C., Azeredo, M. A. A., Souza, S. R. et Dutra, V. M. L(2003). Protein Contents and Physicochemical Properties in Honey Samples of Apis Mellifera of Different Floral Origen. Food Chemistry, 80(2) : 249-254



22. Babacan, S., Pivarnik, L. F., Rand, A. G. (2002). Honey amylase activity and food starch degradation. Journal of Food Science, 67 (5) :1625-1630.
23. Babacan, S., Rand, A. G. (2005). Purification of Amylase from honey. Journal of Food Science, 70 (6) : C413-418.
24. Babacan, S. et Rand, A. G. (2007). Characterization of Honey Amylase Journal of Food Science, 72(1) : 50-55
25. Babarinde, G. O., Babarinde, S. A., Adegbola, D. O., Ajayeoba, S. I. (2011). Effects of harvesting methods on physicochemical and microbial qualities of honey. Journal of Food Science Technology, 48 (5) : 628-634.
26. Baggio, A., Gallina, A., Benetti, C., Mutinelli, F. (2009). Residues of antibacterial drugs in honey from the Italian market. Food Additives and Contaminants: Part B., 2(1): 52-58.
27. Bakhiya, N., Monien, B., Frank, H., Seidel, A., Glatt, H. (2009). Renal organic anion transporters OAT1 and OAT3 mediate the cellular accumulation of 5-





- sulfooxymethylfurfural, a reactive, nephrotoxic metabolite of the Maillard product 5-hydroxymethylfurfural. *Biochem. Pharmacol.*, 78 : 414–419.
28. Balkanska, R., Marghitas, L., Crenguna, P., Ignatova, M., Tomos, L. (2013). Comparison of Physicochemical Parameters in Royal Jelly from Romania and Bulgaria. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 70(1) : 117-121
29. Ball, D. W. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of Chemical Education*, 84 (10), 1643-1646.
30. Baltrušaitytė, V., Venskutonis, R. P., Čeksterytė, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*, 101, 502-514.
31. Bankova V. S., De Castro S. L., and Marcucci M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1) : 3–15
32. Basim, E., Basim, H., Özcan, M. (2006). Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77 : 992-996.
33. Battesti, M.J. (1990). Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne : les miels Corses. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences de l'Université d'AIX- Marseille (France), 229 p.
34. Belouali H., Bouaka M. et Abdelkader H. A. (2008). Determination of Some Major and Minor Elements in the East of Morocco Honeys through Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Apiacta*, 43: 17-24.
35. Benaziza-Bouchema, D. et Schweitzer, P. (2010) Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. *Cah Agric.*, 19 (6) :432-438.
36. Bencko, V. (1983). Nickel: A review of its occupational and environmental toxicology. *J. Hyg. Epidem. Micro. Immun.*, 27 : 237
37. Bendeddouche B, Dahmani K (2011). Physical properties of honey products in Algeria. *J. of Stored Prod. and Postharvest Research*, 2: 237 - 244.







38. Bentabol, A., Hernández, Z., Rodríguez, B., Rodríguez, E., Díaz, C. (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry*, 126, 664-672.
39. Bergner, K.G. et Hahn, H.J. (1972). Zum vorkommen und zur herkunft der freien aminosäuren in honig, *Apidologie*, 3: 5-34.
40. Bertoneclj, J., Dobersek, U., Jamnik, M. et Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105 : 822-828.
41. Bertrand(1983). La conduite du rucher. Ed. Payot (7èmeEd.), Lausanne, Suisse,304 p.
42. Biondi, C., Bedini, G. et Felicioli, A. (2003).Royal jelly: proposed method for the determination of geographical origin and quality. *Apitalia*. (6): 32-37.  
Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., Albertini, M. C., Piatti, E. (2006). Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, 97, 217-222.
43. Bodea, N., Bretan, L. et Mihaly C.A. (2009). Monitoring of honey's some quality parameters. *Carpathian Journals of Food Science and Technology*. 1(1): 61–70
44. Bogdanov, S. (1988). La contamination de la ruche avec des résidus de matière nocive. *Journal Suisse d'apiculture* 85 (11): 434-441.
45. Bogdanov, S. (1993). Liquefaction of honey. *Apiacta* 27: 4-10.
46. Bogdanov, S., Bieri, K., Figar, M., Figueiredo, V., Iff, D., Kanzig, A., Stockli, H. et Zurcher, K. (1995). Miel: Définition et Directives pour l'Analyse et l'Appréciation. In *Livre Suisse des Denrées Alimentaires*, OCFIM. 1995: 1–26.
47. Bogdanov, S. (1997). Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 30, 748-753.
48. Bogdanov, S., Lullman, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Persano-Oddo, L., Sabatini, A.G.; Mercazzan, G.L.; Piro, R.; Flamini, C., Morlot, M., Heritier, J., Borneck, R., Marioleas, P.,Tsigouri, A., Kerkvliet, J.,





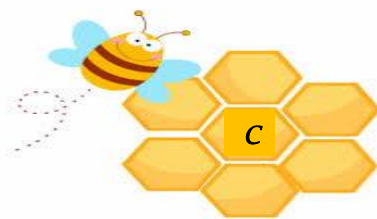
- Ortiz, A., Ivonov, T.D., Acry, B., Mossel, B. et Vit, P. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee World*, 80(2) : 61-69.
49. Bogdanov, S. (2002). International Honey Commission. Swiss Bee Research Centre, 1-62.
50. Bogdanov, S., Imdorf, A., Charrière, J.D., Fluri, P. et Kilchenmann (2003). Qualité des produits apicoles et sources de contamination. Centre suisse de recherches apicoles. 12P
51. Bogdanov, S., Ruoff, K., Oddo, L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35, S4-S17.
52. Bogdanov, S. et Gallmann, P., Stangaciu, S., Cherbuliez, T. (2006). Produits apicoles et santé. *ALP forum*, N° 41f. P. 52.
53. Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37 : 1-18
54. Bogdanov, S., Haldimann, M., Lunginbül, W. et Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Agricultural Research and Bee World*. 46(4): 269-275.
55. Bogdanov, S. (2009). The Book of Honey. *Bee Product Science*. pp :6
56. Bogdanov, S., Gallmann, P., Stangaciu, S., Cherbuliez, T. et Ceașu, C. (2011). Bogdanov, S. (2011): Pollen: Nutrition, Functional Properties, Health: A Review. *Bee Product Science*, Available online: <http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/Health/PollenBook2Review.pdf>, (accessed on 11 May 2012).
57. Bonvehí, J. S., Torrentó, M. S., Raich, J. M. (2000). Invertase activity in fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 : 507-512.
58. Borawska, M.H., Kapala, J., Hukalowicz, K., Markiewicz, R. (2000) Radioactivity of honeybee honey, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64 ; 617– 621.





- 
59. Bourkache, F. et Perret, C. (2014). La filière apicole dans les Wilayate de Tizi-Ouzou et de Blida : une ressource territoriale en devenir, Notes de Recherches, n°14, IREGE, Université de Savoie. 17 p
60. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.
61. Brouwers, E.V.M., Ebert, R. et Beetsama, J. (1987). Behavioural and physiological aspects of nurse bees in relation to the composition of larval food during caste differentiation in the honeybee. *J. Apic. Res.* 26: 11–23.
62. Bruijnsvoort, V.M., Ottink, S. J. M., Jonker, K. M. and De Boer, E. (2004). Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1058(1-2): 137-142.
63. Bruneau, E. (2002). Les produits de la ruche. In *Le traité Rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica ; pp : 354-384.
64. Bruneau, E. (2009). Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H. et al. *Le Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, Paris. 354-387
65. Bryant, V. M. Jr. et Jones, G. D. (2001). The r-values of honey: pollen coefficients. *Palynology*, 25, 11–28.
66. Buba, F., Gidado, A., Shugaba, A. (2013). Physicochemical and Microbiological Properties of Honey from North East Nigeria. *Biochem Anal Biochem.* 2: 142. 1-7.
67. Buldini, P.L., Cavalli, S., Mevoli, A., Sharma, J.L. (2001). Ion chromatographic and voltametric determination of heavy and transition metals in honey. *Food Chem.* 73:487–95
68. Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology.* 36(4) : 347–363.
69. Byrne, D. (2000). EC Commission Decision (draft) Amending Annex II to Council directive 92/118/EECb.





70. Calhelha, R. C., Falcão, S., Queiroz, M. J. R. P., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I.C. F. R. (2014). Cytotoxicity of Portuguese Propolis: The Proximity of the In Vitro Doses for Tumor and Normal Cell Lines. *BioMed Research International*. vol. 2014, Article ID 897361. 7 p.
71. Cantarelli, M.A., Pellerano, R .G., Marchevsky, E.J., Camiña, J.M. (2008). Quality of honey from Argentina : Study of chemical composition and trace elements. *J of the Argentine Chem Society*, 96 (1-2), 33-41
72. Capuano, E., Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 793-810.
73. Carpes, S.T., Begnini, R., Maties, S., Alencar, Masson, M.L. (2007). Study of preparation of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity, *Cienc. Agrotec, Lavras*, 31: 1818-1825.
74. Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., de Torres, C., Pérez-Coello, M. S. (2010). Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. *Food Research International*, 43, 2335-2340.
75. Cavia M.M., Fernandez-Muino M.A., Alonso-Torre S.R., Moreno G., Mato I., Huidobro J. F. et Sancho M. T. (2005): An attempt to establish reliable «Best before» dates for honeys originating in both continental and oceanic climates. *Apiacta*, 41 : 86-98
76. Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100 : 1728-1733.





77. Cedikova, M., Michaela, M., Lenka, S., Martina, G., Zdenek, T., Vaclav, V., Nicolas, Z., Kralickova, M., et Kuncova J. (2014). Effects of the Czech Propolis on Sperm Mitochondrial Function. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2014, Article ID 248768, 10 p.
78. Cempel, M. et Nickel, G. (2006). Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology, Polish J. of Environ. Stud. 15(3) : 375-382
79. Chakir, A., Romane, N., Barbagianni, D., Bartoli, et Ferrazzi, P. (2011). Major and Trace Elements in Different Types of Moroccan Honeys, Rev.Australian J. of Basic and App Scien., 5 : 223-231.
80. Chan G. C. F., Cheung K. W. and Sze D. M. Y. (2013). The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. Clinical Reviews in Allergy & Immunology, 44(3): 262-273.
81. Chataway, H.D. (1932). Determination of moisture in honey. Can. J. Res., 6: 532-547
82. Chauvin, R. (1968). L'abeille et la fleur in traite de biologie de l'abeille (T3).Edition Masson et Cie, Paris- : pp : 95, 286-7,293-4-9,304-6-7.
83. Chauzat, M. P., Faucon, J. P., Martel, A. C. (2006). A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France, Journal of Economic Entomology, 99(2) : 253-262.
84. Chefrour, A. (2007a) : Miel Algérien : Caractéristique physico-chimique et melissopalynologique (cas des miels de l'EST Algérie). Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'état des sciences, Université Badji Mokhtar Annaba.103p
85. Chefrour, A., Battesti, M. J. , Ait Kaki,Y ., Tahar, A. (2007b).Melissopalynology and physicochemical analysis of some North Algerian Honeys, Eu.J.Sci. Res., 18 :389-401
86. Chefrour, A., Draiaia, R., Tahar, A., Ait Kaki, Y., Bennadja, S., Battesti, M. J. (2009). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some North-east Algerian honeys. Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev., 9: 1276-1293.
87. Chen, C. et Chen, S.Y. (1995). Changes in protein components and storage stability of Royal Jelly under various conditions. Food Chem., 54: 195-200.





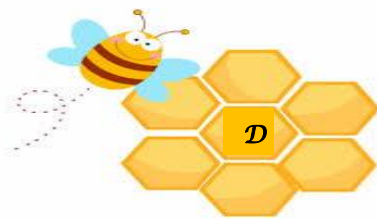
88. Cherbuliez, T. et Domorego, R. (2003). Medicinal therapy of honey .Bruxelles, Amyris, 2003, 255p.
89. Chick, H., Shin, H.S. et Ustunol, Z. (2001). Growth and acetic production by lactic acid bacteria and bifidobacteria grown in skim milk containing honey. Journal of Food Science, 66: 478-481.
90. Chua, L. S, Adnan, N. A., Abdul-Rahaman, N. L., Sarmidi, M. R. (2014a). Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. Inter. Food Research Journal, 21(2) : 773-778
91. Chua, L.S., Adnan, N.A. (2014b). Biochemical and nutritional components of selected honey samples. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment, 13(2):169-179.
92. Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. Talanta, 83, 924-929.
93. Clement, H. (2009). Guide des miels. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, 528p.
94. Coco, F.L., Valentini, C., Novelli, V, Ceccon L (1996). High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5- hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey. J. Chromatogr. A., 95-102
95. Codex Honey Standards. (1986). Proposed draft codex standard for honey. A comprehensive survey (C.P. Erridge, Ed.). Ottawa, ON, Canada
96. Codex Alimentarius (CL 1998/ 12 –S) Codex Alimentarius Commision, (1998). Codex Alimentarius standards for honey, pp 1-7.
97. Codex Alimentarius. (2001).Commission Standards, Codex Standards for Honey, (1981/ revised 1987/revised 2001). FAO– Rome , 1-7.
98. Consentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Cherchi, A., Spanedda, L., Palmas, F.(1996) . Influence of different storage conditions on honey quality. Riv. Sci. Aliment, (3) : 253–260.
99. Conti, M.E. (2000). Lazio region (central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters, Food Control, 11: 459–463.





100. Conti, M.E., Botre, F. (2001). Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environ Monit Assess.*, 69 : 267-282
101. Conti, M. E., Maria, G.F., Luca, F., G. M., Botrè, F. et Iavicoli , I. (2014). Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8:44. 1 -10
102. Cordelia C. Adultération, contamination des aliments: un risque pour la santé mais surtout un problème économique. *Société des Experts Chimistes de France Revue*. 2013, 979: 23-31
103. Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., Grenier-Loustalot, M. F. (2003). Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity. *Journal of Chromatography A*, 1021, 145-155.
104. Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., Grenier-Loustalot, M. F. (2004). Chromatographic analysis of sugars applied to the characterization of monofloral honey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380, 698-705.
105. Cousin, N. (2010). Les trésors de la ruche, Miel, gelée royale, pollen..., Paris, Editions du Club France loisirs avec l'autorisation des Editions Rustica, 143p.
106. Crane, E. (1975). History of honey. In "Honey: a comprehensive survey" (E. Crane, Ed.) (London: Heinemann), 439-488.
107. Cristofani, E ., Antonini, C., Tovo, G.R., Fioroni, L., Piersanti, A., Galarini, R. (2009). A confirmatory method for the determination of tetracyclines in muscle using high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *Analytica Chimica Acta*, 637:40-46.
108. Crousilles, A. (2014). Usages, Propriétés antibactériennes et physico-chimie de miels marocains. Thèse présentée à la Faculté de Pharmacie de Montpellier I en vue d'obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie.,121P





109. Da Silva Frozza, C. O., Garcia, C. S. C., Gambato, G. (2013). Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 52 : 137-142.
110. Daniele, G. and H. Casabianca, 2012. Sugar composition of French royal jelly for comparison with commercial and artificial sugar samples. *Food Chem.*, 134: 1025-1029
111. Das, Y. K. et Kaya, S., Organophosphorus insecticide residues in honey produced in Turkey, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2009 , 83(3) : 378-383.
112. De Almeida-Muradian, Ligia, B. K., Stramm M., Andreia H., Ortrud, M. B., da Silva A. F. et Estevinho, L. M. (2013). Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology*, 48 : 1698–1706.
113. De Belair, G. (1990). Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre éco-complexes lacustres et marécageux (El Kala, Est Algérien). Thèse présentée en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat. Option Physiologie, biologie des organismes et populations. Univ. Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, France, T1 : 185 p.
114. De la Fuente, E., Ruiz-Matute, A. I., Valencia-Barrera, R. M., Sanz, J., Martínez Castro, I. (2011). Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 129 (4) :1483-1489.







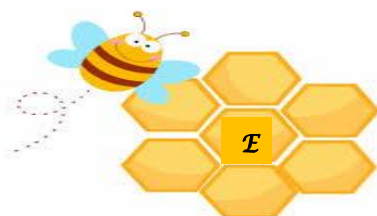
115. Dechaume-Moncharmont, François-Xavier. (2003). Butinage collectif chez l'abeille *Apis mellifera* L. : étude théorique et expérimentale. These de Doctorat en Sciences de l'Université Paris VI. 308 p.
116. Derebaşı, E., Gülten, B., Melek, C., Fazıl, G., Nurdogan, Y. et Ertürk, Ö. (2014). Physicochemical and residue analysis of honey from black sea region of turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*. 23 (1) :10 -17
117. Devillers, J., Pharm-Delegue, M. H. (2002). Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals. Editions Taylor & Francis, Londres et New-York, 332p
118. Diagomanolin, V., Farhang, M., Ghazi-Khansari, M. et Jafarzadeh, N. (2004). Heavy metals (Ni, Cr, Cu) in the Karoon waterway river, Iran, *Toxicol. Lett.* ,151 (1) : 63
119. Diez, M.J, Andres, C., et Terrab, A. (2004). Physicochemical Parameters and Pollen Analysis of Moroccan Honeydew Honeys. *International J. of Food Sci. & Tech.*, 39: 167-176.
120. Djossou, J.A., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H., Alitonou, A. G. et Soumanou M.M. (2013). Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. *TROPICULTURA*, 31(3) : 163-169
121. Domerego, R.(2002) . Santé, bien-être, apithérapie. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, pp. 390-416.
122. Domerego, R., Imbert, G., Blanchard, C. (2009). Les remèdes de la ruche Editions Alpens, Monaco, 95p.
123. Donadieu, Y. 1984. Le miel. Ed. Malloine, 60 p.
124. Doner, L.W. (1977). The Sugars of Honey-A Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28: 443-456.
125. Downey, G., Hussey, K., Kelly, J.D., Walshe, T.F., Martin, P.G. (2005). Preliminary contribution to the characterization of artisanal honey produced on the





island of Ireland by palynological and physico-chemical data. Food Chem., 91:347–54.

126. Draiaia, R., Rezki, A. R., Ben nacer, K. et Chefrou, E. (2014). Quality of Some Algerian Honey: Study of Botanical and Some Physicochemical Parameters. Middle-East Journal of Scientific Research, 22 (9): 1363-1371

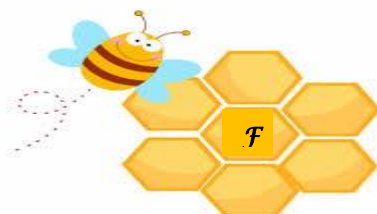


127. El-Bialee, N.M. et Sorour, M. A. (2011). Effect of adulteration on honey properties. International Journal of Applied Science and Technology, 1 (6) : 122-133
128. Emmanuelle, H., Julie, C. et Laurent, G. (1996). Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.
129. Enrich, C., Boeykens, S., Caracciolo, N., Custo, G., Vázquez, C. (2007). Honey characterization by total reflection X-ray fluorescence: evaluation of environmental quality and risk for the human health. X-Ray Spectrom, 36:215–220.
130. Erbilir, F. et Erdogrul, O. (2005). Determination of heavy metals in honey in Kahramanmaras, City, Turkey. Environmental Monitoring and Assessment, 109 : 181-187
131. Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. A revised description. Sven. Bot. Tidskrift., 54(4): 561-564.
132. Erdtman, G. (1966). Pollen Morphology and Plant Taxonomy, I: Angiosperms. Hafner, New York, NY, 553 pp.
133. Erdtman, G. (1969). Handbook of Palynology: An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores. Munksgaard, Copenhagen, 486p.
134. Ertürk, Ö., Şahin, H., Kolaylı, S., Çol Ayvaz, M. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea Region honeys. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem], 39 (1) ; 99–106





135. Escuredo, O, Seijo, MC, Fernandez-Gonzalez, M. (2011). Descriptive analysis of Rubus honey from the north-west of Spain. Intern J Food Sci Tech., 46:2329-2336.
136. Escuredo, O., Fernández-González, M. et Seijo, M. C. (2012). Differentiation of Blossom Honey and Honeydew Honey from Northwest Spain. Agriculture, 2 : 25-37;
137. European Union [EU]. Council Directive 2001/110/EC relating to honey. Official Journal of the European Communities. 2002 : 47–52.



138. Falcao, S. I., Vilas-Boas, M., Estevinho, L. M., Barros, C., Domingues, M. R. M. et Cardoso, S. M. (2010). Phenolic characterization of Northeast Portuguese propolis: usual and unusual compound. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 396(2) : 887–897
139. Faliu, L. (1994). Les miels naturellement toxiques. Revue Med. Vet., 145, (1) : 33-36.
140. Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. & Zappal a, M. (2006). The European Food Legislation and its impact on honey sector. Accreditation and Quality Assurance, 11, 49–54 ;
141. Farcas, L., Mandru, L., Nechita, A. et Oros, L. (2009). Heavy metals residues in animal products, in Maramures County during 1997–2008. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 66(1): 135–140.
142. Feás, X., Pires, J., Iglesias, A., & Estevinho, M. L. (2010). Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. Food and Chemical Toxicology, 48, 3462-3470.





143. Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. Food Chemistry, 100, 1649-1653.
144. Fournier, R. (2009). ABC de l'apithérapie ; Paris Editions Grancher. 140p
145. Fredes, C. et Montenegro, G. (2006). Heavy metals and other trace elements contents in Chilean honey, Rev. Ciencia e Investigacion Agraria, 33 : 50–58
146. Frisch, K. (1964). Aus dem Leben der Bienen, 7-te neubearbeitete und ergänzte Auflage, Springer-Verlag, BerlinFronty, 1980. L'apiculture aujourd'hui. Ed. Dargaud, 222 p.
147. Fronty, 1997. L'apiculture aujourd'hui. Nouvelle édition Rustica, pp : 100-101.
148. Fujii, A. (1995). Pharmacological effect of royal jelly. Honeybee Science, 16:97–104



149. Gairola, A., Tiwari, P., Tiwari, J.K. (2013). Physicochemical properties of Indian honeys of apis cerana- indicatifhoney from Uttarkashi district of Uttarakhand, India. J of Global Bioscien., 2(1):20-25
150. Gallina, A., Stocco, N., Mutinelli, F. (2010). Karl Fischer titration to determine moisture in honey: a new simplified approach. Food Control, 21, 942-944.
151. Garcia, M.C., Perez, A.C., Harrara, A. (2001). Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. Food Sci. Tech. Int., 7: 155 - 158.
152. Gharbi, M. (2011). Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire; Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon. 247 p





153. Gheldof, N., Wang, X. H., Engeseth, N. J. (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5870-5877.
154. Glatt, H., Schneider ; H., Liu, Y. (2005). V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. *Mutation Research*, 580 : 41–52
155. Glatt, H. R., et Sommer, Y. (2006). Health risks by 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compound. In K. Skog, & J. Alexander (Eds.), *Acrylamide and other health hazardous compound in heat-treated foods* (pp. 328-357). Cambridge: Woodhead Publishing.
156. Gleiter, R. A., Horn, H. et Isengard, H. D. (2006). Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. *Food Chem.*, 96 :441–445.
157. Gökmen, V. et Senyuva, H. Z. (2006). Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 : 2845–2849.
158. Golob, T., Dobersek, U., Kump, P. et Necemer, M. (2005). Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chem.*, 91:593–600
159. Gomes, S., L.G. Dias, L.L. Moreira, P. Rodrigues and L.M. Estevinho, 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food Chem. Toxicol.*, 48: 544-548.
160. Gonnet, M. (1982). *Le Miel, Composition, Propriétés et Conservation*. 2ème Ed., OPIDA. Echauffour, France. 31 p.
161. Gonnet, M. et Vache, G., (1985). *Le Goût du miel*. Union Nat. Apic. Fr., Paris, 146 pp.
162. Gonnet, M., (1986). L'Analyse des Miels. Description des Quelques Méthodes de Contrôle de qualité. *Bull. Tech. Apicole* 1986 ; 13(1): 17-36.
163. Gonnet, M. et Vache, G. (1992). *The taste of honey*. Apimondia, Bucarest





164. Gonnet, M., (1993). Les principaux critères de la qualité d'un miel. *L'Abeille de France*, 783(6), 269-271.
165. Gonzalez Paramas A.M., Gomez Báñez J.A., Garcia Villanova RJ, Rivas Pala T., Ardanuy Albajar R., Sanchez S.J. (2000). Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *J Sci Food Agric.*, 80(1):157–165
166. Gout, J. et Jardel, C.l. (1998). Le monde du miel et des abeilles. Ed. Delachaux et Niestlé, Paris, 157 p.
167. Grandjean, P. (1984) Human exposure to nickel. *IARC Sci Publ*, 53:469–485
168. Gretchen, D. J. et Vaughn, M., Bryant, J.R. (2004). The use of ETOH for the dilution of honey. *Grana*, 43: 174–182
169. Gupta, J. K., Kaushik, R., Joshi, V. K. (1992). Influence of different treatments, storage temperature and period on some physic-chemical characteristics and sensory qualities of Indian honey. *Journal of Food Science and Technology*, 29, 84-87.

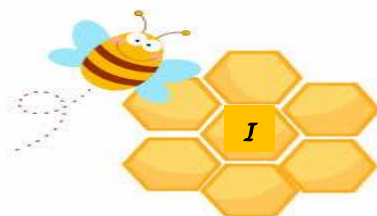


170. Hadorn, H., Zürcher, K. und Doevelaar, F. (1962) Über Wärme- und Lagerschädigungen von Bienenhonig, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, 53, 191-229
171. Hodges, D. (1984). The pollen loads of the honey bee: A guide to their identification by colour and form. London: Bee Research Association.
172. Hoffman, D. R. et Jacobson R.S. (1984). Allergens in hymenoptera venom XII: how much protein is in a sting? *Ann Allergy*, 52(4): 276-278.



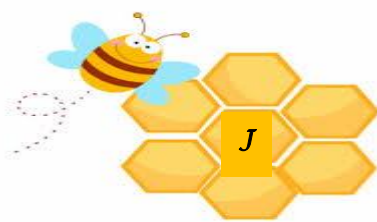


173. Hoffman, D. R. (2006) Hymenoptera Venom Allergens. Clinical Reviews in Allergy and Immunology, 30 : 109-128
174. Hokin, B., Adams, M., Ashton, J. et Louie, H. (2004). Analysis of the cobalt content in Australian foods. Asia Pac J Clin Nutr., 13 (3): 284-288
175. Hoyet, C. (2005). Le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de Docteur en Pharmacie Université Henri Poincare, Nancy1. 96p
176. Huchet, E., Coustel, J. et Guinot, L. (1996). Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire, France. pp.16.
177. Huidobro, J. F., Santana, F. J., Sanchez, M. P., Sancho, M. T., Muniategui, S., & Simal-Lozano, J. (1995). Diastase, invertase and beta-glucosidase activities in fresh honey from northwest Spain. Journal of Apicultural Research, 34, 39–44.
178. Hussain, I., Hussain, J., Farid, N., Arif, M. (2015). Distribution of Heavy Metals in River Chambal and its Tributaries. Toxicology and Environmental Health Sciences, 11(1) : 01-14



179. INERIS. (2006). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques - Nickel et ses dérivés. INERIS-DRC-02-25590-02DF44. 60 p.
180. Islam, M. N., Khalil, M. I., Asiful, M. I., Gan, S. H. (2013). Toxic compound in honey. J. of Applied Toxicology, 34: 733–742





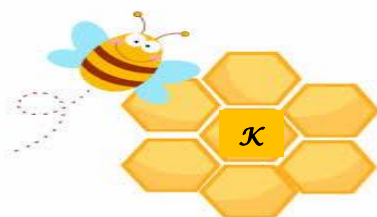
181. James, O.O., Mesubi, M.A., Usman, L.A., Yeye, S.O., Ajanaku, K.O. (2009). Physical characteristics of some honey samples from North-Central Nigeria. *Int J Phy Sci.*, 4: 464 -470.
182. Jan-Mei, S., Mohd-Nordin, M. S. et Norrakiah, A. S. (2010). Fructooligosaccharides in honey and effects of honey on growth of *Bifidobacterium longum* BB 536. *International Food Research Journal*, 17: 557-561
183. Jilani, I.B.H., Schweizer, P., Khouja, M.L., Zouaghi, M., Ghrabi, Z. (2008). Physicochemical spectra of honeys produced in Tunisia (Southwest of Kef). *Apiacta*, 43:38-48
184. Jimoh, W.L.O. et Umami, U.A. (2014). Chemical characteristic of selected imported and local honey sold around Kano Metropolis, Nigeria. *Ayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(2): 55 – 58
185. Jones, S. L., Jones, H. R. and Thrasyvoulou, A. (2011). Disseminating research about bee products. A review of articles published in the *Journal of Apicultural Research* over the past fifty years. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(3): 105-116.
186. Joshi, S. R., Pechhacker, H., Willam, W. et Von der Ohe, W. (2000). Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie*, 21, 367–375
187. Joudisius, E. et Simoneliene, A. (2009). Trace metals and pesticide residues in honey on the Lithuanian market. [In Lithuanian] *Veterinarija ir Zootechnika*, 45 (67) :27-32.
188. Journal Officiel Français (1977). Arrêté du 15/02/77 Relatif aux Méthodes Officielles d'Analyse du Miel (Journal Officiel de la République Française - N.C. du 22/04/77). 1977.







189. Juszczak, L., Fortuna, T. (2006). Rheology of selected Polish honeys. Journal of Food Engineering, 75, 43-49.



190. Kadem, D.E.J. (2005). Évaluation et comportement des métaux lourds (Cd – Cr – Cu – Ni – Pb – Zn et Mn) dans les sols a vocation agricole et végétation naturelle soumis a une pollution atmosphérique. (EL-HADJAR – ANNABA – EST ALGÉRIEN). Influence de la végétation sur la dynamique de ces métaux. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur d'état en écologie. 115p
191. Kahraman, T., Buyukunal, S. K., Vural, et Altunatmaz, S. S. (2010). Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. Food Chemistry, 123 (1), 41-44.
192. Kajiwarra, S., Gandhi, H. et Ustunol, Z. (2002). Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium spp.*: An *in vitro* comparison with commercial oligosaccharides and inulin. Journal of Food Protection. 65: 214-218.
193. Kamal, M. A., Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. Saudi Journal of Biological Sciences, 18, 17-21.
194. Kameda et Tamada (2009). Variable-temperature <sup>13</sup>C solid-state NMR study of the molecular structure of honeybee wax and silk. International Journal of Biological Macromolecules, 44(1) 1: 64-69.
195. Kao, Y.T., Lu, M.J. et Chen, C. (2011). Preliminary Analyses of Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Tea Pollen Extracts. Journal of Food and Drug Analysis, 19 (4) : 470-477



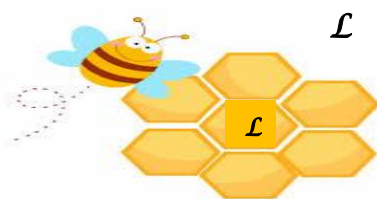


196. Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., Čeksterytė, V. (2010). Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *Food Science and Technology*, 43, 801-807.
197. Kasperová, J., Jozef, N., Popelka, P., Dičáková, Z., Alena, N., Pavel M. (2012). Physico-chemical indicators and identification of selected Slovak honeys based on colour measurement. *ACTA VET. BRNO* 2012, 81: 057–061; doi:10.2754/avb201281010057).
198. Kayacier, A. et Karaman, S. (2008). Rheological and some physicochemical characteristics of selected Turkish honeys. *Journal Texture Study*, 39:17–27.
199. Kebede, N., Subramanian, P.A. et Gebrekidan M. (2012). Physico-chemical analysis of Tigray honey: An attempt to determine major quality markers of honey. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 26: 127-133.
200. Khalil, M. I., Salaiman, S. A., et Gan, S. H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2388-2392.
201. Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Asiful, M.I., Nazmul, I.M., Amrah, S.S., Siew, G. H. (2012). Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules*, 17(9): 11199-11215.
202. Kivima, E., Seimanb, A., Palla, R., Sarapuua, E., Martverka, K., Laos, K. (2014). Characterization of Estonian honeys by botanical origin. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 63(2): 183-192.
203. Kowalski, S., Lukasiewicz, M., Aleksandra, D.C., Gabriela, Z. (2013). 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) – Heat-Induced Formation, Occurrence in Food and Biotransformation – a Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 63: 207-225.
204. Kristen, A.B., William, L.R, Coulson, R.N., Bryant, V.M.( 2004). Pollen selection by federal honey bee (Hymenoptera : Apidae) Colonies in a Coastal Prairie Landscape. *Environ. Entomol.*, 33(3) : 727-739





205. Kubis, I. et Ingr, I. (1998). Effects inducing changes in hydroxymethylfurfural content in honey. Czech J of Animal Sci., 43:379–383
206. Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100 : 526-534.
207. Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004): Antioxidant activity of propolis of various geographic origins Original Food Chemistry, 84(3): 329-339.
208. Kushima, K., Hasegawa, N., Ogawa, E. (1973). Effects of royal jelly on autonomic imbalance in menopausal women. The World of Obstetrics and Gynecology, 25: 439-443
209. Kuster, B.F.M., (1990). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). A review focussing on its manufacture. Starch/Stärke, 42:14-321



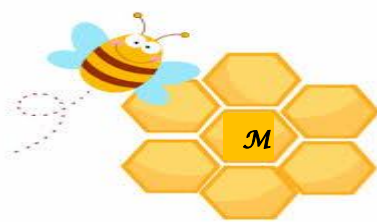
210. Lachman, J., Koliňova, D., Miholova, D., Kosata, J. (2007). Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. Journal of Food Chemistry, 101(3) :973-979.
211. Lachman, J., Orsák, M., Hejtmánková, A., & Kovářova, E. (2010). Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. Food Science and Technology, 43 : 52-58.
212. Leconte, Y. (2002). L'abeille dans la classification des insectes, Abeilles&Fleurs. 628
213. Lee, J.Y., Kang, S.S., Kim, J.H., Bae, C.S., Choi, S.H. (2005) Inhibitory effect of whole bee venom in adjuvant-induced arthritis *In Vivo* , 19(4):801-805





- 
214. Lefief-Delcourt, A. (2010). Le miel malin. Paris, Le ducs, 176 p.
215. Legrand, J.J. (1987). Les abeilles sont-elles les cosmétologues du règne animal. Aujourd'hui l'apithérapie, supplément n°465 : 48 p.
216. Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik, G., Klepacz-Baniak, J., Czekońska, K. (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. Food Chemistry, 100 : 237-240
217. Lequet, L. (2010). Du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse de doctorat vétérinaire; Université Claude Bernard, Lyon, 193p.
218. Lercker, G., Caboni, M.F., Vecchi, M.A. et Sabatini, A.G. (1993). Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. Apicoltura, 8: 27-37.
219. Louveaux, J. (1968). L'analyse pollinique des miels. In: Masson (Editor): Traité de Biologie de l'Abeille, III, Paris, pp. 325-362.
220. Louveaux, J., Maurizio, A. et Vorwohl, G. (1970). Méthodes de la Méliissopalynologie. Commission internationale de la botanique apicole de l'U.F.S.B. Apidologie, 1(2):211-227.
221. Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. Bee World, 51 (3), 125-138.
222. Louveaux, J. et Abed, L. (1984). Les miels d'Afrique du Nord et leur spectre pollinique. Apidologie, 15(2): 145-170.
223. Louveaux, J. (1985). Le Miel. Cah. Nutr. Diét., 20: 57-70.
224. Lu, L.C., Chen, Y.W. et Chou, C.C. (2005): Antibacterial activity of propolis against Staphylococcus aureus. International Journal of Food Microbiology, 102: 213-220.





225. Machiels, D. et Istasse, L. (2002). La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments. Ann. Méd. Vét., 2002, 146, 347-352
226. Makhoulfi, C, Kerkvliet, J.D., D'albore, R .G., Choukri, A., Samar, R . (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. Apidologie, 41 : 509–521
227. Manikis, I. et Thrasivoulou, A. (2001). The relation of physico-chemical characteristics of honey and the crystallization sensitive parameters. Apiacta, 36, 106–112.
228. Manu Kumar, H. M., A. P. Ananda, V. Deepa and Siddagangaiah (2013). Study of Physicochemical parameters and Antioxidant in Honey collected from different locations of India. International Journal of Pharmacy & Life Science (IJPLS), 4(12): 3159-3165
229. Manzanares, A.B., Garcia, Z. H., Galdon, B.R., Rodriguez, E. R., Romero, C.D. (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. Food Chemistry, 126: 664–672.
230. Marceau, J. – Noreau, J. – Houle, E. (1994). Les HMF et la qualité du miel. Volume 15, numéros 2. Rapport de la Fédération des Apiculteurs du Québec, service de zootechnie, MAPAQ, 4 p.
231. Marchenay, P., Bérard, L. (2007) L'homme, l'abeille et le miel Edition De Borée, 223p
232. Marchini, L. C., Moreti, A. C. C. C., Ivani, P. O., Sodré, G. S. (2007). Physicochemical composition of *Apis mellifera* honey samples from São Paulo State, Brazil. Quim. Nova, 30: 1653-1657.
233. Marcucci, M.C., 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26 : 83–99





234. Martin, B. (1997). Cristallisation du saccharose dans la production du sucre dur d'érable .Mémoire pour l'obtention de Master Science. Faculté des Sciences de l'Agriculture et l'Alimentation, Université Laval, 66p.
235. Mateescu, C. et Barbulescu, D. (1999). Enhanced nutritive functional and therapeutic action of combined bee products in complex food supplements. Roumanian Bioechnology Letter, 4 :163-172
236. Matei, N., Birghila, S., Dobrinas, S., Capota, P. (2004). Determination of vitamin C and some trace elements (Ni, Mn, Fe, Cr) in Bee products. Acta. Chim. Slov., 51 : 169-175,
237. Mateo, R., Bosh-Reig, F. (1997). Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. Food Chemistry, 60 (1) :33-41
238. Maurizio, A. et Louveaux, J. (1965). Pollens de Plantes Mellifères d'Europe. Union Groupements Apic. Fr., Paris, 148 pp.
239. Maurizio, A. et Louveaux, J. (1967). Les méthodes et la terminologie en méliissopalynologie. *Rev. Palaeobot. Palynol.* , 3: 291-295.
240. Maurizio, A. (1968). La formation du miel in Chauvin et al. Traité de biologie de l'abeille Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3 : 264-276
241. Maurizio, A. (1979). Microscopy of Honey. In: Crane E (Ed.), Honey: A Comprehensive Survey London: Heinemann in Cooperation with International Bee Res. Ass. 240–257.
242. Megherbi M. (2006). Extraction et analyse de traces d'oligo- et polysaccharides - : application au contrôle qualité des miels. Thèse de doctorat en Chimie. Université Claude Bernard (Villeurbanne, Rhone). 246p.
243. Mekious, S., Zahia, H., Étienne, B., Carine, M., Alain, G., Thierry, H. (2015). Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 19(3), 221-231





244. Mendes, E., Brojo-Proença, E., Ferreira, I., Ferreira, M.A. (1998). Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydr. Polym.*, 37(3):219-223.
245. Merin U., Bernstein, S., et Rosenthal, I. (1998). A parameter for quality of honey. *Food Chemistry*, 63 :241–242.
246. Michel, V.B., Stef, J.M.O., Klaas, M.J., Enne, D.B. (2004). Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. of chromatography A.*, 1058: 137-142.
247. Michez, D. (2007). La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal. *OSMIA n°1* : 23-26.
248. Mihaly-Cozmuta, A., Mihaly-Cozmuta, L., Varga, C., Marian, M. et Peter, A. (2011). Effect of thermal processing on quality of polyfloral honey. *Romanian Journal of Food Science*, 1(1): 45–52.
249. Millet, J. (2006) : Matières premières produites par l'abeille. In *Actifs et additifs en cosmétologie*, Paris, Lavoisier. pp : 335-363.
250. Milum, V. G. (1956) *Proc. 10th Int. Congr. Entomol.* 4, 1085–1088. IN : FRUMHOFF PETER, C. ET BAKER J. A genetic component to division of labour within honey bee colonies. *Nature* .1988 ; 333 : 358 - 361
251. Molan, P.D. (1992). The antibacterial activity of honey. *Bee World*, 73, 5-28.
252. Molan, P. D. (1996). In *food authentication*. Eds P.R. Asmhurst & M.J. Dennis. Chapman & Hall, London.
253. Molan, P.C. (2009). Debridement of wounds with honey. *J Wound Technol*, 5: 12–7
254. Mondragón-Cortez, P., Ulloa, J.A., Rosas-Ulloa, P., Rodríguez-Rodríguez, R. et Resendiz-Vázquez J.A. (2013). Physicochemical characterization of honey from the West region of México. *CyTA – Journal of Food*, 11(1):7–13
255. Moniruzzaman, I., Siti, A. S., Khalil, I. M. et Siew, H.G. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, 7:138 .1-12

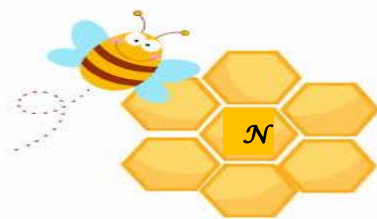




256. Moniruzzaman, I., Khalil, M. I., Asiful, M.I., Gan, S.H. (2014). Toxic compounds in honey. *J. Appl. Toxicol.*, 34: 733-742.
257. Montrose, D. C. et Floch, M. H. (2005). Probiotics used in human studies. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 39: 469-484.
258. Moo-Huchin, Victor, M., Gustavo, A. González-Aguilar, José, D. , Lira-Maas, Pérez-Pacheco, E., Estrada-León, R., Moo-Huchin , M. et Sauri-Duch, E. (2015). Physicochemical Properties of *Melipona beecheii* Honey of the Yucatan Peninsula. *Journal of Food Research*, 4(5) : 25-32
259. Moorhead, D. (1993). The relationship of Ph and acidity in wine., In : The complet Handbook of Winemaking. Kent G.K., Arbor, MI 1993
260. Mora, M. I., Marioli, J. M. (2001). Honey carbohydrate analysis by HPLC, with electrochemical detection, using NI-CR alloy electrode. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 24 (5), 711-720.
261. Mora-Escobedo, R., Mogel-Ordoñez, Y., Jaramillo-González, M.E. et Gutiérrez-López, G.F. (2006). The composition, rheological and thermal properties of Tajonal (*Viguiera dentata*) Mexican honey. *International Journal of Food Properties*, 9: 299–316.
262. Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L. M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (5), 1096-1101.
263. Muller, W.J., Hepburn, H.R. (1994). Juvenile hormone III and wax secretion in honeybees (*Apis mellifera capensis*). *Journal of Insect Physiology* 40, 873–881.
264. Munstedt, K. et Bogdanov, S. (2009) Bee products and their potential use in modern medicine. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1 (3): 57-63.







265. Naab, O. A., Tamame, M. A., Caccavari, M. A. (2008). Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. Spanish Journal of Agricultural Research. 6 (4) : 566-576.
266. Nabi-Shah, G.H., Mathivanan, V., Manzoor, M., Mir, G. M. et Selvisa, B. (2013). Melissopalynological Characterization of Honey of *Apis mellifera* from Plains of Jammu and Kashmir and Tamil Nadu. International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR). 3(3) : 143-148)
267. Nagai, T., Inoue, R., Suzuki, N., Nagashima, T. (2009). Alpha-amylase from persimmon honey: purification and characterization. International Journal of Food Properties, 12, 512-521.
268. Nair, S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyse physicochimique des miels Algériens. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'état des Sciences, Université d'Oran .202p
269. Namita, G. et Chakrabarti, J. (1992). Studies of HydroxyMethyl Furfural formation during storage of honey. J.Fd.Sci.Technol., 29(6) :399-400
270. Nanda, V, Sarkar, B. C, Sharma, H. K. et 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.
271. Narita, Y.; Nomura, J.; Ohta, S.; Inoh, Y.; Suzuki, K. M.; Araki, Y.; Okada, S.; Matsumoto, I.; Isohama, Y.; Abe, K.; Miyata, T. and Mishima, S. (2006): Royal jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines. Biosci. Biotechnol. Biochem., 70(10):2508-14.





272. Nayik, G. A. et Nanda, V., (2015). Physico-Chemical, Enzymatic, Mineral and Colour Characterization of Three Different Varieties of Honeys from Kashmir Valley of India with a Multivariate Approach. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 65(2) : 101–108
273. Nelson, J.M. et Cohn, D. J., (1924). Invertase in honey. *J. Biol. Chem.*, 61, 193-224
274. Nilsson, S. et Praglowski, J., (1992). Erdtman's Handbook of palynology. 2<sup>nd</sup> Edition. Munksgaard. Coopenhagen, 580p.



275. Ojeda de Rodríguez, G., B. Sulbarán de Ferrer, A. Ferrer and B. Rodríguez. 2004. Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84 (4): 499-502
276. Oršolić, N., Knežević, A., Šver, L., Terzić, S., Hackenberger B .K., Bašić, I. (2003). Influence of honey bee products on transplantable murine tumors. *Veterinary and Comparative Oncology* 1 (4): 216-226.
277. Oršolić, N. (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and ´in vitro. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2 :1-20
278. Oryan, A., Zaker, S.R. (1998). Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits *J. Vet. Med.*, 45(3):181-188
279. Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Cont.*, 18: 52-58.
280. Ouchemoukh, S., Schweitze, R. P., Bey, M.B., Djoudad-Kadji, H. et Louaileche, H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food Chem.*, 121: 561-568
281. Oudjet, k. (2012). Le miel : une denrée à promouvoir Infos-CACQE N°:00.3p





282. Ozcan, M. M. et Al Juhaimi, F. Y. (2012). Determination of heavy metals in bee honey with connected and not connected metal wires using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Environmental Monitoring and Assessment*, 184 (4) : 2373–2375



283. Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., Estevinho, L.M. (2013). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63 : 233-239
284. Patricia, M. (1996). Proceedings of the technical staff seminar. A Kenya National Beekeeping Station Production, Ministry of Agriculture and Rural Development, 21-25.
285. Peacock, P. (2008) Keeping bees, a complete practical guide Edition Gaia Book, a division of Octopus Publishing group, 148p.
286. Pérez, R. A., Iglesias, M. T., Pueyo, E., González, M., De Lorenzo, A. C. (2007). Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 :360-365.
287. Perna, N., Simonetti, A., Immacolata, I., Sofo, A. et Gambacorta, E. (2012). Metal content of southern Italy honey of different botanical origins and its correlation with polyphenol content and antioxidant activity. *International Journal of Food Science and Technology*, 47 : 1909–1917
288. Persano-Oddo, L., Baldi, E., Accorti, M. (1990). Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie*, 21: 17-24.





289. Persano Oddo, L., Piazza, M. G., Pulcini, P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie*, 30, 57-65.
290. Pesenti Marion, E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J.C. et Tegoni M. C. (2008). Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change. *Journal of Molecular Biology*, 380 (1): 158-169.
291. Petrovic, Z. T., Mandik, M. L., Grgic, J. et Grcic, Z. (1994). Ash and chromium levels of some types of honey. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 198: 36–39
292. Pfister, R. (1895). Versuch. Einer Mikroskopie des Honigs, Forschungsbereich Lebensmittel, Bez. Hyg. Pharm. 2, 25; 20. IN : Von Der Ohe, W., Oddo, L., Piana, M., Morlot, M., Martin, P. (2004) Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35: S18–S25
293. Pham-Délègue, M.H. (1999). Les abeilles. Genève, Minerva, 206 p.
294. Pharmacopée Européenne (2008). 7ème Édition, Miel n°2051, p. 2163-2165
295. Phipippe, J.M. (1988). Le guide de l'apiculture. Ed. SUD, Paris, pp : 200-295.
296. Phipippe, J.M. (1999). Le guide de l'apiculteur. 3ème Ed., EDISUD, la Calade, Aix-en-Provence. France, 347 p.
297. Piazza, M.G., Accorti, M. et Persano Oddo, L.(1991). Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apiculture*, 7: 51–63.
298. Picaud, J. (2013). Immunothérapie spécifique aux venins d'hyménoptères. Etude rétrospective portant sur 237 patients au CHU de Nancy. Thèse de Doctorat en Médecine, Université de Lorraine, France. 59 p
299. Pichard, A. (2003). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, plomb et ses dérivés. INERIS.03 avril 2003. [Page consultée le 06/05/2011].90p.



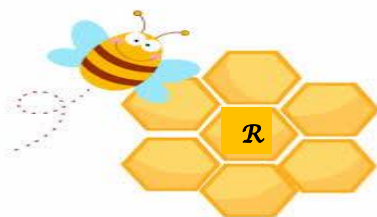


300. Piro, R., Capologno, F., Baggio, A., Guidetti, G., Mutinelli F. (1996) - Conservazione del miele: Cinetica di formazione dell'idrossimetilfurfurale e di dedegradazione degli enzimi. *Apic. Mod.*, 87: 105-114.
301. Pisani, A., Protano, G. et Riccobono, F. (2008). Minor and trace elements in different honey types produced in Siena county (Italy). *Food Chem.* 107:1553–6
302. Pohl, P. (2009). Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28 ; 117–128.
303. Pohl, P., Steck, H., Sergiel, I. et Jamroz, P. (2012). Different Aspects of the Elemental Analysis of Honeyby Flame Atomic Absorption and Emission Spectrometry: A Review. *Food Anal Methods*, 5:737–751.
304. Pontis, J. A., Costa, L. A. M. A., Silva, S. J. R., Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Sci. Technol, Campinas*, 34(1): 69-73
305. Popa, M., Roxana, B., Simona, V., Mirel, G., Elena, B. (2009). Study regarding the quality of honey-changes in hydroxymethylfurfuraldehyde (HMF) content of honey from Transylvania (Romania). *Annals. Food Sci. and Technology*, 10: 506-509.
306. Popek, S. (1998). Electrical conductivity as an indicator of the quality of nectar honeys. *Forum Ware*, 1–4, 75–79.
307. Popek, S. (2002). A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry*, 79, 401-406.
308. Porrini, C., Sabatini, A.G., Girotti, S., Ghini, S., Medrzycki, P., Grillenzoni, F., Bortolotti, L., Gattavecchia E. et Celli G. (2003). Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination, *Apiacta*, 38 : 63-70.
309. Pravin, U. S. N., Manisha, P. T. et Ravindra, M. M. (2012). Heavy Metals in Vasai Creek, Mumbai: Applied Monitoring and Impact Assessment. *Science and Technology*, 2(4): 87-97.
310. Projet de l'Union Européenne 96 / 0114(CNS)





311. Prost, P. (1972). L'apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher. 3ème Ed. Edition J.-B. Baillière, Paris 6, 446 P.
312. Prost, P. (1987). Apiculture. Ed. Tec. et Doc., 6ème édition, pp: 310-346.
313. Prost, P. et Leconte (2005) .Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier, 698p.
314. Provenzano, M.R., El Bilali H., Simeone, V., Baser, N., Mondelli, D. et Cerari, G. (2010). Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard, Rev. Food Chem., 72 : 89-95
315. Przybylowski, P. et Wilczynska, A. (2001). Honey as a environmental marker. Food Chemistry, 74:289-291.
316. Puchler, J., Vorwohl, G. et Gierxher, K. (1984). Facteurs qui influencent la formation d'HMF dans le miel. Apidologie, 15(2) :185-186.
317. Pulcini, P. et Vit, P. (1996). Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honeys from Venezuela. Journal of Apicultural Research, 35(2), 57–62



318. Radisson, L. La commercialisation de miel contaminé par du pollen issu d'un OGM est soumise à autorisation, actu-environnement.com. In Lanzelotti P. (2011). Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids content in honey using authenticated standards « ad hoc » extracted from Argentine bee plants, Abstracts Book of Apimondia. ; 157 : 194 p.
319. Ramalhosa, E.E., Gomes, T.T., Pereira A.P., Dias, T.T. et Estevinho ; L.M. (2011). Mead production tradition versus modernity. Advanced Food Nutritional Research. 63 : 101–118.





320. Ramírez-Jiménez, A., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E. (2000). Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Res. Int.*, 33 : 833–838.
321. Rashed, M.N. et Soltan, M.E. (2004). Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 725-735.
322. Ravazzi (2003). Les autres produits de la ruche In « Abeilles et apiculture». Ed: VECCHI. pp : 118-121.
323. Reille, M. (1970). Etude pollen analytique des tourbières du Maroc. Recherches préliminaires et premiers résultats. Thèse de spécialité, Univ. De Marseille, 61 p.
324. Reille, M. (1990). Leçon de Palynologie et d'Analyse Pollinique. Ed. CNRS, Paris. 199 p
325. Reille, M. (1992). Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord. Ed. du Laboratoire de Botanique Historique et Palynologie. Marseille, 543 p.
326. Reille, M. (1995). Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord. Supplément 1. Ed. du Laboratoire de Botanique Historique et Palynologie. Marseille, 334 p.
327. Ricciardelli D'Albore, G. et Persano Oddo, L. (1978) ; *Flora Apistica Italiana*. Federazione Apicoltori Italiani. 1978.
328. Ricciardelli D'Albore, G., (1979). L'origine géographique de la propolis, *Apidologie*, 10 :241-267.
329. Ricciardelli D'Albore (1998). *Mediterranean Melissopalynology*. Perugia: Institute of Agricultural Entomology, University of Perugia.
330. Risner, C. H., Kiser, M. J., Dube, M. F. (2006). An aqueous high-performance liquid chromatographic procedure for the determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey and other sugar-containing materials. *Journal of Food Science*, 71 (3), C179-C184.





- 
331. Roldán, A., Van Muiswinkel, G.C.J., Lasanta, C., Palacios, V., Caro, I. (2011). Influence of pollen addition on mead elaboration: Pysicochemical and sensory characteristics, Food Chemistry, 126 : 574-582.
332. Rossant, A. (2011): Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Ina el-université de Limoges Cedex France. 106p.
333. Ru, Q.M., Feng, Q., He, J.Z. (2013). Risk assessment of heavy metals in honey consumed in Zhejiang province, southeastern China. Food Chem Toxicol, 53:256–62.
334. Ruiz-Matute, A. I., Brokl, M., Soria, A. C., Sanz, M. L., Martínez-Castro, I. (2010). Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of tri- and tetrasaccharides in honey. Food Chemistry, 120 : 637-642.
335. Ruschioni, S., Riolo, P., Roxana, L. M., Mariassunta, S., Maddalena, C. , Porrini, C. et Isidoro, N. (2013). Biomonitoring with Honeybees of Heavy Metals and Pesticides in Nature Reserves of the Marche Region (Italy). Biol Trace Elem Res., DOI 10.1007/s12011-013-9732-6
336. Ruttner, F. (1968) 1. Systématique I. Systématique du genre Apis in Chauvin et al. Traité de biologie de l'abeille Edition Masson & Cie, Paris
337. Ruttner, F., Tassencourt, T. L. et Louveaux, J. (1978). Biometrical statistical analysis on the geographic variability of Apis mellifera L. Apidologie, 9(4), 363 – 381.
338. Ruttner, F. (1988). Biogeography and taxonomy of honeybees. Springer-Verlag, Berlin, 284 p
339. Rzepecka-Stojko A. , Pilawa, B., Ramos, P., Jerzyst O. Antioxidative properties of bee pollen extracts examined by EPR spectroscopy. Journal of Apicultural Science, 56 (1) : 23-31







340. Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Caboni, M.F., Bogdanov, S. et Almeida-Muradian, B.L. (2009). Quality and standardisation of Royal Jelly. J. ApiProd. ApiMed. Sci. ,1(1): 1-6.
341. Saghaei, S., Ekici, H., Demirbas, M., Yarsan, E. et Tumer, I. (2012). Determination of the Metal Contents of Honey Samples from Orumieh in Iran .Kafkas Univ Vet Fak Derg., 18 (2): 281-284
342. Sahinler, N., Sahinler, S. et Gul, A. (2004). Biochemical Composite ion of Honeys Produced in Turkey. J. Apic. Res., 43: 53–56. 7 – 9.
343. Saif-ur-Rehman, M. Zia Farooq, K. et Tahir M. (2008a). Physical and spectroscopic characterisation of honey from Pakistan. Journal of Agricultural Science Investigation, 35(2), 161-166.
344. Saif-ur-Rehman, Zia Farooq K., et Tahir M. (2008b). Physical and spectroscopic characterization of Pakistani honey. Cien. Inv. Agr. ,35(2): 199-204.
345. Saki, H., Suzuki, O., Moriko, O., Shigeo, S.(1972). Changes in quality of honey caused by heating and storage.Part I : Changes in HMF content of honey. National Food Res. Institute. Ministry of Agriculture and Forestry Tokyo :248-256
346. Salomon, D., Baruti N. Rosset, C. Whyndham-White, 2010. Le miel : de Noé aux soins de plaies care Rev Med Suiss, 28: 871-4.
347. Samy, R.P., Pachiappan, A., Gopalakrishnakone, P., Maung, M. T., Yap, E. H., Vincent, T.K. C, Bow, H. aet Weng, J. T. (2006). In-vitro antimicrobial activity of natural toxins and animal venoms tested against *Burkholderia pseudomallei* . BMC Infectious Diseases, 6(100) :1- 16





348. Sano, O., T. Kunikata, K. Iwaki, Ikeda M., et Kurimoto M. (2004). Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by twodimensional gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*14, 52(1):.15–20
349. Sanz, M. L., González, M., De Lorenzo, C., Sanz, J., Martínez-Castro, I. (2004). Carbohydrate composition and physicochemical properties of artisanal honeys from Madrid (Spain): occurrence of *Echium* sp honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1577-1584.
350. Sanz, M. L., González, M., De Lorenzo, C., Sanz, J., Martínez-Castro, I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*, 91, 313-317.
351. Saury, A. (1981). *Les plantes mellifères (l'abeille et ces produits)*. Ed. Le Chevalier. 171 p.
352. Saxena, S., Gautam, S. et Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118: 391-397
353. Scazzocchio, F., D'Auria, F.D., Alessandrini, D., Pantanella, F., 2006. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol. Res.*, 161, 327–333.
354. Schade, J.E; Marsh, G.L. and Eckert, J.E. (1958). Diastase activity and hydroxymethyl furfural in honey and their usefulness in detecting heat adulteration. *Food research*, 23 : 446–463.
355. Semkiw, P., Skowronek, W., Skubida, P. (2008). Changes in water content of honey during ripening under controlled condition. *Journal of Apicultural Science*, 52 (1), 57-63.
356. Serra Bonvehí, Mundo, J. Elias, P. (1988) Study of pollen spectrum of ling heather, *Calluna vulgaris* L (Hull), honeys produced in Spain. *J Apic Res*, 27 : 169-174





357. Serrano, S., Espejo, R., Villarejo, M. et Jordal, M.L.(2007). Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 76-79.
358. Sforcin, J.M. (2007): Propolis and the immune system. *Journal of Ethnopharmacology*, 1-14.
359. Shahnawaz, M., Saghir, A. S., Mirza, H., Abdul, R. et Sadat, S.K. (2013). A study on the determination of physicochemical properties of honey from different valleys of Gilgit-Baltistan. *International Journal of Agricultural Science Research*, 2(2) : 049-053
360. Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. *Food Chemistry*, 121, 238-243.
361. Silva A. S., Cláudio N., Alves b, Kelly das G. Fernandesc et Regina C. S. M. (2013). Classification of Honeys from Pará State (Amazon Region, Brazil) Produced by Three Different Species of Bees *J. Braz. Chem. Soc.*, 24(7) : 1135-1145
362. Silva, T.M.S., Camara, C.A., Lins, A.C.S., Barbosa-Filho, J.M., Silva, E.M.S., Freitas, B.M. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7) : 507-511
363. Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P. et Andrade, P.B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93 (1) : 73-77.
364. Singh, M. P., Hemant, R. C., Manish, A., Akhil, M., Mukesh, S., Deepak, S., Sheeba, K. (2012). Honey as complementary medicine: - A review. *Int. J. of Pharma and Bio Sciences*, 3: 12-31.
365. Singh, N. et Bath, P.K. (1998). Relationship between heating and hydroxymethylfurfural formation in different honey types. *J. Food Sci. Technol.*, 35: 154-156.



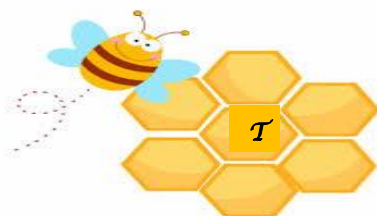


366. Sitarz-Palczak , E., Kalembkiewicz, J., Galas, D. (2015). Evaluation of the content of selected heavy metals in samples of polish honeys. *Journal of Ecological Engineering*, 16(3) :130–138
367. Skowronek, W., Rybak, C.H., Szczesna, T., Pidek, A. (1994). Study of optimum conditions for slowing down the crystallization of honey. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 38: 75.
368. Sommer, Y., Hollnagel, H., Schneider, H., Glatt, H. (2003). Metabolism of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) to the mutagen 5-sulfoxymethyl-2-furfural (SMF) by individual sulfotransferases. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 367:166.
369. Somville, D.C. (2001). Nutritional value of bee-collected pollens: A report for the rural industries research and development corporation. Ed. RIR DC publication n° 01/047. Project n°DAN-134A. 165 p.
370. Sorkhi, M. K. et Sorkhi, S. K.(2012). Honey Bee in Religion and Literature, International Conference on History, Literature and Management.
371. Stankovska, E., Stafilov, T., Sajn, R. (2008). Monitoring of trace elements in honey from the Republic of Macedonia by atomic absorption spektrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*. 142 :117–126.
372. Statistiques Canada (2012). Enquête canadienne sur les mesures de la santé : Cycle 2 (2009-2011). Sommaires et résultats relatifs aux métaux et oligo-éléments. Chapitre 8.12 Nickel. pp. 117-125.
373. Stocker A, Schramel P, Kettrup A, Bengsch E (2005). Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 19:183–189.
374. Subramanian, R., Hebbar, H. U., Rastogi, N. K. (2007). Processing of honey: a review. *International Journal of Food Properties*, 10 : 127-143.
375. Surh Y.J., Liem A., Miller J.A., Tannenbaum S.R. (1994). 5-Sulfooxy-methylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxy-methylfurfural. *Carcinogenesis*, 15 : 2375–2377.





376. Suzuk, K.M., Yoichiro, I., Hiroe, M., Yayoi, Y., Yukio, N., Shozo, O.,Yoko, A., Takeshi, M. et Satochi,M. (2008). Estrogenic Activities Of Fatty Acids and a Sterol Isolated from Royal Jelly. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 5(3) : 295-302

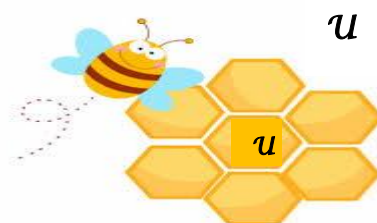


377. Tchoumboue, J. J, Awah-Ndukum, F. A, Feth, N. D, Dongock, J., Pinta, A. and Mvondo, Z. (2007). Physicochemical and Microbiological characteristics of honey from the Sudan- Guinean zone of WestCameroon. African Journal of Biotechnology, 6(7): 908-913.
378. Tchoumboue, J., Tchouamo, I.R., Pinta, J.Y., Njia, Mambou, N. (2001). Caracteristques socio-economiques et techniques de l'apiculture dans les hautes terres de l'ouest Cameroun. Tropicultura, 66 – 72
379. Terrab, A.; Diez, M.J. and Heredia, F.J. (2002). Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. Journal of Food chemistry, 79 : 373–379
380. Terrab, A., Diez, M. J. et Heredia, F.J. (2003a). Palynological, physicochemical and colour characterization of Moroccan honeys. I. River and gum (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) honey. International Journal of Food Science and Technology, 38: 379–386.
381. Terrab, A., Gonzalez, A. G., Diez, M. J. et Heredia, F. J. (2003b). Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. Journal of Science of Food and Agriculture, 83:637-643.
382. Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. Food Chemistry, 88 : 537-542.



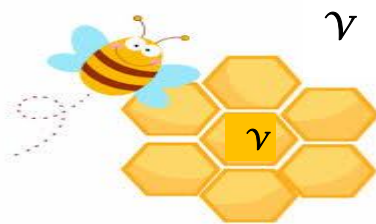


383. Toret, V. C., H. H. Sato, G. M. Pastore, et Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin,” Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2013, Article ID 697390, 13 p.
384. Toubal Boumaza, O. et Ozenda, P. (1986). Carte des principaux groupements végétaux du massif de l'Edough – feuille de Séraïdi au 1/25000. In : Phytoécologie, biogéographie et dynamique des principaux groupements végétaux du massif de l'Edough (Algérie Nord-Orientale). Cartographie au 1/25000ème, U.S.T.M. Univ. Grenoble, Thèse Doct. 3ème Cycle. Université Grenoble 1, 111 p.
385. Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gurel, F., & Tavukcuoglu, H.R. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. LWT Food Science and Technology, 41, 1396–1399. doi:10.1016/j.lwt.2007.09.008.
386. Turhan, K. (2009). Effects of thermal treatment and storage on hydroxymethylfurfural (HMF) content and diastase activity of honeys collected from middle Anatolia in Turkey. Innovations in Chemical Biology, doi: 10.1007/978-1-4020-6955-0, 233-239.
387. Tuzen, M., Silici, S., Mendil, D. et Soylak, M. (2007). Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. Food Chemistry, 103 : 325–330.



388. Ulloa, F. P. A. (2012). Studies on honey from the Algarve in view of its valorization. Thesis submitted to the Universidade do Algarve to attain the degree of PhD in Chemistry. 277p





389. Vache, G. et Gonnet, M. (1985). Le goût du miel, Ed. U.N.A.F., Paris, France. 146p
390. Van den Berg, A.J., Van den Worm, E., Van Ufford, H.C., Halkes, S.B., Hoekstra, M.J., Beukelman, C.J. (2008). An in vitro examination of the antioxidant and anti inflammatory properties of buckwheat honey. *J. Wound Care*, 17(4): 172-178
391. Vanhanen, L., Emmertz, A. and Savage, G. (2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey, *Food Chemistry*, 128: 236–240.
392. Villanueva, M.T.O., Marquina, A.D., Serrano, R.B., Abellan, G.B. (2002): The importance of beecollected pollen in the diet: a study of its composition, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53 : 217-224.
393. Vincevica-Gaile, Z., Maris, K. , Vita, R. , Artur , V . (2012). Potentially Toxic Metals in Honey from Latvia: Is there Connection with Botanical Origin? *Recent Researches in Environment, Energy Systems and Sustainability*, 158-161.
394. Vorlová, L., Přidal, A. (2002). Invertase and diastase activity in honeys of Czech provenience. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis Sborník Mendelovy Zemědělské a Lesnické Univerzity V Brně*, 8 (5) : 57-65.
395. Vorwohl, G. (1967). The microscopic analysis of honey, A comparison of its methods with those of the other branches of palynology. *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 3(1-4): 287-290.





396. Waś, E., Rybak-Chmielewska H., Szczęsna, T., Kachaniuk, K., Teper, D. (2011). Characteristics of Polish unifloral honeys II. Lime Honey (*Tilia* spp.). *J. Apic. Sci.*, 55(1): 121-128.
397. Watanabe, M. A. E., Amarante M. K., Conti B. J., et Sforcin J. M. (2011). Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 63(11) : 1378–1386.
398. Weryszko-Chmielewska, E., Chwil, M. (2007). Characterization of floral nectary and nectar of common bugloss (*Anchusa officinalis* L.). *Journal of Apicultural Science*, 51 (2) : 25-29.
399. White, J. W. (1956). The composition of Honey. Tenth International Congress of Entomology, Montreal, Canada, 57-66.
400. White, J.W., Riethof, M., Subers, M., Kushmir, I. (1962). Composition of American honey. *USDA Tech Bull.* 1261:1-124
401. White, J. W., Kushnir, I., Subers, M. H. (1964). Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Food Technology*, 18 (4) :153-156.
402. White, J.W. (1975). Composition of Honey. In: *Honey A Comprehensive Survey*. Ed. Crane E. Heinemann, London.157-206.
403. White J. et Rudyi E. (1978): The protein of honey, *Juicers*. 17. pp: 234-238.
404. White, J.W. (1978). Honey. *Advances in Food Research*, 24, 287– 373.
405. White, J. W. (1984). Instrumental color classification of honey: Collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 67 : 1129-1131.

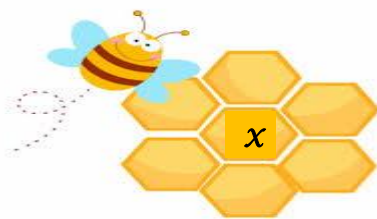




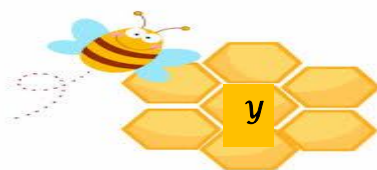


406. White, J.W. (1992). Quality Evaluation of Honey. Role of HMF and Diastase Assay. *Am. Bee J.* 132: 737-743. 792-794
407. White, J. W. (1994). The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee World*, 75 (3), 104-117.
408. WHO (1981). Environmental health criteria 17: Manganese. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
409. WHO(1997). Manganese. In: Air quality guidelines for Europe, 2nd Edition. World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, WHO Regional Publications, European Series. Internet address: <http://www.who.int/peh/air/airguides2.htm>. Accessed November 11, 1999.
410. Wilmart, O., Reybroeck, W., De Meulenaer, B., De Geaaf, D.C., Nguyen, B.K.A., et Saegrman, C. (2011). Analyse du risque posé en santé animale par la présence de l'hydroxyméthylfurfural dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques, *Annales Médicales Vétérinaires*, 155 :53-60.
411. Winkler (1955). OBeitrag zum Nachweis und zur Bestimmung von Oxymethylfurfural in Hönig und Kunsthönig. *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 102: 161-167.
412. Winston, M. L. (1991). The biology of the honeybee, Harvard University Press.
413. Wunderlin, D. A., Pesce, S. F., Amé, M. V., Faye, P. F. (1998). Decomposition of hydroxymethylfurfural in solution and protective effect of fructose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 :1855-1863.





414. Xu, X., Sun, L., Dong, J., Zhang, H. (2009). Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with supercritical carbon dioxide, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 : 42-46.



415. Yaiche Achour, H. et Khali, M. (2014). Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Science*, 10(2) :127 - 136
416. Yanniotis, S., Skaltsi, S., Karaburnioti, S. (2006). Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 72 : 372-377.
417. Yao, L., Jians, Y., Singanusong, R. D., Arcy, B., Datta, N., Caffin N. et Ray K. (2004). Flavonoids in Australian *Melaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* Honeys and their Potential for Flora Authentication. *Food Research International*, 37(2) :166-174.
418. Yavuz, H., Guler, G. O., Aktumsek, A. , Cakmark, Y.S et Ozparlak, H. (2010). Determination of some organochlorine pesticide residues in honeys from Konya, Turkey. *Environmental monitoring and assessment*. 168(1-4) : 277-283.
419. Yiangou, M., Konidaris, C., Victoratos, P., Hadjipetrou-Kourounakis, L. (1993). Modulation of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein (AGP) gene induction following honey bee venom administration to adjuvant arthritic (AA) rats; possible role of AGP on AA development *Clin. Exp. Immunol.* , (94):156-162





420. Yilmaz, H. et Yavuz, O. (1999). Content of some trace metals in honey from south-eastern Anatolia. *Food Chemistry*, 65(4) : 475–476
421. Yilmaz, H, Freviöülu, Ü.K. (2001). Composition of honeys collected from eastern and south-eastern Anatolia and effect of storage on hydroxymethylfurfural content and diastase activity. *Turk. J. Agric. For.*, 25:347–349.
422. Yolanda, B.M.O., Gonzalez, C.E., Escobedo, M.R. (2005). Physicochemical quality of honey from honeybees *Apis mellifera* produces in the state of Yocatan during different stages of the production process and Blossoms. *Technica Pecuaría en Mexico*, 43(3) : 323-334



423. Zai, I. U. M, Khaliqur, R., Arshad, H. et Shafqatullah (2013). Detection and quantification of residues in honey samples by chromatographic Tech. *Middle- East J. of scientific Research*, 14: 683-687.
424. Zappala, M., Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. (2005). Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control*. 16(3):273–7.
425. Zerouk, S. H. I. H., Biagio, G., Elena, N., Gabriele, F., AL. (2011). Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. *Jordan J. of Biological Sci.* 4(4) : 243 -248.
426. Zhao, H., Holladay, J.E., Brown, H., Zhang, Z.C. (2007). Metal chlorides in ionic liquid solvents convert sugars to 5-Hydroxymethylfurfural. *Science*, 316 : 1597–1600.
427. Zhu, J., Snow, D. D, Cassada, D.A., Monson, S.J., Spalding, R.F. (2001). Analysis of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in water using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 928 : 177-186.





# *ANNEXES*





## ANNEXE 1: Composition moyenne des miels (White, 1962)

| 15 à 20 % d'eau                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 75 à 85 % de sucres                                                                                                                                                                      |                                       |                                                                                                                                                | 1 à 5 % de substances diverses                                                                                                                                              |                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SUCRES                                                                                                                                                                                                                       | ACIDES<br>(0,1 à 0,5%)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | PROTEINE et<br>ACIDES AMINES<br>(0,2 à 2%)                                                                                                                                               | VITAMINES                             | ENZYMES                                                                                                                                        | MINERAUX<br>(0,1 à 1,5%)                                                                                                                                                    | DIVERS                                                                                                                                          |
| <u>Monosaccharides</u><br>70 à 75% Glucose<br>Fructose<br><br><u>Disaccharides</u><br>Maltose<br>Iso Maltose<br>Saccharose<br><br><u>Tri et</u><br><u>Polysaccharides</u><br>Erllose<br>Raffinose<br>Mélézitose<br>Mélibiose | <u>Acide gluconique</u><br>70 à 80 %<br>de l'acidité totale<br>Acide Malique<br>Acide Succinique<br>Acide Oxalique<br>Acide Glutamique<br>Acide Pyroglutamique<br>Acide Citrique<br>Acide Glucuronique<br><u>Acide Formique</u><br>10% de l'acidité totale<br>Acide Butirique<br>Acide Caprique<br>Acide Caproïque<br>Acide Valérique | <u>Matières Albuminoïdes</u><br><br><u>Matières azotées</u><br><br><u>Traces:</u><br>Proline<br>Trypsine<br>Leucine<br>Histidine<br>Alanine<br>Glycine<br>Méthionine<br>Acide Aspartique | <u>Traces:</u><br><br>B, C<br>A, D, K | <u>Amylases</u><br><br><u>Invertase</u><br><br><u>Glucose-oxydase</u><br><br><u>Traces:</u><br>Catalase<br>Phosphatase<br>Enzymes Acidifiantes | Potassium<br>Calcium<br>Sodium<br>Magnésium<br>Manganèse<br>Fer<br>Cuivre<br>Cobalt<br>Bore<br>Phosphore<br>Silicium<br>Chrome<br>Nikel<br>Baryum<br>Césium<br>Or<br>Argent | <u>Arômes</u><br><br><u>Pigments</u><br><br><u>Flavones</u><br><br><u>Acides gras</u><br><br><u>Facteurs</u><br>antibiotiques<br><br><u>HMF</u> |





**ANNEXE 2:** Norme concernant la qualité du miel selon le projet CL1998/12-S du *Codex Alimentarius* et selon le projet de l'UE 96/0114 (CNS)

| Critères de qualité                                                                                                           | Projet Codex               | Projet U.E                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Teneur en eau                                                                                                                 |                            |                            |
| Général                                                                                                                       | $\leq 21 \text{ g/100g}$   | $\leq 21 \text{ g/100g}$   |
| Miel de bruyère, de trèfle                                                                                                    | $\leq 23 \text{ g/100g}$   | $\leq 23 \text{ g/100g}$   |
| Miel industriel ou miel de pâtisserie                                                                                         | $\leq 25 \text{ g/100g}$   | $\leq 25 \text{ g/100g}$   |
| Teneur en sucres réducteurs                                                                                                   |                            |                            |
| Miels qui ne sont pas mentionnés ci-dessous                                                                                   | $\geq 65 \text{ g /100 g}$ | $\geq 65 \text{ g /100 g}$ |
| Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar                                                                   | $\geq 45 \text{ g /100 g}$ | $\geq 60 \text{ g /100 g}$ |
| Xanthorrhoea Pr.                                                                                                              | $\geq 53 \text{ g /100 g}$ | $\geq 53 \text{ g /100 g}$ |
| Teneur en saccharose apparent                                                                                                 |                            |                            |
| Miels qui ne sont pas mentionnés ci-dessous                                                                                   |                            |                            |
| Robini, Lavandula, Hedysarum, Trifolium, Zitrus, Medicago,                                                                    | $\leq 5 \text{ g/100 g}$   | $\leq 5 \text{ g/100 g}$   |
| Eucalyptus cam., Eucryphia luc. Banksia menz.*                                                                                | $\leq 10 \text{ g/100 g}$  | $\leq 10 \text{ g/100 g}$  |
| Calothamnus san., Eucalyptus scab., Banksia gr., Xanthorrhoea pr. Miel de miellat et mélanges de miel de miellat et de nectar | $\leq 15 \text{ g/100 g}$  | -                          |
| Teneur en matières insolubles dans l'eau                                                                                      |                            |                            |
| Général                                                                                                                       | $\leq 0,1 \text{ g/100 g}$ | $\leq 0,1 \text{ g/100 g}$ |
| Miel pressé                                                                                                                   | $\leq 0,5 \text{ g/100 g}$ | $\leq 0,5 \text{ g/100 g}$ |





|                                                                                   |                            |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Teneur en matières minérales (cendres)                                            | $\leq 0,6 \text{ g/100 g}$ | $\leq 0,6 \text{ g/100 g}$ |
| Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar, miel de châtaignier  | $\leq 1,2 \text{ g/100 g}$ | $\leq 1,2 \text{ g/100 g}$ |
| Acidité                                                                           | $\leq 50 \text{ meq/kg}$   | $\leq 40 \text{ meq/kg}$   |
| Activité diastasique, (indice diastasique en unités de Schade)                    |                            |                            |
| Après traitement et mise en pot (Codex). Tous les miels du commerce (UE) .Général | $\geq 8$                   | $\geq 8$                   |
| Miels avec une teneur enzymatique naturellement faible                            | $\geq 3$                   | $\geq 3$                   |
| Teneur en hydroxyméthylfurfural                                                   |                            |                            |
| Après traitement et mise en pot (Codex)                                           | $\leq 60 \text{ mg/kg}$    | $\leq 40 \text{ mg/kg}$    |
| Tous les miels du commerce (UE)                                                   |                            |                            |

### ANNEXE 3 : Teneur en sucre et conductivité électrique: Proposition d'une nouvelle norme

| Nouveaux critère de qualités proposées                                                                                           |                       | Valeurs proposées           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Teneur en sucre                                                                                                                  |                       |                             |
| Somme du fructose et du glucose                                                                                                  | Miel de               | $\geq 60 \text{ g / 100 g}$ |
| nectar                                                                                                                           |                       | $\geq 45 \text{ g / 100 g}$ |
| Miel de miellat ou mélanges de miel de miellat et de nectar                                                                      |                       |                             |
| Saccharose                                                                                                                       |                       | $\leq 5 \text{ g/ 100 g}$   |
| Miels qui ne sont pas énumérés ci-dessous                                                                                        |                       | $\leq 10 \text{ g/ 100 g}$  |
| Banksia, Zitrus, Hedysarum, Medicago, Robinia, Rosmarinus Lavandula                                                              |                       | $\leq 15 \text{ g/ 100 g}$  |
| Miel de nectar à l'exception des miels énumérés ci-dessous et des mélanges de ceux-ci; mélanges de miel de miellat et de nectar. | Miel de miellat et de | $\leq 0,8 \text{ mS/cm}$    |
| chataîgnier, à l'exception des miels énumérés ci-dessous et des mélanges de ceux-ci.                                             |                       | $\geq 0,8 \text{ mS/cm}$    |
| xceptions: Banksia, Erika, Eucalyptus, Eucryphia, Leptospermum, Melaleuca, Tilia.                                                |                       |                             |



**ANNEXE4 : Table de types de ruchers, conduite apicole et relevés floristiques des zones de recherche**

| Echantillon | Région                                       | Wilaya     | Ruche | Conduite | Végétation                                                                                     |
|-------------|----------------------------------------------|------------|-------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| M1          | ZERIBA NACERA                                | ANNABA     | M     | F        | Toutes fleurs                                                                                  |
| M2          | ANNABA                                       | ANNABA     | M     | F        | Cortège chêne liège, Arbiculture                                                               |
| M3          | EL BOUNI                                     | ANNABA     | M     | F        | Toutes fleurs +conifères                                                                       |
| M4          | ZERIBA NACERA                                | ANNABA     | M     | F        | Toutes fleurs                                                                                  |
| M5          | AIN SAYED AIN BERDA                          | ANNABA     | M     | F        | Cortège chêne liège, eucalyptus, maquis,                                                       |
| M6          | AIN BERDA                                    | ANNABA     | M     | F        | Eucalyptus, maquis oléo-lentisque, culture maraichère                                          |
| M7          | MJAZ SFAA                                    | GUELMA     | M     | F        | culture des légumineuses, divers foret de chêne liège,                                         |
| M8          | KHENGUET OUN RUMEL SOUK                      | TARF       | M     | F        | Eucalyptus, sella, calycotum, menthe pouliot, maquis oléo-lentisque, myrte, culture maraichère |
| M9          | EL KALA                                      | TARF       | M     | F        | maquis, chêne liège, eucalyptus, culture                                                       |
| M10         | AGBAT CHEIR AIN KHIAR                        | TARF       | M     | F        | MAQUIS+EUCAL                                                                                   |
| M11         | AIN KHIAR                                    | TARF       | T     | F        | herbacé, arboriculture (divers), eucalyptus, cortège liège                                     |
| M12         | HAMAM SIDI DJAB ELAH LAC DES OISEAUX CHAFFIA | TARF       | T     | F        | maquis dégradé, céréaliculture, herbacé, romarin, eucalyptus, jachère                          |
| M13         | MERADIA ZITOUNA                              | TARF       | M     | F        | cortège de chêne liège, maquis oléo lentisque, Eucalyptus, herbacé vivace                      |
| M14         | METROHA                                      | TARF       | T     | F        | cortège de chêne liège et chêne vert, maquis oléo lentisque, eucalyptus                        |
| M15         | AIN ASSAL                                    | TARF       | T     | F        | maquis dégradé, céréaliculture, herbacé, romarin, eucalyptus, jachère                          |
| M16         | AIN KHIAR                                    | TARF       | M     | F        | Toutes fleurs                                                                                  |
| M17         | AIN DALIA                                    | SOUK AHRAS | T     | F        | Romarin, céréaliculture, herbacé (divers), arboriculture, eucalyptus,                          |
| M18         | OULED DRISS                                  | SOUK AHRAS | T     | F        | Pin d'Alep, arboriculture                                                                      |







|     |                                |            |   |   |                                                                            |
|-----|--------------------------------|------------|---|---|----------------------------------------------------------------------------|
|     |                                |            |   |   | (divers), chêne Kermès, romarin, herbacé, eucalyptus                       |
| M19 | MAZOUNA BATOUM TAOURA          | SOUK AHRAS | T | F | Cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M20 | DARDOURA ZAROURIA              | SOUK AHRAS | T | F | Cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M21 | SERIA TAOURA                   | SOUK AHRAS | T | F | Cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M22 | MECHTA EL DJAMAA OULED MOUMENE | SOUK AHRAS | M | F | Maquis, cortège chêne liège, pin d'Alep, romarin, arboriculture (amandier) |
| M23 | DJELAILIA MECHTA LOUISA        | SOUK AHRAS | M | F | cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M24 | MECHTA LOUISA                  | SOUK AHRAS | M | F | arboriculture, pin d'Alep, cortège chêne Kermès, eucalyptus, agrumiculture |
| M25 | MECHTA LOUISA                  | SOUK AHRAS | T | F | cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M26 | REBAHI NOUAR                   | SOUK AHRAS | T | F | Cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, arbre fruitiers, pin d'Alep       |
| M27 | SIDI BADR                      | SOUK AHRAS | T | F | Cortège chêne liège, maquis, eucalyptus, culture (divers), pin d'Alep      |
| M28 | RUE DES JARDINS                | SOUK AHRAS | M | F | Divers culture                                                             |
| M29 | LOUISA SIDI BADR               | SOUK AHRAS | T | F | Toutes fleurs                                                              |
| M30 | SIDI BADR                      | SOUK AHRAS | M | F | Romarin, céréaliculture, herbacé (divers), arboriculture, eucalyptus       |
| M31 | MECHTA LOUISA SIDI BADR        | SOUK AHRAS | M | F | Romarin, herbacé (divers), arboriculture, eucalyptus                       |
| M32 | CITE 108 SK                    | SOUK AHRAS | M | F | arboriculture, pin d'Alep, cortège chêne Kermès, eucalyptus, agrumiculture |





|     |                          |            |   |   |                                                                            |
|-----|--------------------------|------------|---|---|----------------------------------------------------------------------------|
| M33 | LHEMISSI                 | SOUK AHRAS | M | F | Romarin, céréaliculture, herbacé (divers), arboriculture, eucalyptus       |
| M34 | LOUZA BATOUM TAOURA      | SOUK AHRAS | M | F | Toutes fleurs                                                              |
| M35 | MECHTA BATOUM TOURA      | SOUK AHRAS | M | F | pin d'Alep, céréaliculture, romarin, herbacé (divers)                      |
| M36 | RUE DES JARDINS          | SOUK AHRAS | M | F | Toutes fleurs                                                              |
| M37 | TAOURA VILLE             | SOUK AHRAS | T | F | maquis dégradé, pin d'Alep, chêne liège, arboriculture, herbacé            |
| M38 | LHEMISSI Ouled moumen    | SOUK AHRAS | M | F | Arboriculture, céréaliculture, herbacé (divers)                            |
| M39 | MACHROUHA                | SOUK AHRAS | T | F | Arboriculture, pin d'Alep, cortège chêne Kermès, eucalyptus, agrumiculture |
| M40 | SOUK AHRAS               | SOUK AHRAS | T | F | Pin d'Alep, céréaliculture, romarin, herbacé (divers)                      |
| M41 | HENANCHA                 | SOUK AHRAS | M | F | Romarin, céréaliculture, herbacé (divers), arboriculture, eucalyptus,      |
| M42 | AIN ZANA                 | SOUK AHRAS | T | F | Chêne liège, Chêne Zeen                                                    |
| M43 | KEF LAHMAR ZAROURIA      | SOUK AHRAS | M | F | Maquis dégradé, pin d'Alep, chêne liège, arboriculture                     |
| M44 | AIN SAIADA SIDI FREDJ    | SOUK AHRAS | T | F | maquis dégradé, pin d'Alep, chêne liège, arboriculture,                    |
| M45 | SIDI FREDJ               | SOUK AHRAS | T | F | Pin d'Alep, chêne liège,                                                   |
| M46 | HEDADA                   | SOUK AHRAS | M | F | Toutes fleurs arboriculture,                                               |
| M47 | TAOURA VILLE             | SOUK AHRAS | M | F | Chêne liège, arboriculture, herbacé                                        |
| M48 | MECHTA CHGAGA SIDI FREDJ |            | M | F | Eucalyptus, sella, calycotum, menthe pouliot, maquis oléo-lentisque,       |
| M49 | OULED ABASS SIDI FREDJ   | SOUK AHRAS | M | F | Chêne liège, arboriculture, herbacé                                        |
| M50 | TAOURA                   | SOUK AHRAS | M | F | Sapin, romarin, eucalyptus.                                                |
| M51 | HEDADDA                  | SOUK AHRAS | M | F | Forêt de chêne liège Eucalyptus, Sapin                                     |
| M52 | TIFECH                   | SOUK AHRAS | T | F | maquis, forêt de chêne liège                                               |
| M53 | KHDARA                   | SOUK AHRAS | M | F | Maquis, forêt de chêne                                                     |





|     |                     |               |   |    | liège                                                          |
|-----|---------------------|---------------|---|----|----------------------------------------------------------------|
| M54 | LHEMISSI            | SOUK AHRAS    | M | F  | Sapin, romarin, eucalyptus.                                    |
| M55 | HNANCHA             | SOUK AHRAS    | M | F  | Toutes fleurs.                                                 |
| M56 | OUED KSAB<br>OUENZA | TEBESSA       | T | TR | Romarin, cultures divers                                       |
| M57 | HAMAMMET            | TEBESSA       | T | F  | Arboriculture, pin d'Alep, cortège chêne Kermès, agrumiculture |
| M58 | BERRIANE            | GHARDAIA      | M | F  | Toutes fleurs.                                                 |
| M59 | AIN OUASSARA        | DJELFA        | M | F  | Romarin, Harmel                                                |
| M60 | AIN OUASSARA        | DJELFA        | T | F  | Arbres fruitiers, romarin, eucalyptus.                         |
| M61 | HASSI BAHBAH        | DJELFA        | M | F  | Arbres fruitiers, romarin, mesk ellil.                         |
| M62 | AFLOU               | LAGOUAT       | M | F  | Toutes fleurs.                                                 |
| M63 | Metidja             | BLIDA         | M | F  | Eucalyptus.                                                    |
| M64 | Chlef               | CHLEF         | M | F  | Agrumiculture,                                                 |
| M65 | Media               | MEDIA         | T | F  | Oranger                                                        |
| M66 | TLAGHE              | SIDI BEL ABAS | T | F  | Forêt de chêne liège, culture maraichère                       |
| M67 | MOSTAGHANEM         | MOSTAGHANEM   | M | F  | Eucalyptus agrumiculture, forêt de chêne liège,                |





## ANNEXE 5 : Table de CHATAWAY des indices de réfraction.et Matières sèches

| Indice de réfraction à 20°C | % réel d'eau | Indice de réfraction à 20°C | % réel d'eau |
|-----------------------------|--------------|-----------------------------|--------------|
| 1.5041                      | 13.0         | 1.4910                      | 18.2         |
| 35                          | 13.2         | 05                          | 18.4         |
| 30                          | 13.4         | 00                          | 18.6         |
| 25                          | 13.6         | 1.4895                      | 18.8         |
| 20                          | 13.8         | 90                          | 19.0         |
| 15                          | 14.0         | 85                          | 19.2         |
| 10                          | 14.2         | 80                          | 19.4         |
| 05                          | 14.4         | 76                          | 19.6         |
| 00                          | 14.6         | 71                          | 19.8         |
| 1.4995                      | 14.8         | 66                          | 20.0         |
| 90                          | 15.0         | 62                          | 20.2         |
| 85                          | 15.2         | 58                          | 20.4         |
| 80                          | 15.4         | 53                          | 20.6         |
| 75                          | 15.6         | 49                          | 20.8         |
| 70                          | 15.8         | 44                          | 21.0         |
| 65                          | 16.0         | 28                          | 21.5         |
| 60                          | 16.2         | 15                          | 22.0         |
| 55                          | 16.4         | 02                          | 22.5         |
| 50                          | 16.6         | 1.4789                      | 23.0         |
| 45                          | 16.8         | 77                          | 23.5         |
| 40                          | 17.0         | 64                          | 24.0         |
| 35                          | 17.2         | 52                          | 24.5         |
| 30                          | 17.4         | 39                          | 25.0         |
| 25                          | 17.6         | 26                          | 25.5         |
| 20                          | 17.8         | 14                          | 26.0         |
| 15                          | 18.0         | 1.4702                      | 26.5         |



**Annexe 6 : Statistique descriptive de 15 paramètres.**

| Variables               | Descriptive Statistics |          |            |           |          |                |
|-------------------------|------------------------|----------|------------|-----------|----------|----------------|
|                         | Mean                   | Median   | Min.       | Max.      | Std.Dev. | Standard Error |
| Teneur en eau           | 16,761                 | 16,6000  | 13,00000   | 20,400    | 1,673    | 0,1180         |
| Taux Brix               | 83,240                 | 83,4000  | 79,60000   | 87,000    | 1,676    | 0,1182         |
| Densité                 | 1,460                  | 1,4700   | 0,81000    | 1,730     | 0,128    | 0,0090         |
| Cendre                  | 0,475                  | 0,4400   | 0,01000    | 1,570     | 0,295    | 0,0208         |
| Conductivité électrique | 0,869                  | 0,7820   | 0,10000    | 2,560     | 0,472    | 0,0333         |
| pH                      | 3,867                  | 3,7900   | 2,88000    | 6,620     | 0,608    | 0,0429         |
| Acidité libre           | 16,573                 | 16,0000  | 7,50000    | 39,500    | 6,286    | 0,4434         |
| Acidité lactone         | 13,758                 | 12,7500  | 0,12500    | 40,250    | 8,770    | 0,6186         |
| Acidité ToT             | 30,144                 | 28,7500  | 1,75000    | 68,750    | 12,534   | 0,8840         |
| HMF                     | 44,261                 | 23,4240  | 0,00000    | 554,600   | 93,702   | 6,6092         |
| Diastase                | 20,981                 | 19,0500  | 0,00000    | 114,000   | 15,612   | 1,1012         |
| <b>Saccharose</b>       | 3,278                  | 2,2500   | 0,00000    | 15,120    | 2,826    | 0,1994         |
| <b>Sucre ToT</b>        | 77,384                 | 79,0000  | 59,88960   | 84,603    | 5,922    | 0,4177         |
| Protéine                | 0,786                  | 0,7850   | 0,10739    | 1,279     | 0,245    | 0,0173         |
| ngp/10g miel            | 1212815,12             | 88000,00 | 18000,0000 | 3600000,0 | 359354,3 | 66416,02       |





## ANNEXE 7 : Tableau de corrélation entre les 15 paramètres d'études

| Variables               | Spearman Rank Order Correlations<br>Marked correlations are significant at $p < 0,05000$ |           |          |          |                         |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------|----------|-------------------------|----------|---------------|-----------------|-------------|----------|----------|----------|-----------|----------|--------------|
|                         | Teneur en eau                                                                            | Taux Brix | Densité  | Cendre   | Conductivité électrique | pH       | Acidité libre | Acidité lactone | Acidité ToT | HMF      | Diastase | Sacch    | Sucre ToT | Protéine | ngp/10g miel |
| Teneur en eau           | 1,000000                                                                                 |           |          |          |                         |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Taux Brix               | 0,999998                                                                                 | 1,000000  |          |          |                         |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Densité                 | 0,055397                                                                                 | 0,055488  | 1,000000 |          |                         |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Cendre                  | 0,026990                                                                                 | 0,027335  | 0,027791 | 1,000000 |                         |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Conductivité électrique | 0,041161                                                                                 | 0,041375  | 0,049694 | 0,730380 | 1,000000                |          |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| pH                      | 0,317161                                                                                 | 0,317391  | 0,266589 | 0,369036 | 0,273000                | 1,000000 |               |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Acidité libre           | 0,024120                                                                                 | 0,024083  | 0,025220 | 0,090232 | 0,059026                | 0,046647 | 1,000000      |                 |             |          |          |          |           |          |              |
| Acidité lactone         | 0,043742                                                                                 | 0,043793  | 0,372368 | 0,114179 | 0,167704                | 0,541223 | 0,334365      | 1,000000        |             |          |          |          |           |          |              |
| Acidité ToT             | 0,062494                                                                                 | 0,062516  | 0,230138 | 0,047367 | 0,155148                | 0,322308 | 0,764594      | 0,841653        | 1,000000    |          |          |          |           |          |              |
| HMF                     | 0,008597                                                                                 | 0,008743  | 0,027872 | 0,284373 | 0,173933                | 0,220536 | 0,006528      | 0,298700        | 0,170557    | 1,000000 |          |          |           |          |              |
| Diastase                | 0,211317                                                                                 | 0,211692  | 0,030744 | 0,207237 | 0,224367                | 0,072962 | 0,022954      | 0,092015        | 0,090841    | 0,216971 | 1,000000 |          |           |          |              |
| Saccharose              | 0,202866                                                                                 | 0,202650  | 0,089452 | 0,254069 | 0,223568                | 0,184035 | 0,058972      | 0,358798        | 0,275878    | 0,139042 | 0,044065 | 1,000000 |           |          |              |
| Sucre ToT               | 0,065663                                                                                 | 0,065554  | 0,141859 | 0,049977 | 0,012497                | 0,147940 | 0,001317      | 0,377732        | 0,269800    | 0,042623 | 0,295628 | 0,048445 | 1,000000  |          |              |
| Protéine                | 0,185210                                                                                 | 0,185086  | 0,335184 | 0,404805 | 0,339807                | 0,062377 | 0,327125      | 0,336476        | 0,413053    | 0,051743 | 0,000267 | 0,133877 | 0,248108  | 1,000000 |              |
| ngp/10g miel            | 0,158167                                                                                 | 0,158434  | 0,039745 | 0,242202 | 0,270471                | 0,261006 | 0,061478      | 0,201250        | 0,087808    | 0,167072 | 0,137218 | 0,088557 | 0,105908  | 0,236092 | 1,000000     |





ANNEXE 8 : Liste des taxons mellifères rencontrés dans les miels regroupés en familles correspondantes (Chefrour, 2007).

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Alismaceae</b><br><i>Alisma plantago aquatica</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>Fagaceae (Cupulifères)</b><br><i>Quercus coccifera</i><br><i>Quercus ilex</i><br><i>Quercus sp</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Fagus sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Apiaceae</b><br><i>Ammi sp</i><br><i>Ammiopsis (Ammiopsis aristidis COSS.)</i><br><i>Anethum sp</i><br><i>Anethum graveolens</i><br><i>Apium napifolia</i><br><i>Apium nilotica sp</i><br><i>Apium nodiflorum</i><br><i>Apium sp</i><br><i>Bupleurum sp</i><br><i>Bupleurum fruticosum</i><br><i>Cachrys sicula</i><br><i>Cachrys sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Daucus sp</i><br><i>Eryngium sp</i><br><i>Eryngium spinalba</i><br><i>Peucedanum sp</i><br><i>Pimpinella sp</i><br><i>Ptychotis sp</i><br><i>Sanicula europaea</i><br><i>Seseli sp</i><br><i>Thapsia garganica</i><br>Type Ammi<br>Type Apiaceae<br>Type Apium<br>Type Bupleurum<br>Type Daucus | <b>Fougères spores de Dryopteris sp</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Asques des Champignons</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>Gentianaceae</b><br><i>Blakstoniaperfoliata</i><br><i>Centaurium sp</i><br><i>Centaurium umbellatum</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Asteraceae</b><br><i>Artemisia absinthium</i><br><i>Artemisia herba alba</i><br><i>Artemisia sp</i><br><i>Atractylis carduus</i><br><i>Bellis sp</i><br><i>Carduus sp</i><br><i>Carthamus sp</i><br><i>Centaurea erythrea</i><br><i>Centaurea napifolia1</i><br><i>Centaurea sp</i><br><i>Chrysanthemum sp</i><br><i>Cichorium intybus</i><br><i>Cichorium sp</i><br><i>Cirsium sp</i><br><i>Cotula coronopifolia</i><br><i>Cynara sp</i>                                                                                                                                                                                                                              | <b>Globulariaceae</b><br><i>Globularia alypum</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Hypericaceae</b><br><i>Hypericum sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Iridaceae</b><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Iris pseudoacorus</i><br>Type Iridaceae                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Juglandaceae</b><br><i>Juglans regia</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Juncaceae</b><br><i>Juncus sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Lamiaceae (Labiatae)</b><br><i>Ajuga sp</i><br><i>Ajuga reptans</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Lavandula sp</i><br><i>Lavandula stoechas</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Mentha sp</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Salvia sp</i><br><i>Stachys annua</i><br><i>Stachys sp</i><br><i>Teucrium pseudo chamaepitys</i><br><i>Teucrium sp</i><br><i>Thymus algeriensis</i><br><i>Thymus serpyllum</i><br><i>Thymus sp</i><br>Type Lavandula<br>Type Origanum |





|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Echinops spinosus</i><br><i>Eupatorium</i> sp<br><i>Helianthemum</i> sp<br><i>Hypochæris</i> sp<br><i>Inula montana</i><br><i>Inula viscosa</i><br><i>Inula</i> sp<br><i>Leontodon</i> sp<br><i>Mantisalca</i> sp<br><i>Matricaria</i> sp<br><i>Onopordon</i> sp<br><i>Ormenis mixta</i><br><i>Ormenis</i> sp<br><i>Pallenis</i> sp<br><i>Phagnalon</i> sp<br><i>Scolymus hispanicus</i><br><i>Senecio leucanthemifolius</i><br><i>Senecio</i> sp<br><i>Senecio vulgaris</i><br><i>Silybum marianum</i><br><i>Taraxacum dens leonis</i><br><i>Taraxacum officinalis</i><br><i>Taraxacum</i> sp<br><i>Tolpis barbata</i><br>Type <i>Artemisia</i><br>Type <i>Asteraceae</i><br>Type <i>Centaurea</i><br>Type <i>Cirsium</i> | Type <i>Thymus</i><br><br><b>Lauraceae</b><br>Type <i>Laurus</i><br><br><b>Liliaceae</b><br><i>Allium roseum</i><br><i>Allium</i> sp<br><i>Asparagus</i> sp ( <i>Asparagoidées</i> )<br><i>Asphodelus microcarpus</i><br><i>Asphodelus</i> sp<br><i>Scilla maritima</i> ( <i>Urginea maritima</i> )<br>Type <i>Allium</i><br><br><b>Loranthaceae</b><br><i>Loranthus</i> sp<br><br><b>Lythraceae</b><br><i>Lythrum junceum</i><br><br><b>Moraceae</b><br><i>Morus alba</i><br><br><b>Myrtaceae</b><br><i>Eucalyptus</i> sp<br><i>Eucalyptus camaldulensis</i><br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Myrtus communis</i><br><i>Myrtus</i> sp<br><br><b>Oleaceae</b><br><i>Olea europaea</i> L.<br><br><b>Orchidaceae (Orchidées)</b><br><i>Spiranthes</i> sp<br><br><b>Oxalidaceae</b><br><i>Oxalis cernua</i> Thumb.<br><i>Oxalis</i> sp<br><br><b>Palmaceae</b><br><i>Chamaerops humilis</i><br><i>Phœnix dactylifera</i><br><br><b>Papaveraceae</b><br><i>Adonis annua</i><br><i>Adonis</i> sp<br><i>Glaucium flavum</i> Grantz.<br><i>Hypecoum procumbens</i><br><i>Papaver rhœas</i><br><br><b>Primulaceae</b><br><i>Primula</i> sp<br><i>Primula vulgaris</i> |
| <b>Boraginaceae</b><br><i>Anchusa</i> sp<br><i>Anchusa undulate</i><br><i>Borago officinalis</i><br><i>Cerinthe</i> sp<br><i>Cerinthe major</i><br><i>Cynoglossum cheirifolium</i><br><i>Cynoglossum creticum</i><br><i>Cynoglossum</i> sp<br><i>Echium plantagineum</i><br><i>Echium</i> sp<br><i>Echium vulgare</i><br><i>Lappula marginata</i><br><i>Myosotis</i> sp<br><i>Onosma</i> sp<br>Type <i>Boraginaceae</i><br>Type <i>Anticharis</i><br>Type <i>Echium</i>                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Brassicaceae</b><br><i>Allyssum</i> sp<br><i>Brassica</i> sp<br><i>Brassica napus</i><br><i>Capsella bursa pastoris</i><br><i>Diplotaxis</i> sp<br><i>Diplotaxis erucoïdes</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |







|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><i>Draba sp</i><br/> <i>Lobularia sp</i><br/> <i>Mathiola sp</i><br/> <i>Moricandia arvensis</i><br/> <i>Raphanus raphanistrum</i><br/> <i>Raphanus sp</i><br/> <i>Sinapis arvensis</i><br/> <i>Sinapis sp</i><br/> <i>Sisymbrium sp</i><br/> <i>Sysirinchium sp</i><br/> Type Brassica<br/> Type Brassicaceae<br/> Type Sinapis</p> <p><b>Cactaceae</b><br/> <i>Opuntia ficus indica</i></p> <p><b>Campanulaceae</b><br/> <i>Campanula dichotoma</i><br/> <i>Campanula sp</i></p> <p><b>Caprifoliaceae</b><br/> <i>Sambucus sp</i></p> <p><b>Caryophyllaceae</b><br/> <i>Saponaria sp</i><br/> <i>Silene sp</i></p> <p><b>Chenopodiaceae</b><br/> Type Chenopodiaceae</p> <p><b>Cistaceae</b><br/> <i>Cistus monspeliensis</i><br/> <i>Cistus sp</i></p> <p><b>Convolvulaceae</b><br/> <i>Convolvulus arvensis</i><br/> <i>Convolvulus sp</i></p> <p><b>Cucurbitaceae</b><br/> <i>Cucumis sp</i><br/> <i>Cucurbita melo</i><br/> <i>Ecballium elaterium</i><br/> <i>Luffa sp</i><br/> Type Cucumis</p> <p><b>Cupressaceae</b><br/> <i>Cupressus sempervirens</i><br/> <i>Juniperus sp</i></p> <p><b>Cyperaceae</b><br/> <i>Cyperus laevigatus</i><br/> <i>Scirpus maritimus</i></p> <p><b>Ericaceae</b></p> | <p><b>Punicaceae</b><br/> <i>Punica granatum</i></p> <p><b>Renonculaceae</b><br/> <i>Clematis vitalba</i><br/> <i>Ranunculus flammula</i><br/> <i>Ranunculus sp</i><br/> <i>Ranunculus macrophyllus</i><br/> <i>Thalictrum minus</i><br/> Type Ranunculus</p> <p><b>Resedaceae</b><br/> <i>Reseda alba</i></p> <p><b>Reseda sp</b><br/> <i>Reseda media</i></p> <p><b>Rhamnaceae</b><br/> <i>Rhamnus alaternus</i><br/> <i>Rhamnus sp</i><br/> <i>Rhamnus frangula</i><br/> <i>Zizyphus lotus</i></p> <p><b>Rosaceae</b><br/> <i>Crataegus monogyna</i><br/> <i>Crataegus sp</i><br/> <i>Cydonia vulgaris</i><br/> <i>Filipendula vulgaris</i><br/> <i>Malus sp</i><br/> <i>Potentilla reptans</i><br/> <i>Potentilla sp</i><br/> <i>Prunus amygdalus var dulci</i><br/> <i>Prunus prostrata</i><br/> <i>Prunus sp</i><br/> <i>Pyrus communis</i><br/> <i>Pyrus sp</i><br/> <i>Pyrus syriaca</i><br/> <i>Rosa canina</i><br/> <i>Rosa sempervirens</i><br/> <i>Rosa sp</i><br/> <i>Rubus sp</i><br/> <i>Rubus ulmifolius</i><br/> <i>Sanguisorba sp</i><br/> <i>Sorbus sp</i><br/> <i>Spiraea sp</i><br/> Type Crataegus<br/> Type Cydonia<br/> Type Malus<br/> Type Potentilla<br/> Type Prunus<br/> Type Pyrus<br/> Type Rosa<br/> Type Rubus</p> <p><b>Rubiaceae</b></p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|





|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><i>Arbutus unedo</i><br/> <i>Erica arborea</i><br/> <i>Erica cinerea</i><br/> <i>Erica scoparia</i><br/> <i>Erica sp</i></p> <p><b>Euphorbiaceae</b><br/> <i>Chrozophora tinctoria</i><br/> <i>Euphorbia sp</i><br/> <i>Type Euphorbia</i><br/> <i>Type Euphorbiaceae</i></p> <p><b>Legumineuses (Fabaceae)</b><br/> <i>Anthyllis lotoïdes</i><br/> <i>Anthyllis sp</i><br/> <i>Astragalus sp</i><br/> <i>Coronilla sp</i><br/> <i>Crotalaria sp</i><br/> <i>Cytisus sp</i><br/> <i>Cytisus triflorus</i><br/> <i>Dorycnium hirsutum</i><br/> <i>Dorycnium rectum</i><br/> <i>Dorycnium sp</i><br/> <i>Genista sp</i><br/> <i>Glycyrrhiza glabra</i><br/> <i>Hedysarum coronarium</i><br/> <i>Hedysarum sp</i><br/> <i>Hippocrepis sp</i><br/> <i>Lathyrus nissolia</i><br/> <i>Lathyrus sativa</i><br/> <i>Lathyrus sp</i><br/> <i>Lathrus palustris</i><br/> <i>Lotus corniculatus</i><br/> <i>Lotus creticus</i><br/> <i>Lotus sp</i><br/> <i>Lupinus sp</i><br/> <i>Medicago sativa</i><br/> <i>Medicago sp</i><br/> <i>Melilotus sp</i><br/> <i>Onobrychis sativa</i><br/> <i>Onobrychis sp</i><br/> <i>Ononis alopecuroïdes</i><br/> <i>Ononis arvensis</i><br/> <i>Ononis sp</i><br/> <i>Ononis spinosa</i><br/> <i>Ornithopus compressus</i><br/> <i>Ornithopus sp</i><br/> <i>Pisum sativum</i><br/> <i>Retama retam</i><br/> <i>Retama sp</i><br/> <i>Robinia pseudo- acacia</i><br/> <i>Trifolium arvense</i><br/> <i>Trifolium grandiflorum</i><br/> <i>Trifolium pratense</i><br/> <i>Trifolium repense</i></p> | <p><i>Galium sp</i><br/> <i>Rubia laevis Poir.</i><br/> <i>Rubia sp</i></p> <p><b>Rutaceae</b><br/> <i>Citrus limon</i><br/> <i>Citrus sinensis Osbeck.</i><br/> <i>Citrus sp</i><br/> <i>Ruta Montana</i></p> <p><b>Salicaceae</b><br/> <i>Populus nigra</i><br/> <i>Salix alba</i><br/> <i>Salix sp</i></p> <p><b>Legumineuses- Mimosaceae</b><br/> <i>Acacia dealbata</i><br/> <i>Acacia horrida</i><br/> <i>Acacia sp</i><br/> <i>Type Acacia</i></p> <p><b>Santalaceae</b><br/> <i>Osyris alba</i><br/> <i>Osyris sp</i></p> <p><b>Scrofulariaceae</b><br/> <i>Antirrhinum majus</i><br/> <i>Antirrhinum sp</i><br/> <i>Linaria pinnifolia</i><br/> <i>Linaria sp</i><br/> <i>Odontites lutea Claiv.</i><br/> <i>Odontites sp</i><br/> <i>Pedicularis sp</i><br/> <i>Scrofularia sp</i><br/> <i>Verbascum sp</i><br/> <i>Verbascum thapsus</i><br/> <i>Veronica sp</i></p> <p><i>Rhinanthus sp</i></p> <p><b>Tamaricaceae</b><br/> <i>Amarix sp</i></p> <p><b>Terebinthaceae</b><br/> <i>Schinus molle</i><br/> <i>Pistacia lentiscus</i><br/> <i>Pistacia sp</i></p> <p><b>Ulmaceae</b><br/> <i>Ulmus sp</i></p> <p><b>Verbenaceae</b><br/> <i>Verbena officinalis</i></p> <p><b>Vitaceae</b><br/> <i>Vitis vinifera</i></p> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|





|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <i>Trifolium sp</i><br><i>Trigonella sp</i><br><i>Type Anthyllis</i><br><i>Type Fabaceae</i><br><i>Type Hedysarum</i><br><i>Type Lathyrus</i><br><i>Type Ononis</i><br><i>Type Ornithopus</i><br><i>Type Trifolium</i><br><i>Type Vicia</i><br><i>Vicia faba</i><br><i>Vicia lutea</i><br><i>Vicia sp</i><br><i>Vicia villosa</i> | <b>Zygophyllaceae</b><br><i>Zygophyllum sp</i><br><i>Peganum harmala</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|

**ANNEXE 9 :** Classification des échantillons de miel selon leur richesse en taxons mellifères.

| <b>Ech</b> | <b>&gt;45%<br/>Pollens<br/>dominants</b> | <b>16%- 45%<br/>Pollens secondaires</b> | <b>3%- 15%<br/>Pollens minoritaires</b>                                                                                                                                                                                                            | <b>&lt;3%<br/>Pollens très minoritaires ou<br/>Pollens isolés</b>                                                                                                                                                                                  |
|------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>M1</b>  |                                          | <i>Eucalyptus globulus</i>              | <i>Apium nodiflorum</i> , <i>Cytisus multiflorus</i> , <i>Echium plantagineum</i> , <i>Leontodon sp</i> , <i>Loranthus sp</i>                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>M2</b>  |                                          | <i>Eucalyptus sp</i>                    | <i>Acacia sp</i> , <i>Type Daucus</i> , <i>Asphodelus sp</i> , <i>Trifolium sp</i> , <i>Cucumis sp</i> , <i>Ononis sp</i> , <i>Bupleurum (Apiaceae)</i> , <i>Robinia pseudo acacia</i> , <i>Type Rosa</i>                                          |                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>M3</b>  |                                          | <i>Eucalyptus globulus</i>              | <i>Apium nodiflorum</i> , <i>Brassica sp</i> , <i>Cydonia vulgaris</i> , <i>Daucus carota</i> , <i>Galactites tomentosa</i> , <i>Rosa sp</i> , <i>Rubus fruticosus</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Type Rudolphia</i> | <i>Campanula sp</i> , <i>Cichorium intybus</i> , <i>Cirsium sp</i> , <i>Cucurbita sp</i> , <i>Euphorbia sp</i> , <i>Lotus sp</i> , <i>Medicago sp</i> , <i>Melilotus sp</i> , <i>Myrtus communis</i> , <i>Senecio sp</i> , <i>Trifolium repens</i> |
| <b>M4</b>  | <i>Eucalyptus globulus</i>               |                                         | <i>Apium nodiflorum</i> , <i>Daucus carota</i> , <i>Echium plantagineum</i> , <i>Lotus sp</i>                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>M5</b>  |                                          | <i>Rubia sp</i>                         | <i>Osyris sp</i> , <i>Potentilla reptans</i> , <i>Primula sp (acaulis)</i> , <i>Rubia laevis</i> , <i>Sideritis sp</i> , <i>Spiraea (rosaceae)</i> , <i>Teucrium sp</i> ,                                                                          | <i>Potentilla anserina</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Rhinanthus sp</i> , <i>Rosa canina</i> , <i>Spiranthes (type Orchidaceae)</i> , <i>Taraxacum Officinalis</i> , <i>Type</i>                                                                |





|            |                            |                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                        |
|------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |                            |                                                                 | <i>Vitis vinifera</i>                                                                                                                                                                                                             | <i>Myosotis, Ulmus sp</i>                                                                                              |
| <b>M6</b>  | <i>Eucalyptus globulus</i> |                                                                 | <i>Apium nodiflorum, Cytisus multiflorus, Echium sp, Loranthus sp, Rubia laevis, Type Centaurea</i>                                                                                                                               |                                                                                                                        |
| <b>M7</b>  |                            | <i>Lathyrus sp</i>                                              | <i>Daucus sp, Echium sp, Erica arborea, Eucalyptus sp, Galactites tomentosa, Hedysarum coronarium, Lotus sp, Malus pumilla Mill., Medicago sp, Pyrus communis, Cirsium sp, Silybum sp, Type Apium</i>                             | <i>Euphorbia sp, Asphodelus microcarpus, Campanula sp, Taraxacum sp, Rosa sp, Scilla maritima, Sinapis sp</i>          |
| <b>M8</b>  |                            | <i>Eucalyptus globulus</i>                                      | <i>Capsella bursa pastoris, Lavandula stoeckas, Mentha pulegium, NI, Ormenis mixta, Oxalis pers caprae, Type Ranunculus</i>                                                                                                       | <i>Brassica napus, Convolvulus sp, Diplotaxis erucoïdes, Echium sp, Eucalyptus sp, Globularia alypum, Onopordon sp</i> |
| <b>M9</b>  |                            | <i>Eucalyptus camaldulensis</i>                                 | <i>Bupleurum sp (Apiaceae), Eucalyptus sp, Galactites tomentosa, Lathyrus sp, Moricandia arvensis, Morus alba, Potentilla anserina, Potentilla anserina, Potentilla reptans, Teucrium pseudochamaepitys, Rubia sp, Vicia faba</i> | <i>Filipendula vulgaris</i>                                                                                            |
| <b>M10</b> |                            | <i>Eucalyptus globulus, Moricandia arvensis, Ononis spinosa</i> | <i>Brassica sp, Cyperus laevigatus, Diplotaxis (Brassicaceae), Mentha pulegium</i>                                                                                                                                                |                                                                                                                        |
| <b>M11</b> |                            | <i>Eucalyptus sp, Eucalyptus globulus</i>                       | <i>Arbutus unedo, Carduus sp, Echium sp, Lathyrus sp (palustris), Medicago sp, Moricandia arvensis, Type Brassica</i>                                                                                                             |                                                                                                                        |
| <b>M12</b> |                            | <i>Eucalyptus camaldulensis, Type Potentilla, Arbutus unedo</i> | <i>Moricandia arvensis</i>                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                        |
| <b>M13</b> |                            |                                                                 | <i>Eucalyptus camaldulensis<br/>Eucalyptus sp<br/>Globularia alypum<br/>Lactuca virosa</i>                                                                                                                                        | <i>Adonis sp<br/>Ammi sp (majus)<br/>Antirrhinum sp<br/>Apium sp</i>                                                   |





|            |  |  |                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------|--|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |  | <i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Papaver rhoeas</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Spiranthes</i> (type<br><i>Orchidaceae</i> )<br><i>Type Ranunculus</i>                                             | <i>Brassica sp</i><br><i>Bupleurum foliosum</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Carduus sp</i><br><i>Celsia</i> ( <i>scrophulariaceaea</i> )<br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Cichorium intybus</i><br><i>Cistus sp</i><br><i>Citysus sp</i><br><i>Clematis vitalba</i><br><i>Crataegus sp</i><br><i>Cucurbita sp</i><br><i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Diplotaxis</i> ( <i>Brassicaceae</i> )<br><i>Echium sp</i><br><i>Erica arborea</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>NI</i><br><i>Ononis sp</i><br><i>Origanum</i><br><i>Oxalis pers caprae</i><br><i>Pallenis</i> ( <i>Allyssum</i><br><i>crucifères</i> )<br><i>Rhinanthus sp</i><br><i>Rosa canina</i><br><i>Rosa sempervirens</i><br><i>Scilla maritima</i><br><i>Trifolium reptans</i><br><i>Trigonella sp</i><br><i>Type Anthicharis</i><br><i>(boraginaceae)</i><br><i>Type Bupleurum</i><br><i>Type Cydonia</i><br><i>Type Genista</i> |
| <b>M14</b> |  |  | <i>Cistus sp</i><br><i>Eucalyptus camaldulensis</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>NI</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Type Ranunculus</i> | <i>Adonis sp</i><br><i>Ammi sp (majus)</i><br><i>Antirrhinum sp</i><br><i>Apium sp</i><br><i>Bellis sp</i><br><i>Brassica sp</i><br><i>Bupleurum foliosum</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Carduus sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |





|            |  |                                                   |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------|--|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                                                   |                                                                                                                                                                          | <i>Celsia (scrophulariaceaea)</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Cichorium intybus</i><br><i>Citysus sp</i><br><i>Clematis vitalba</i><br><i>Crataegus sp</i><br><i>Cucurbita sp</i><br><i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Diplotaxis erucoïdes</i><br><i>Echium sp</i><br><i>Erica arborea</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Gentiana sp</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Lactuca virosa</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>Ononis sp</i><br><i>Oxalis pers caprae</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Rhinanthus sp</i><br><i>Rosa canina</i><br><i>Rosa sempervirens</i><br><i>Scilla maritima</i><br><i>Spiranthes (type</i><br><i>Orchidaceae)</i><br><i>Trifolium reptans</i><br><i>Trigonella sp</i><br><i>Type Ammi</i><br><i>Type Anthicharis</i><br><i>(boraginaceae)</i><br><i>Type Bupleurum</i><br><i>Type Cydonia</i><br><i>Type Genista</i><br><i>Type Sinapis</i> |
| <b>M15</b> |  | <i>Hedysarum coronarium</i><br><i>Lathyrus sp</i> | <i>Apium sp, Brassica sp</i><br><i>Daucus sp, Echium sp</i><br><i>Lythrum junceum, Sinapis</i><br><i>sp, Type Pimpinella</i><br><i>Vicia sp</i>                          | <i>Type Allium</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>M16</b> |  | <i>Asparagus sp</i>                               | <i>Allysuum sp</i><br><i>Ammiopsis (aristidis)</i><br><i>Antirrhinum sp</i><br><i>Apium nodiflorum</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Daucus carota, Eucalytpus</i> | <i>Apium nilotica sp</i><br><i>Cachrys sp</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |





|            |  |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------|--|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                      | <i>sp, Juniperus sp, Lamium sp</i><br><i>Primula sp (nivalis),</i><br><i>Quercus suber, Spiranthes</i><br><i>(type Orchidaceae), Type</i><br><i>Acacia</i>                                                                                                                 | <i>Primula sp (acaulis)</i><br><i>Ranunculus sp</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>M17</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i> | <i>Cistus menspeliensis, Erica</i><br><i>arborea, Eucalyptus</i><br><i>globulus, Galactites sp,</i><br><i>Mathiola sp, Mentha</i><br><i>pulegium, Mentha pulegium,</i><br><i>Pyrus sp, Pyrus sp, Rubia</i><br><i>sp, Thymus serpyllum</i>                                  | <i>Ajuga iva, Asque,</i><br><i>Bupleurum foliosum,</i><br><i>Chrysanthemum,</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>M18</b> |  |                      | <i>Ammi sp, Anthyllis lothoides</i><br><i>Cotula corniphila</i><br><i>(Asteraceae), Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Eucalyptus sp, Globularia</i><br><i>alypum, Malus pumilla</i><br><i>Mill.,NI, Peganum harmala,</i><br><i>Scolymus hispanicus</i> | <i>Allium roseum, Allium sp</i><br><i>Anethum graveolens,</i><br><i>Asphodelus sp, Astragalus</i><br><i>sp, Cachrys sp, Hippocrepis</i><br><i>sp, Juglans régia</i><br><i>Lathyrus sp (palustris)</i><br><i>Leontodon sp, Lotus sp,</i><br><i>Moricandia arvensis,</i><br><i>Myosotis sp, Onopordon sp</i><br><i>Ptychotis sp, Rubia sp,</i><br><i>Salvia sp, Schinus molle</i><br><i>Spiranthes (type</i><br><i>Orchidaceae)</i>                                                                                                                      |
| <b>M19</b> |  |                      | <i>Erica arborea</i><br><i>Erica scoparia</i><br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Glycyrrhiza glabra</i><br><i>ouPaeonia</i><br><i>off(renonculaceae)</i><br><i>Hedysarum coronarium</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Mentha pulegium</i>                           | <i>Acacia sp</i><br><i>Anethum graveolens</i><br><i>Antirrhinum sp</i><br><i>Arbutus unedo</i><br><i>Brassica sp</i><br><i>Capsella bursa pastoris</i><br><i>Carthamus sp</i><br><i>Celsia (scrophulariaceaea</i><br><i>Cerinthe sp</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Cichorium intybus</i><br><i>Cistus sp</i><br><i>Convolvulus arvensis</i><br><i>Cotula corniphila</i><br><i>(Asteraceae)</i><br><i>Crepis sp</i><br><i>Cynoglossum creticum</i><br><i>Daucus sp</i><br><i>Dorycnium hirsutum</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Eupatorium sp</i> |





|     |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <i>Gladiolus segetum</i><br><i>Hypericum sp</i><br><i>Hypochoeris sp</i><br><i>Iris pseudo acorus</i><br><i>Lavandula sp</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Melilotus sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Myosotis sp</i><br><i>Odontites lutea</i><br><i>Ononis alopecuroïdes</i><br><i>Ononis sp</i><br><i>Onopordon sp</i><br><i>Ormenis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Populus nigra</i><br><i>Potentilla reptans</i><br><i>Primula sp</i><br><i>Prunus dulci Mill.</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Robinia pseudo acacia</i><br><i>Senecio vulgaris</i><br><i>Spiranthes (type</i><br><i>Orchidaceae)</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Type Artemisia</i><br><i>Type Daucus</i><br><i>Type Malus</i><br><i>Type Ononis</i><br><i>Type Thymus</i><br><i>Vicia sp</i><br><i>Zizyphus lotus</i> |
| M20 |  |  | <i>Cotula corniphila</i><br><i>(Asteraceae)</i><br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Mantisalca sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Populus nigra</i><br><i>Sorbus sp</i><br><i>Teucrium</i><br><i>pseudochamaepitys</i> | <i>Allium sp</i><br><i>Anthyllis sp</i><br><i>Apium nodiflorum</i><br><i>Astragalus sp</i><br><i>Erica sp</i><br><i>Inula montana</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Pistacia sp</i><br><i>Potentilla anserina</i><br><i>Pyrus communis</i><br><i>Ranunculus flammula sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |







|     |  |                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |
|-----|--|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |  |                                                                    | Type Lavandula                                                                                                                                                                                                                                                              | Reseda sp<br>Retama sp<br>Rosa canina<br>Sanguisorba sp<br>Sinapis sp<br>Type Malus<br>Verbascum elaterium                                                                                   |
| M21 |  | Eucalytpus sp<br>Onopordon sp<br>Pallenis (Allyssum<br>crucifères) | Anthyllis sp, Rubus<br>ulmifolius                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                              |
| M22 |  | Eucalytpus sp                                                      | Astragalus sp<br>Convolvulus arvensis<br>Pallenis (Allyssum<br>crucifères)<br>Potentilla sp<br>Primula sp<br>Ptychotis sp<br>Sorbus sp<br>Verbascum sp                                                                                                                      | Crotalaria sp,<br>Filipendula vulgaris                                                                                                                                                       |
| M23 |  |                                                                    | Daucus carota<br>Eucalytpus sp<br>Juniperus sp<br>Lamium sp<br>Luffa sp<br>Mathiola sp<br>Moricandia arvensis<br>Quercus suber<br>Rosmarinus officinalis<br>Rubia laevis<br>Spiranthes (type<br>Orchidaceae)<br>Type Acacia<br>Primula sp (acaulis)<br>Primula sp (nivalis) | Antirrhinum sp<br>Asparagus sp<br>Cachrys sp<br>Campanula dichotoma<br>Filipendula vulgaris<br>Ornithogalum arabicum ou<br>Teucrium<br>pseudochamaepitys<br>Ranunculus sp<br>Type Malus      |
| M24 |  |                                                                    | Anthyllis sp,<br>Apium nodiflorum<br>Asphodelus sp<br>Cirsium sp<br>Cupressus sempervirens<br>Daucus carota<br>Dorycnium sp<br>Eucalytpus sp<br>Juniperus sp<br>Malus sp<br>Peganum harmala                                                                                 | Apium sp<br>Filipendula vulgaris<br>Lamium sp<br>Mathiola sp<br>Mentha pulegium<br>Moricandia arvensis<br>Myrtus communis<br>NI<br>Onosma (Cynoglossum)<br>Saponaria sp<br>Thapsia garganica |





|     |  |  |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |  |  | <i>Phagnalon sp</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br><i>Taraxacum sp</i><br><i>Type Rubus</i>                                                             | <i>Thymus sp</i><br><i>Type Acacia</i><br><i>Vicia sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| M25 |  |  | <i>Eucalyptus sp</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Glaucium flavum</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Pyrus syriaca</i><br><i>Type Artemisia</i><br><i>Zizyphus lotus</i> | <i>Apium napifolia</i><br><i>Apium sp</i><br><i>Carduus sp</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Cynara sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Galactites sp</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Hypecum procumbens</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Onosma (Cynoglossum)</i><br><i>Oxalis pers caprae</i><br><i>Papaver rhoeas</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla sp</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Pyrus communis</i><br><i>Raphanus raphanistrum</i><br><i>Retama retam</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Sambucus nigra</i><br><i>(caprifoliaceae)</i><br><i>Scilla sp</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Thymus sp</i><br><i>Type Anthyllis</i><br><i>Type Iridaceae</i><br><i>Type Laurus</i><br><i>Type Lavandula</i><br><i>Vicia cracca (tricolporé)</i> |
| M26 |  |  | <i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Eucalyptus sp</i>                                                                                                                               | <i>Ajuga reptans</i><br><i>Alisma plantago aquatica</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |





|     |  |  |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----|--|--|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |  |  | <i>Globularia alypum</i><br><i>Pyrus communis</i><br><i>Pyrus syriaca</i>      | <i>Apium napifolia</i><br><i>Apium sp</i><br><i>Astragalus sp</i><br><i>Capsella bursa pastoris</i><br><i>Centaurea sp</i><br><i>Centaureum sp</i><br><i>Cerithe major</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Crataegus sp</i><br><i>Cydonia vulgaris</i><br><i>Cynara sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Dorycnium sp</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Galactites sp</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Glaucium flavum</i><br><i>Helianthemum sp</i><br><i>Hypecum procumbens</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Onosma (Cynoglossum)</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla sp</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Reseda sp</i><br><i>Retama retam</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Scilla sp</i><br><i>Teucrium sp</i><br><i>Type Anthyllis</i><br><i>Type Artemisia</i><br><i>Type Iridaceae</i><br><i>Type Laurus</i><br><i>Type Lavandula</i><br><i>Vicia cracca (tricolporé)</i><br><i>Zizyphus lotus</i> |
| M27 |  |  | <i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Globularia alypum</i> | <i>Ajuga reptans</i><br><i>Alisma plantago aquatica</i><br><i>Apium sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |





|            |  |                          |                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------|--|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                          | <i>Pyrus communis</i><br><i>Pyrus syriaca</i>                                                                                                        | <i>Astragalus</i> sp<br><i>Capsella bursa pastoris</i><br><i>Centaurea</i> sp<br><i>Centaureum</i> sp<br><i>Cerinth major</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Crataegus</i> sp<br><i>Cydonia vulgaris</i><br><i>Cynara</i> sp<br><i>Daucus carota</i><br><i>Dorycnium</i> sp<br><i>Echium vulgare</i><br><i>Galactites</i> sp<br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Glaucium flavum</i><br><i>Helianthemum</i> sp<br><i>Juniperus</i> sp<br><i>Leontodon</i> sp<br><i>Malus pumilla</i> Mill.<br><i>Malus</i> sp<br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Onosma (Cynoglossum)</i><br><i>Pedicularis</i> sp<br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla</i> sp<br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Reseda</i> sp<br><i>Retama retam</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Scilla</i> sp<br><i>Teucrium</i> sp<br><i>Type Anthyllis</i><br><i>Type Artemisia</i><br><i>Type Iridaceae</i><br><i>Type Laurus</i><br><i>Type Lavandula</i><br><i>Vicia cracca (tricolporé)</i><br><i>Zizyphus lotus</i> |
| <b>M28</b> |  | <i>Globularia alypum</i> | <i>Daucus carota</i><br><i>Galactites</i> sp<br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Hypericum</i> sp<br><i>Leontodon</i> sp<br><i>Malus pumilla</i> Mill. | <i>Apium</i> sp<br><i>Carduus</i> sp<br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Crataegus monogyna</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Hippocrepis</i> sp                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |





|            |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |  | <i>Malus sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla sp</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Type Anthyllis</i>                                                                                                                                                                                                                    | <i>Juniperus sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Onosma (Cynoglossum)</i><br><i>Oxalis pers caprae</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Retama retam</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Thymus sp</i>                          |
| <b>M29</b> |  |  | <i>Alisma plantago aquatica</i><br><i>Brassica sp</i><br><i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Genista sp</i><br><i>Mantisalca sp</i><br><i>Opuntia ficus indica</i><br><i>Pallenis (Allyssum crucifères)</i><br><i>Pimpinella sp</i><br><i>Type Cucumis</i>                                                                                                         | <i>Acacia horrida</i><br><i>Anthyllis sp</i><br><i>Inula sp</i><br><i>Onopordon sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i>                                                                                                                                                   |
| <b>M30</b> |  |  | <i>Apium sp</i><br><i>Galactites sp</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla sp</i><br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Retama retam</i><br><i>Rubia laevis</i> | <i>Bellis sp</i><br><i>Carduus sp</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Crataegus monogyna</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Thymus sp</i>                              |
| <b>M31</b> |  |  | <i>Chamaerops humulis</i><br><i>Crataegus monogyna</i><br><i>Cydonia vulgaris</i><br><i>Cynara sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Pyrus syriaca</i>                                                                                          | <i>Apium sp</i><br><i>Cerithe major</i><br><i>Chrysanthemum</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Pedicularis sp</i><br><i>Pistacia lentiscus</i><br><i>Potentilla sp</i> |





|            |  |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------|--|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                            | <i>Rubia laevis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <i>Prunus prostrata</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Thymus sp</i>                                                                                                                                                                                   |
| <b>M32</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i> | <i>Bupleurum sp</i> (Apiaceae)<br><i>Chamaerops humulis</i><br><i>Cotula corniphila</i><br>(Asteraceae)<br><i>Cynara sp</i><br><i>Echium vulgare</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Vicia cracca</i> (tricolporé)<br><i>Lythrum junceum</i><br><i>Phoenix dactylifera</i><br><i>Pyrus syriaca</i>                                                             | <i>Brassica sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Malus pumilla</i> Mill.<br><i>Moricandia arvensis</i>                                                                                                                            |
| <b>M33</b> |  |                            | <i>Anthyllis sp</i><br><i>Diplotaxis</i> (Brassicaceae)<br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Malus pumilla</i> Mill.<br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br>NI<br><i>Pallenis</i> (Allyssum<br>crucifères)<br><i>Prunus prostrata</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Quercus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Vicia cracca</i> (tricolporé) | <i>Acacia horrida</i><br><i>Cachrys sp</i><br><i>Cistus sp</i><br><i>Cynoglossum sp</i><br><i>Glaucium flavum</i><br><i>Ononis sp</i><br><i>Onopordon sp</i><br><i>Pisum sativum</i><br><i>Raphanus sp</i><br><i>Saponaria sp</i><br><i>Trifolium repans</i><br><i>Type Lathyrus</i> |
| <b>M34</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i>       | <i>Daucus sp</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>Pallenis</i> (Allyssum<br>crucifères)<br><i>Pyrus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Veronica sp</i>                                                                                                                                                                                                | <i>Moricandia arvensis</i><br><i>Thapsia garganica</i>                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>M35</b> |  |                            | <i>Asparagus sp</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Primula sp</i><br><i>Primula sp</i> (nivalis)                                                                                                                                                                                                                      | <i>Cachrys sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Filipendula vulgaris</i>                                                                                                                                                                                                             |





|     |  |  |                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |  |  | <i>Quercus suber</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br>Type Acacia<br>Type Chenopodiaceae<br>Type Hedysarum                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| M36 |  |  | <i>Asparagus sp</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Glycyrrhiza glabra</i><br>ou <i>Paeonia</i><br>off(renonculaceae)<br><i>Ptychotis sp</i><br>Type <i>Ornithopus</i><br><i>Zizyphus lotus</i> | <i>Acacia horrida</i><br><i>Adonis annua</i><br><i>Anchusa sp</i><br><i>Artemisia herba alba</i><br><i>Blackstonia perfoliata</i><br><i>Brassica sp</i><br><i>Cachrys sp</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Centaurea sp</i><br><i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Cynoglossum creticum</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Dorycnium sp</i><br><i>Eryngium sp</i><br><i>Euphorbia sp</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br>NI<br><i>Olea europaea L.</i><br><i>Opuntia ficus indica</i><br><i>Ornithogalum arabicum ou</i><br><i>Teucrium</i><br><i>pseudochamaepitys</i><br><i>Ornithopus compressus sp</i><br><i>Primula sp (acaulis)</i><br><i>Primula sp (nivalis)</i><br><i>Pyrus syriaca</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Rosa sp</i><br><i>Scilla sp</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br>Type Acacia<br>Type <i>Euphorbia</i><br>Type Iridaceae<br><i>Xanthium spinosum</i> |





|            |  |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>M37</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i><br><i>Globularia alypum</i>                                      | <i>Daucus sp</i><br><i>Pallenis (Allyssum crucifères)</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Veronica sp</i>                                                                                                                                                                                                                         | <i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br>Type <i>Cucumis</i>                                                                                                                                                                                                           |
| <b>M38</b> |  |                                                                                       | <i>Artemisia herba alba</i><br><i>Asparagus sp</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Onosma sp (echinoides)</i><br><i>Primula sp</i><br><i>Primula sp (nivalis)</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Zizyphus lotus</i> | <i>Cachrys sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Odontites sp</i><br><i>Ornithogalum arabicum ou</i><br><i>Teucrium pseudochamaepitys</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br>Type <i>Acacia</i> |
| <b>M39</b> |  | <i>Globularia alypum</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Rubia sp</i> | <i>Pallenis (Allyssum crucifères)</i><br><i>Veronica sp</i><br><i>Marrubium vulgare</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>M40</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i>                                                            | <i>Allium roseum</i><br><i>Ammi sp</i><br><i>Anethum sp</i><br><i>Asphodelus sp</i><br><i>Cotula corniphila (Asteraceae)</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Lotus sp</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Myosotis sp</i><br><i>Onopordon sp</i><br><i>Peganum harmala</i><br><i>Spiranthes (type Orchidaceae)</i><br><i>Scolymus hispanicus</i>    | <i>Allium sp</i><br><i>Astragalus sp</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Salvia sp</i>                                                                                                                                                                                                        |
| <b>M41</b> |  |                                                                                       | <i>Asparagus sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <i>Cachrys sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                          |







|            |  |                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------|--|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                                                  | <i>Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Primula sp (acaulis)</i><br><i>Primula sp (nivalis)</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br><i>Type Acacia</i><br><i>Zizyphus lotus</i>                     | <i>Campanula dichotoma</i><br><i>Echinops spinosus</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Onobrychis sp</i><br><i>Ornithogalum arabicum ou</i><br><i>Teucrium</i><br><i>pseudochamaepitys</i><br><i>Sesli sp (Apiaceae)</i> |
| <b>M42</b> |  |                                                  | <i>Allium roseum</i><br><i>Allium sp</i><br><i>Ammi sp</i><br><i>Anthyllis lathoides</i><br><i>Asphodelus microcarpus</i><br><i>Astragalus sp</i><br><i>Cotula corniphila</i><br><i>(Asteraceae)</i><br><i>Eucalyptus globulus</i><br><i>Gladiolus segetum</i><br><i>Globularia alypum</i><br><i>Hippocrepis sp</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Lotus sp</i><br><i>Ptychotis sp</i> | <i>Anethum sp</i><br><i>Juglans régia</i><br><i>Leontodon sp</i><br><i>Malus pumilla Mill.</i><br><i>Myosotis sp</i><br><i>Peganum harmala</i><br><i>Salvia sp</i><br><i>Scolymus hispanicus</i>                                                  |
| <b>M43</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i><br><i>Globularia alypum</i> | <i>Daucus sp</i><br><i>Pallenis (Allyssum crucifères)</i><br><i>Pyrus sp</i><br><i>Rubus ulmifolius</i><br><i>Thapsia garganica</i><br><i>Veronica sp</i>                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>M44</b> |  |                                                  | <i>Apium nodiflorum</i><br><i>Apium sp</i><br><i>Asphodelus sp</i><br><i>Cistus sp</i><br><i>Cupressus sempervirens</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Malus sp</i><br><i>Dorycnium sp</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Mathiola sp</i>                                                                                                                                               | <i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Mentha pulegium</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Peganum harmala</i><br><i>Taraxacum sp</i>                                                                                       |





|            |  |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------|--|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                          | <i>Myrtus communis</i><br><i>NI</i><br><i>Phagnalon sp</i><br><i>Sisyrinchium sp</i><br><i>Type Acacia</i><br><i>Type Rubus</i><br><i>Vicia sp</i>                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>M45</b> |  |                          | <i>Asparagus sp</i><br><i>Pyrus syriaca</i><br><i>Daucus carota</i><br><i>Eucalyptus sp</i><br><i>Juniperus sp</i><br><i>Luffa sp</i><br><i>Mathiola sp</i><br><i>Ranunculus sp</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Rubia laevis</i><br><i>Spiranthes (type</i><br><i>Orchidaceae)</i><br><i>Type Acacia</i><br><i>Primula sp (acaulis)</i><br><i>Primula sp (nivalis)</i> | <i>Antirrhinum sp</i><br><i>Borago officinalis</i><br><i>Cachrys sp</i><br><i>Campanula dichotoma</i><br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Lamium sp</i><br><i>Lobularia sp</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Quercus suber</i><br><i>Onobrychis sp</i><br><i>Onosma sp (echinoides)</i><br><i>Ornithogalum arabicum ou</i><br><i>Teucrium</i><br><i>pseudochamaepitys</i> |
| <b>M46</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i>     | <i>Pallenis (Allyssum</i><br><i>crucifères), Asparagus sp,</i><br><i>Primula sp, Ptychotis sp,</i><br><i>Reseda alba, Sisyrinchium</i><br><i>sp, Thymus capitatus, Type</i><br><i>Acacia, Lupinus sp, Inula</i><br><i>viscosa, Leontodon sp</i>                                                                                                                                   | <i>Allium sp</i><br><i>Asphodelus sp</i><br><i>Odontites sp</i><br><i>Scolymus hispanicus</i><br><i>Trifolium arvense</i><br><i>Type Apiaceae</i><br><i>Type crataegus</i><br><i>Lathyrus sativus</i><br><i>Linaria sp</i><br><i>Lotus corniculatus</i>                                                                                                                          |
| <b>M47</b> |  | <i>Globularia alypum</i> | <i>Cistus sp, Eucalyptus sp,</i><br><i>Globularia alypum,</i><br><i>Leontodon sp Luffa sp,</i><br><i>Myosotis sp, NI, Pallenis</i><br><i>(Allyssum crucifères),</i><br><i>Pyrus sp, Rosa canina,</i><br><i>Spiranthes (type</i><br><i>Orchidaceae), Thapsia</i><br><i>garganica</i>                                                                                               | <i>Glaucium flavum</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Type Vicia</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>M48</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i>     | <i>Asparagus sp, Crataegus</i><br><i>monogyna, Juniperus sp,</i><br><i>Daucus carota, Echium</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <i>Antirrhinum sp</i><br><i>Brassica sp</i><br><i>Cachrys sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |





|            |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |  | <i>vulgare</i> , <i>Luffa</i> sp, <i>Mathiola</i> sp, <i>Rubia laevis</i> , <i>Rubia</i> sp, <i>Spiranthes</i> (type <i>Orchidaceae</i> ), Type <i>Acacia</i> , Type <i>Ononis</i>                                                                                                                                                                                                           | <i>Campanula dichotoma</i><br><i>Lamium</i> sp<br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Marrubium vulgare</i><br><i>Moricandia arvensis</i><br><i>Primula</i> sp ( <i>acaulis</i> )<br><i>Quercus suber</i><br><i>Rosmarinus officinalis</i><br><i>Silene</i> ( <i>Caryophyllaceae</i> )<br>Type <i>Rosa</i>       |
| <b>M49</b> |  |  | <i>Cachrys sicula</i> sp,<br><i>Coronilla</i> sp,<br><i>Cynoglossum creticum</i> ,<br><i>Onosma</i> sp ( <i>echinoides</i> ),<br><i>Pallenis</i> ( <i>Allyssum</i> <i>crucifères</i> ),<br><i>Pedicularis</i> sp,<br><i>Ptychotis</i> sp,<br><i>Rhamnus alaternus</i> ,<br><i>Rumex</i> sp ,<br><i>Scilla maritima</i> ,<br><i>Spiraea</i> ( <i>rosaceae</i> ),<br>Type <i>Euphorbiaceae</i> | <i>Campanula dichotoma</i><br><i>Dorycnium</i> sp<br><i>Filipendula vulgaris</i><br><i>Lobularia</i> sp<br><i>Quercus ilex</i><br><i>Sanicula europaea</i><br><i>Trifolium</i> sp                                                                                                                              |
| <b>M50</b> |  |  | <i>Anthyllis</i> sp, <i>Apium</i> <i>nodiflorum</i><br><i>Asparagus</i> sp, <i>Crataegus</i> <i>monogyna</i> , <i>Cucurbita</i> sp,<br><i>Eucalyptus</i> sp, <i>Globularia</i> <i>alypum</i> , <i>Onosma</i> sp ( <i>echinoides</i> ), <i>Peucedanum</i> sp, <i>Stachys</i> sp, Type <i>Boraginaceae</i><br>Type <i>Centaurium</i>                                                           | <i>Antirrhinum</i> sp, <i>Atractylis</i> <i>carduus</i> ( <i>Xanthium</i> ), <i>Cistus</i> sp, <i>Daucus carota</i> ,<br><i>Hippocrepis</i> sp, <i>Lamium</i> sp,<br><i>Moricandia arvensis</i> , NI,<br><i>Osyris alba</i> , <i>Ruta</i> sp<br><i>montana</i> , <i>Salix</i> sp, <i>Tolpis</i> <i>barbata</i> |
| <b>M51</b> |  |  | <i>Cachrys sicula</i> sp,<br><i>Cynoglossum creticum</i> ,<br><i>Onosma</i> sp ( <i>echinoides</i> ),<br><i>Pallenis</i> ( <i>Allyssum</i> <i>crucifères</i> ), <i>Pedicularis</i> sp<br><i>Ptychotis</i> sp, <i>Quercus ilex</i><br><i>Rhamnus frangula</i> , <i>Salix</i> <i>alba</i> , <i>Silybum marianum</i> ,<br><i>Sysirinchium</i> sp, Type <i>Fabaceae</i>                          | <i>Campanula dichotoma</i> ,<br><i>Coronilla</i> sp, <i>Dorycnium</i> sp,<br><i>Filipendula vulgaris</i> ,<br><i>Lobularia</i> sp                                                                                                                                                                              |
| <b>M52</b> |  |  | <i>Anchusa undulata</i> , <i>Cyperus</i> <i>laevigatus</i> , <i>Eucalyptus</i> sp,                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <i>Allium</i> sp, <i>Asphodelus</i> sp,<br><i>Lathyrus nissolia</i> , <i>Lobularia</i>                                                                                                                                                                                                                         |





|            |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |  | <i>Inula viscosa</i> , <i>Lathyrus sativus</i> , <i>Leontodon</i> sp, <i>Lotus creticus</i> , <i>Luffa</i> sp, <i>Potentilla</i> sp, <i>Senecio leucanthemifolius</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Trifolium pratense</i> , Type <i>Pyrus</i>                                                                                                           | sp, <i>Ptychotis</i> sp, type <i>Crepis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>M53</b> |  |  | <i>Ammi</i> sp, <i>Anethum</i> sp, <i>Astragalus</i> sp, <i>Cotula corniphila</i> (Asteraceae), <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Globularia alypum</i> , <i>Leontodon</i> sp, <i>Lotus</i> sp, <i>Malus pumilla</i> Mill., <i>Myosotis</i> sp, <i>Onopordon</i> sp, <i>Peucedanum</i> sp, <i>Sambicus</i> sp (nigra), <i>Senecio</i> sp, <i>Tamarix</i> sp | <i>Allium</i> sp, <i>Asphodelus</i> sp, <i>Daucus carota</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>M54</b> |  |  | <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Glycyrrhiza glabra</i> ou <i>Paeonia off</i> (renonculaceae)                                                                                                                                                                                                                                                              | <i>Convolvulus arvensis</i> , <i>Cotula corniphila</i> (Asteraceae), <i>Crepis</i> sp, <i>Cynoglossum creticum</i> , <i>Daucus</i> sp, <i>Echium vulgare</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Erica scoparia</i> , <i>Gladiolus segetum</i> , <i>Hedysarum coronarium</i> , <i>Hypericum</i> sp, <i>Hypochoeris</i> sp, <i>Iris pseudo acorus</i> , <i>Lavandula</i> sp, <i>Malus pumilla</i> Mill., <i>Malus</i> sp, <i>Mathiola</i> sp, <i>Melilotus</i> sp, <i>Mentha pulegium</i> , <i>Moricandia arvensis</i> , <i>Myosotis</i> sp, <i>Odontites lutea</i> , <i>Ononis alopecuroïdes</i> , <i>Ononis arvensis</i> , <i>Onopordon</i> sp, <i>Ormenis</i> sp, <i>Pistacia lentiscus</i> , <i>Rosa (montana)</i> , <i>Populus nigra</i> , <i>Potentilla reptans</i> , <i>Primula</i> sp, <i>Prunus dulci</i> Mill., <i>Prunus</i> sp, <i>Quercus suber</i> , <i>Rhamnus</i> sp, <i>Taraxacum dens leonis</i> , <i>Thymus algériensis</i> , Type Asteraceae, Type |





|            |  |                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------|--|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                     | <i>Cirsium</i> , Type <i>Echium</i> , Type <i>Origanum</i> , Type <i>Trifolium</i> , <i>Vicia villosa</i> , <i>Zygophyllum</i> sp, <i>Seseli</i> sp.                                                                                                       |
| <b>M55</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i>                                            | <i>Allium roseum</i> , <i>Antirrhinum majus</i> , <i>Centaurea erythraea</i> , <i>Crataegus monogyna</i> , <i>Cynoglossum cheirifolium</i> , <i>Linaria pinifolia</i> , <i>Matricaria</i> sp, <i>Mentha</i> sp, <i>Onopordon</i> sp, <i>Ornithopus</i> sp           | <i>Echium</i> sp, <i>Hedysarum</i> sp, Type <i>Apium</i>                                                                                                                                                                                                   |
| <b>M56</b> |  | <i>Eucalyptus</i> sp, <i>Malus pumilla</i> Mill.                      | <i>Asques</i> , <i>Brassica</i> sp, <i>Cydonia vulgaris</i> , <i>Prunus amygdalus</i> , <i>Rosa</i> sp, <i>Trifolium repens</i>                                                                                                                                     | <i>Ajuga reptans</i> , <i>Ammi</i> sp, <i>Daucus</i> sp , <i>Potentilla</i> sp, , <i>Pyrus communis</i> , <i>Raphanus</i> sp , <i>Galactites tomentosa</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Mathiola</i> sp , <i>Melilotus</i> sp, <i>Onopordon</i> sp |
| <b>M57</b> |  | <i>Vicia</i> sp                                                       | <i>Apium</i> sp, <i>Asphodelus microcarpus</i> , <i>Echium</i> sp, <i>Lathyrus</i> sp, <i>Lavandula stoeckas</i> , <i>Medicago</i> sp, <i>Mentha piperita</i> , <i>Rubus fruticosus</i> , <i>Thymus</i> sp                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>M58</b> |  | <i>Medicago</i> sp                                                    | <i>Asphodelus microcarpus</i> , <i>Brassica</i> sp, <i>Echium</i> sp, <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Eucalyptus</i> sp, <i>Galactites tomentosa</i> , <i>Lythrum junceum</i> , <i>Mentha</i> sp, <i>Rosa canina</i> , <i>Rosa</i> sp, <i>Taraxacum Officinalis</i> | <i>Campanula dichotoma</i> , <i>Cistus menspeliensis</i> , <i>Euphorbia</i> sp, <i>Lotus</i> sp, <i>Pyrus communis</i> , <i>Raphanus raphanistrum</i> , <i>Taraxacum</i> sp, <i>Thymus</i> sp, Type <i>senecio</i>                                         |
| <b>M59</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i> , Type <i>Fabaceae</i>                     | <i>Brassica napus</i> , <i>Campanula</i> sp, <i>Cichorium intybus</i> , <i>Daucus</i> sp, <i>Echium vulgare</i> , <i>Malus pumilla</i> Mill., <i>Sinapis</i> sp, Type <i>Lathyrus</i>                                                                               | Type <i>Ruta</i>                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>M60</b> |  | <i>Apium nodiflorum</i> , <i>Apium</i> sp, <i>Eucalyptus globulus</i> | <i>Cirsium</i> sp, Type <i>Trifolium</i>                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>M61</b> |  | Type <i>Papilionaceae</i>                                             | <i>Campanula dichotoma</i> , <i>Cirsium</i> sp, <i>Cichorium intybus</i> , <i>Lamium</i> sp, <i>Medicago</i> sp, <i>Melilotus</i> sp, <i>Ruta</i> sp, Type <i>Apiaceae</i> ,                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                            |





|            |  |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                |
|------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |  |                                                                                     | Type Brassica, Type Rosa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                |
| <b>M62</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i>                                                          | <i>Apium nodiflorum</i> ,<br><i>Asphodelus microcarpus</i> ,<br><i>Brassica sp</i> , <i>Cichorium</i><br><i>intybus</i> , <i>Cichorium</i><br><i>intybus</i> , <i>Echium</i><br><i>vulgare</i> , <i>Eucalyptus</i><br><i>camaldulensis</i> , <i>Malus</i><br><i>pumilla</i> Mill., <i>Mentha</i><br><i>sp</i> , <i>Senecio sp</i> , <i>Silybum</i><br><i>marianum</i> , <i>Trifolium sp</i> ,<br><i>Type cucurbitaceae</i> | <i>Silene (Caryophyllaceae)</i> ,<br><i>Campanula sp</i>                                                                                                                       |
| <b>M63</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i> ,<br><i>Sinapis sp</i>                                         | <i>Cirsium sp</i> , <i>Cydonia</i><br><i>vulgaris</i> , <i>Echium vulgare</i> ,<br><i>Laurus</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                |
| <b>M64</b> |  | <i>Eucalyptus globulus</i> ,<br><i>Eucalyptus</i><br><i>camaldulensis</i>           | <i>Apium nodiflorum</i> , <i>Brassica</i><br><i>napus</i> , <i>Campanula sp</i> ,<br><i>Cichorium intybus</i> , <i>Echium</i><br><i>sp</i> , <i>Mentha sp</i> , <i>Rubus</i><br><i>fruticosu</i> , <i>Trifolium sp</i> , <i>Type</i><br><i>Daucus</i> , <i>Type Lamiaceae</i> ,<br><i>Type Pyrus</i>                                                                                                                       | <i>Asphodelus microcarpus</i>                                                                                                                                                  |
| <b>M65</b> |  | <i>Lotus sp</i>                                                                     | <i>Apium sp</i> , <i>Cicer sp</i> , <i>Echium</i><br><i>sp</i> , <i>Eucalyptus sp</i> ,<br><i>Hedysarum coronarium</i> ,<br><i>Lathyrus sp</i> , <i>Raphanus sp</i> ,<br><i>Rosmarinus sp</i> , <i>Sinapis</i><br><i>sp</i> , <i>Type Liliaceae</i> , <i>Type</i><br><i>Thymus</i>                                                                                                                                         | <i>Asphodelus sp</i> , <i>Campanula</i><br><i>sp</i> , <i>Malva sylvestris</i> , <i>Pyrus</i><br><i>communis</i> , <i>Silene</i><br><i>(Caryophyllaceae)</i> , <i>Vicia sp</i> |
| <b>M66</b> |  | <i>Mentha sp</i> , <i>Thymus sp</i>                                                 | <i>Daucus (Apiaceae)</i> ,<br><i>Brassica napus</i> , <i>Cichorium</i><br><i>intybus</i> , <i>Trifolium repens</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <i>Cachrys (Apiaceae)</i> ,<br><i>Echium sp</i> , <i>Type Apium</i>                                                                                                            |
| <b>M67</b> |  | <i>Eucalyptus sp</i> ,<br><i>Sinapis arvensis</i> ,<br><i>Raphanus raphanistrum</i> | <i>Allium sp</i> , <i>Brassica sp</i> ,<br><i>Echium sp</i> , <i>Melilotus sp</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                |





*PRODUCTION  
SCIENTIFIQUE*

*Full Length Research Paper*

# Physicochemical parameters and antibiotics residuals in Algerian honey

**Radia DRAIAIA<sup>1\*</sup>, Azzedine CHEFROUR<sup>2,3</sup>, Nicoletta DAINESE<sup>4</sup>, Alice BORIN<sup>4</sup>, Chiara MANZINELLO<sup>4</sup>, Albino GALLINA<sup>4</sup> and Franco MUTINELLI<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Biochemical Laboratory, Institute of Biology, Mohamed Cherif Messaadia University-Souk Ahras-, Souk ahras (41000) Algeria.

<sup>2</sup>Laboratory of Development and Control of Hospital Pharmaceutical Preparations, Medicine Faculty, Badji Mokhtar University - Annaba (23000), Algeria.

<sup>3</sup>Biology Department, Faculty of Natural Sciences and the Life, Mohamed Cherif Messaadia University-Souk Ahras (41000), Algeria.

<sup>4</sup>Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Italy.

Received 28 January, 2015; Accepted 12 March, 2015

The aim of the present study was to evaluate the quality of 36 samples of different honey type supplied by local producers from Algeria in order to verify its compliance with the standards of Codex Alimentarius and European Union (EU). For that, five physicochemical parameters were analyzed using the HPLC method: hydroxyl-methyl furfural (HMF), sugars, diastase activity and search of antibiotic contamination with streptomycin and tetracycline. The physicochemical analyses of the Algerian honeys show that 56% of samples correspond to Codex standards and 44% not in conformity with the standards required by the Codex Alimentarius and EU, because part of the samples had one or more defects. The percentage not in conformity was due to the high rates of hydroxyl-methyl furfural, sucrose and also to the low enzyme level. Analysis performed by the laboratory to detect residues of tetracycline and streptomycin in honey have revealed insignificant traces of oxytetracycline in two samples of honey (0.03 ppb). From the present study, it is observed that the Algerian honey samples is not completely in agreement with the requirements of international honey standards which could be caused by inappropriate actions during processing and storage steps.

**Key words:** Honey quality, sugar, diastase activity, hydroxymethylfurfural, antibiotic residues.

## INTRODUCTION

The Codex Alimentarius (2001) define honey as a natural sweet substance, produced by honeybees from the

nectar of plants or from secretions of living parts of plants, or excretions of plant-sucking insects on the living

\*Corresponding author. E-mail: draiaiaradia@yahoo.fr.



parts of plants, which the bees collect, transform by combining with specific substances of their own, deposit, dehydrate, store and leave in honeycombs to ripen and mature. Honey composition basically depends on the nectar composition of each producing plant species, conferring specific characteristics to it (Marchini et al., 2007). Honey is a complex mixture which presents very great variations in composition and characteristics due to its geographical and botanical origin, its main features depend on the floral origin or the nectar foraged by bees (Kebede et al., 2012; Saxena et al., 2010).

The composition and quality of honey also depend on several environmental factors during production such as weather and humidity inside the hive, nectar conditions and treatment of honey during extraction and storage. However, quality and composition of honey are negatively affected by other factors such as overfeeding with sucrose and other sucrose variants, harvesting prior to maturity, unhealthy storage conditions and overused veterinary drugs (Sahinler et al., 2004).

Honey is composed primarily of the sugar: glucose and fructose; its third greatest component is water (Singh et al., 2012). Honey also is composed of a complex mixture of carbohydrates and other less frequent substances, such as organic acids, amino acids, proteins, minerals, vitamins, lipids (Blasa et al., 2006; Ball, 2007; Zerrouk et al., 2011), aromatic compounds, flavonoids, vitamins, pigments, waxes, pollen grains, several enzymes and other phytochemicals (Gomes et al., 2010; Lazarevic et al., 2010; de Almeida-Muradian et al., 2013).

According to the Codex Alimentarius and Council Directive of the European Union (EU), honey is a natural product and should be exempt of contaminant. On the other hand, contamination of honey may occur through the common use of antibiotics such as the streptomycin and its derivative dihydrostreptomycin (DHSTR) which often combined with tetracycline. These antibiotics are used as veterinary drugs or crop-protection agents in broad-spectrum anti infection formulation (Michel et al. 2004) because they are against both Gram-positive and few Gram-negative bacteria (Kwapong et al., 2013).

In order to guaranties the nomination of honey and also protect human health, the use of antimicrobials in apiculture is usually strictly regulated or banned. According to Regulation (EC) No 470/2009 and Regulation (EU) No 37/2010, in the European Union, no maximum residue level (MRL) for tetracycline and any other antibacterial substance residues in honey are allowed (Cara et al., 2012).

Considering the nutritional properties of honey and its scarcity in the Algerian market, it is exposed to fraud. To check its quality, various international institutions, such as the International Honey Commission (IHC), the Codex Alimentarius and the European Commission propose methods of analyses to ensure that honey is authentic in respect to the legislative requirements.

Algerian honey production is estimated to average 33,000 quintals in 2011 with a yield of 4-8 Kg/hive (Oudjet, 2012), which is less than the needs of local consumption while it is supposed to be at the origin of an important export outlet. This low production affects the price and makes it remain high. Therefore, consumption remains as low as production. This lack of production is the result of multiple causes such as absence of national regulation, lack of a professional organization and insufficient quality control laboratory (Bendeddouche and Dahmani, 2011). Nevertheless, Algerians researchers and scientists try to establish correct denominations to assure a minimum marketing level of the product.

The aim of the present study was to evaluate the quality of 36 samples belonging to different honey type supplied from local producers from Algeria in order to verify its compliance with the standards of Codex Alimentarius, 2001 and the Council of the European Union (EU), 2002. Five physicochemical parameters were analysed using the HPLC method: hydroxyl-methyl furfural, sugars, diastase activity and search of antibiotic contamination with streptomycin and tetracycline.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling

Thirty six (36) honey samples produced in various regions of Algeria (Figure 1) were collected directly from beekeepers or from apicultural corporations or from beekeepers vendors of trade fairs (Local open air markets) between July and September 2012. All honey samples were labeled either according to their botanical and geographical origin as suggested by the beekeepers; sampling was accompanied by an interview with the beekeeper for information on these honeys as date of harvest and mode of extraction, or according to the testimonies of the vendors. The samples were stored in a refrigerator at 4-6°C in airtight plastic containers until analysis.

### Technical analysis

#### Determination of diastase activity

The diastase activity was measured using the Phadebas amylase test tablets purchased from (Megazyme) (Phadebas method), insoluble blue-dyed, cross-linked starch was used as the substrate for the degradation reaction (Sak-Bosnar and Sakac, 2012), according to the International Honey Commission (Bogdanov, 2002). This is hydrolysed by the enzyme, yielding blue water-soluble fragments, determined photometrically at 620 nm with molecular Devices Spectramax 340 Microplate Reader. The absorbance of the solution is directly proportional to the diastase activity of the sample. The diastase activity, expressed as DN or diastase number, was calculated from the absorbance measurements using Equations (1) and (2), respectively:

$$DN = (28.2 \cdot \Delta A_{620}) + 2.64 \quad (1)$$

$$DN = (35.2 \cdot \Delta A_{620}) - 0.46 \quad (2)$$



**Figure 1.** Geographical origins of Algerian honey samples.

For either high (8 to 40 diastase units) or low (up to 8 diastase units), respectively, Equations 1 and 2 are suggested by the International Honey Commission (Bogdanov, 2002). Diastase activity was referred to as diastase number (DN) in the Schade scale, which corresponds to the Gothe scale number, or to gram of starch hydrolysed per hour at 40°C per 100 g of honey.

#### **Determination of sugars**

Determination of sugars in honey was established in the current study by the use of a chromatographic system (HPLC SHIMADZU LC-20 AD) with RI detector (IOP) and Column chromatography apHera NH<sub>2</sub> 150 mm x 4.60 mm x 5 microns (or equivalent). Fructose, glucose and sucrose were measured, according to the analytical methods harmonized by the European Honey Commission (Bogdanov, 2002).

The chemical reagents used for HPLC analysis were acetonitrile and methanol (HPLC grade) from Sigma- Aldrich (Milan, Italy). The sugar standards used were fructose, glucose, sucrose of 99.5% purity from Sigma- Aldrich (Milan, Italy).

10.00 ± 0.01 g of honey was weighed in a beaker of 100 ml and dissolved with distilled water (40 ml) which was quantitatively transferred in graduated flask. After that, 25 ml of methanol was added to the solution and completed to 100 ml with distilled water. The solution was filtered with a nylon filter (0.45 µm), and the first 2 ml was discarded and further chromatographic analysis under the following operating conditions was done: Flow rate of 1.5 ml / min, injection volume of 20 µl, and detector temperature of 30 ± 1°C. The acquisition time was 10 min. Identification of the sugars was carried out by comparing the retention times of the peaks of the sample solution with that of the reference solution. The sugar concentration was calculated by comparing the peak area of the sample corresponding to the peak of the reference solution.

#### **Determination of HMF**

The method determines the concentration of 5-(hydroxymethyl)-furan-2-carbaldehyde (HMF) (Fallico et al., 2004). The determination of HMF was carried out in solutions of honey samples (5.00 ± 0.01 g of honey) and diluted to 50 ml with distilled water, filtered on 0.45 µm filter and injected into an HPLC (HPLC SHIMADZU LC-20 AD) equipped with: pump UV detector, auto sampler, column thermostating system, data acquisition and processing system. The HPLC was chromatography on reverse phase column with dimensions of 150 x 3 mm, packed with octadecylsilane (C18), containing particles of a diameter of 2.7 microns. The HPLC conditions were the following: isocratic elution with 85% water and 15% methyl alcohol. All the solvents were of HPLC grade (Sigma-Aldrich). The column was thermostated at 34°C; at flow rate of 1.0 ml / min and injection volume of 4 µl. The wavelength range was 285 nm, and acquisition time was 3 min. HMF was identified from the peak in honey with a standard HMF from Sigma-Aldrich (Milan, Italy), and by comparison of the spectra of the HMF standard with that of one honey samples. The amount of HMF was determined using an external calibration curve, measuring the signal at λ=285 nm.

#### **Analysis of residues**

The quantitative analysis of residues of streptomycin was performed with HPLC technique according to Albino et al. (2005). Sample (5 g) was mixed with 20 ml of extracting solution (sodium heptasulphonate (0.05 M) and sodium hydrogen phosphate (0.08 M, pH=2). The solution was then vortexed for 30 min and centrifuged for 10 min. Streptomycin was eluted with methanol and evaporated by a Rota vapor (60°C, 250 mbar). The residues were recovered with 1 ml of sodium dodecylsulfate (70 mM). The mixture

was vortexed and then put in ultrasonic bath for 5 min (Gallina et al., 2005; Baggio et al., 2009). Streptomycin was detected and quantified by the external standard calibration. HPLC analyses were performed, using post-column derivatization, performed in 1 ml of reaction coil placed in a column heater (55°C), and fluorimetric detection system (SHIMADZU 20 AD HPLC) with fluorescence detection (SHIMADZU, Japan) and chromatographic column Alltech (Alltech, Italia) C18 Platinum 5  $\mu$ m 250 mm x 4.60 mm. After filtration, a 100 ml aliquot of residue solution was injected into the chromatographic system. The streptomycin was analyzed at 1 ml/min of flow with an isocratic elution of mobile phase 40% of sodium dodecyl sulfate (0.1 M) + sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate (0.5 mM) and 60% of acetonitrile for 15 min. Post-column, a sodium hydroxide solution 0.2 M was added (0.4 ml/min) in flow. Excitation and emission wavelengths of 263 and 435 nm, respectively, were used to detect the streptomycin. Samples quantification was performed using the external standards. This approach allows determining the streptomycin in honey in the range of concentrations ranging from 5 to 200 ng/kg. The positive results were confirmed by co-chromatographic method according to Decision 657/2002/CE.

This method allows the determination of tetracyclines (tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline and doxycycline) in honey in the range of concentrations ranging from 3 to 30 ng/g. A honey sample (5 g) was dissolved with 25 ml extraction buffer (succinic acid 0.1 M, pH 4). The sample solution was vortexed and then centrifuged for 10 min at 4000 g. The supernatant layer was recovered and purged in a metal-chelating affinity column (MCAC) cartridge. Tetracyclines were eluted with McIlvaine EDTA solution (citric acid, disodium hydrogen phosphate, EDTA and sodium chloride). The MCAC cartridge was prepared by fulfilling with chelating sepharose fast-flow resin (1.5 ml) and conditioned with copper sulfide solution (0.01 M), the quantitative analysis of any residues of tetracycline was performed with HPLC-MS technique according to Gallina et al. (2005), Cristofani et al. (2009) and Baggio et al. (2009) with some modification, using HPLC SHIMADZU coupled to LCMS-2010 EV rivelatore and chromatographic column C18MS (100 mm x 2,1) 5  $\mu$ m X TERRA (Waters). The flow rate was 0.6 ml/min; Injection volume was 20  $\mu$ l, at room temperature with a gradient for elution of mobile phase consisting of 0.5% formic acid + methanol + acetonitrile (50/50). The wavelength used to detect the TCs was 365 nm. The positive results were confirmed by co-chromatographic method according to Decision 657/2002/CE.

The standard solutions were obtained by Sigma-Aldrich. The solvents used were HPLC grade (99.9%) and the other chemicals were all of analytical grade from Sigma-Aldrich (Milan, Italy). Before being applied for HPLC analyses, all solutions were filtered by micro-filter (4.5  $\mu$ m).

### Statistical analyses

Physic-chemical results were compared with International Regulatory Standards. Means, standard deviations and the correlation coefficient (HMF-Diastase index) were calculated by using the software (Statistica version 10).

## RESULTS AND DISCUSSION

The physicochemical analyses carried out on Algerian honey showed that 56% of samples met Codex standards and 44% did not, because a part of them have

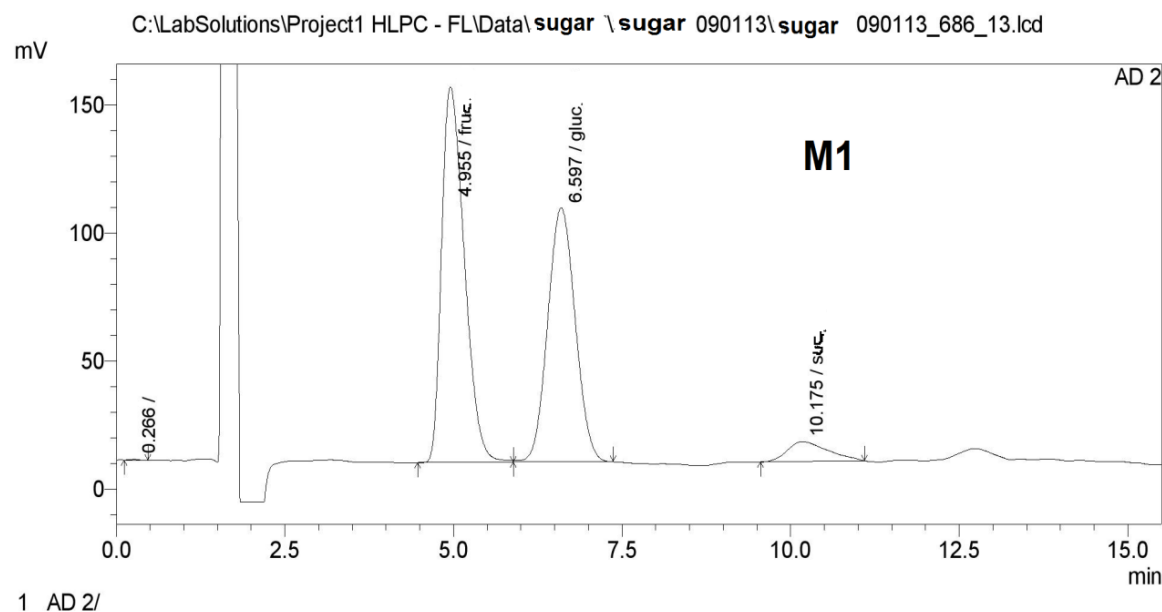
one or more defects (Table 1). The latter was due to the high rates of hydroxyl-methyl furfural, sucrose and also to the low enzyme level.

The HMF for the 36 honey samples analyzed in the present work ranged from 0.170 to 571.9 mg/kg and revealed that 26 of them (72%) had levels below the limits of HMF Codex acceptable standard ( $\leq 40$  mg/kg) according to Codex Alimentarius (2001) and Council Directive of EU (2002), indicating the use of good practices by beekeepers. Eleven (11%) had a rate of HMF between 40 and 80 mg/kg and showed inadequate HMF content. According to White (1992), honey samples from subtropical countries may have naturally high HMF values regardless of the fact that the honey was not overheated or adulterated, due to high temperatures (Silva et al., 2013). However, nine samples were considered of unacceptable quality with very high values of HMF. These values relate to samples M5, M19, M27, M29, M34, and M36 and can be explained by inadequate treatment of these honeys probably overheating (Singh and Bath, 1998; Kubis and Ingr, 1998; Zappalà et al., 2005; Zerrouk et al., 2011), poor storage conditions and old honey (Khalil et al., 2010). Besides that, it is reported that extremely high  $>500$  mg/kg HMF values demonstrate an adulteration with invert syrup (Coco et al., 1996; Popa et al., 2009; Ajlouni and Sujirapinyokul, 2010), also it is reported that the use of high fructose corn syrup as sweetener can lead to high HMF content reaching 100-1000 mg/kg (Makawi et al., 2009). Thus, there is a very high possibility that the honeys bought from the open-air markets are adulterated, since their HMF values are higher than 500 mg/kg.

These studies have yielded similar results to previous results (Bendeddouche and Dahmani, 2011; Zerrouk et al., 2013; Ouchemoukh et al., 2007). Jilani et al. (2008) reported for Tunisian multifloral honeys HMF values which also showed heat influence (HMF ranged between 3.0-39.6 mg/kg). In Morocco, Chakir et al. (2011) have obtained values of HMF limited between 0.09 and 53.38 mg/kg, but four honey samples contained a high HMF value which included between 90.76 and 783 mg/kg. The hot Algerian climate may also be the origin of this phenomenon as similar heat damage was also observed in the mean diastase number (Makhloufi et al., 2010). However, it is essential to quantify this component in order to check on product quality (Marchini et al., 2007), because HMF is a compound that may be mutagenic (Sommer et al., 2003; Glatt et al., 2005). Furthermore, it may also be carcinogenic (Kowalski et al., 2013) and cytotoxic (Islam et al., 2014).

Diastase is a natural enzyme of honey. The diastase activity measured the combined activities of both  $\alpha$ -amylases and  $\beta$ -amylases which were secreted from bee salivary (Vit and Pulcini, 1996; Chua et al., 2014). Enzyme activity in honey depends on the intensity of the

## &lt;Chromatogram&gt;



## Quantitative Results

| detector |                 |           |         |        |       |
|----------|-----------------|-----------|---------|--------|-------|
| ID#      | Name            | Ret. Time | Area    | Height | Conc. |
| 1        | Fructose (Fruc) | 4.955     | 3433078 | 146574 | 0.000 |
| 2        | Glucose (Gluc)  | 6.597     | 2815284 | 99243  | 0.000 |
| 3        | Sucrose(Suc)    | 10.175    | 324092  | 7793   | 0.000 |

**Figure 2.** Sugar chromatograms of some Algerian honey (example of sample M 1).

nectar flow and the amount of nectar the bee processes in each period (Escuredo et al., 2011). In addition, the diastase activity and the diastase content varies according to floral source (White et al., 1962). Diastase and invertase activities are commonly used in Europe as an indicator for honey freshness (Manzanares et al., 2011). This is because the enzyme activities decrease in heated or old honey.

Nine samples (M5, M6, M16, M19, M21, M27, M29, M34 and M36) have a lower diastase index than the minimum standard value (superior than 8) from 00 - 45.30; the scale with an average value of  $17.58 \pm 12.27$ . The result can be due to either, overheating by beekeeper, or to the natural poor levels of amylase in the sample because the diastase activities in honey vary in wide limits depending on botanical origin of honey (Persano-Oddo et al., 1990) and thus, have a limited freshness indicating power; HMF is regarded as better quality criterion in this respect (Buba et al., 2013). Both HMF and diastase activity are the international parameters used to control the limit for thermal treatment to honey (Chua and Adnan, 2014). The correlation test between HMF content and diastase activity showed

strong negative correlation ( $r = -0.605436$ ). This confirms that, those two parameters are inversely proportionate to each other.

Glucose and fructose are the main sugars in honey and their actual proportion depends largely on the source of the nectar (Anklam, 1998). The sugars of honey were determined by HPLC and an example of chromatogram is presented in Figure 2. The results of the sugar analysis of all the 36 honey samples (Table 1) show that the fructose contents varied between 29.33 and 42.39% with an average of  $37.61 \pm 3.11\%$ . The glucose contents of the samples were within a range of 25.38 -37.65% with a mean value of  $31.88 \pm 3.39\%$ . In our study, 85.5% of the honey samples analyzed had fructose as the dominating sugar. In respect to reducing sugars (fructose and glucose), the EC Directive 2001/110 imposes reducing sugars  $\geq 60$  g/100 g, except for honeydew honey, which is  $\geq 45$  g/100 g. The reducing sugar contents varied between 60.18 and 79.29 g/100 g with an average of  $69.50 \pm 4.40$  g/100 g. Our results met this standard and are similar to other published levels for reducing sugars. Furthermore, the reducing sugar content of the honey tested was similar with the findings of other previously

**Table 1.** Results of physicochemical analysis of 36 samples (Mean values  $\pm$  standard deviations).

| Sample | ID (Gothe scale)  | HMF (ppm)         | Sucrose (%)      | Fructose (%)      | Glucose (%)       | Reducing sugar (%) | G/F ratio        |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| M1     | 17.1 $\pm$ 0.32   | 12.4 $\pm$ 0.54   | 3.4 $\pm$ 0.15   | 38.72 $\pm$ 0.53  | 32.47 $\pm$ 0.25  | 71.49 $\pm$ 0.007  | 1.19 $\pm$ 0.006 |
| M2     | 20.81 $\pm$ 0.02  | 5.6 $\pm$ 0.04    | 2.09 $\pm$ 0.09  | 42.00 $\pm$ 0.16  | 27.15 $\pm$ 0.27  | 69.18 $\pm$ 0.02   | 1.54 $\pm$ 0.01  |
| M3     | 25.57 $\pm$ 0.54  | 13.9 $\pm$ 0.15   | 2.99 $\pm$ 0.01  | 38.79 $\pm$ 0.24  | 32.82 $\pm$ 0.28  | 71.61 $\pm$ 0.01   | 1.18 $\pm$ 0.001 |
| M4     | 12.95 $\pm$ 0.32  | 30.9 $\pm$ 0.97   | 2.50 $\pm$ 0.61  | 38.78 $\pm$ 0.28  | 32.34 $\pm$ 0.96  | 71.11 $\pm$ 0.02   | 1.20 $\pm$ 0.02  |
| M5     | 0.091 $\pm$ 0.009 | 571.9 $\pm$ 0.94  | 5.91 $\pm$ 0.05  | 34.17 $\pm$ 0.27  | 36.89 $\pm$ 0.16  | 71.08 $\pm$ 0.02   | 0.92 $\pm$ 0.002 |
| M6     | 6.46 $\pm$ 0.06   | 73.5 $\pm$ 0.1    | 1.20 $\pm$ 0.08  | 40.43 $\pm$ 0.44  | 34.60 $\pm$ 0.13  | 75.02 $\pm$ 0.02   | 1.16 $\pm$ 0.004 |
| M7     | 27.50 $\pm$ 0.39  | 10.4 $\pm$ 0.39   | 2.71 $\pm$ 0.11  | 38.07 $\pm$ 0.38  | 32.20 $\pm$ 0.31  | 70.29 $\pm$ 0.01   | 1.18 $\pm$ 0.01  |
| M8     | 31.25 $\pm$ 0.35  | 9.7 $\pm$ 0.25    | 2.47 $\pm$ 0.02  | 38.63 $\pm$ 0.009 | 32.36 $\pm$ 0.08  | 70.97 $\pm$ 0.04   | 1.19 $\pm$ 0.005 |
| M9     | 24.6 $\pm$ 0.1    | 5.1 $\pm$ 0.05    | 2.72 $\pm$ 0.18  | 37.14 $\pm$ 0.37  | 33.88 $\pm$ 3.23  | 72.07 $\pm$ 3.92   | 1.1 $\pm$ 0.09   |
| M10    | 14.15 $\pm$ 0.49  | 78.8 $\pm$ 0.06   | 3.67 $\pm$ 0.02  | 37.82 $\pm$ 5.19  | 30.71 $\pm$ 0.64  | 74.52 $\pm$ 0.02   | 1.23 $\pm$ 0.13  |
| M11    | 40.24 $\pm$ 0.23  | 0.1 $\pm$ 0.008   | 11.89 $\pm$ 0.04 | 34.78 $\pm$ 0.22  | 25.54 $\pm$ 0.29  | 60.18 $\pm$ 0.02   | 1.36 $\pm$ 0.009 |
| M12    | 18.25 $\pm$ 0.05  | 40.3 $\pm$ 0.13   | 2.44 $\pm$ 0.08  | 37.93 $\pm$ 0.14  | 32.72 $\pm$ 0.08  | 70.63 $\pm$ 0.04   | 1.15 $\pm$ 0.00  |
| M13    | 22.57 $\pm$ 0.04  | 18.2 $\pm$ 0.05   | 5.63 $\pm$ 0.25  | 38.14 $\pm$ 0.68  | 31.16 $\pm$ 0.12  | 69.31 $\pm$ 0.01   | 1.22 $\pm$ 0.01  |
| M14    | 36.651 $\pm$ 0.47 | 21.5 $\pm$ 0.5    | 2.92 $\pm$ 0.17  | 38.25 $\pm$ 0.09  | 31.36 $\pm$ 0.11  | 66.61 $\pm$ 4.26   | 1.21 $\pm$ 0.001 |
| M15    | 33.17 $\pm$ 0.23  | 1.2 $\pm$ 0.2     | 5.51 $\pm$ 0.04  | 37.65 $\pm$ 0.49  | 25.38 $\pm$ 0.06  | 63.01 $\pm$ 0.02   | 1.48 $\pm$ 0.008 |
| M16    | 4.36 $\pm$ 0.15   | 41.6 $\pm$ 0.07   | 2.02 $\pm$ 0.76  | 37.39 $\pm$ 0.27  | 31.00 $\pm$ 0.31  | 68.09 $\pm$ 0.007  | 1.20 $\pm$ 0.004 |
| M17    | 27.51 $\pm$ 0.64  | 10.7 $\pm$ 0.25   | 2.22 $\pm$ 0.19  | 40.68 $\pm$ 0.39  | 30.06 $\pm$ 0.08  | 71.04 $\pm$ 0.05   | 1.35 $\pm$ 0.006 |
| M18    | 26.54 $\pm$ 0.66  | 5.6 $\pm$ 0.12    | 2.19 $\pm$ 1.18  | 37.98 $\pm$ 0.23  | 30.36 $\pm$ 0.07  | 68.32 $\pm$ 0.03   | 1.25 $\pm$ 0.006 |
| M19    | 5.52 $\pm$ 0.072  | 554.6 $\pm$ 0.2   | 2.72 $\pm$ 0.14  | 37.39 $\pm$ 0.12  | 36.44 $\pm$ 0.21  | 73.81 $\pm$ 0.02   | 1.02 $\pm$ 0.001 |
| M20    | 26.73 $\pm$ 0.05  | 0.6 $\pm$ 0.05    | 5.00 $\pm$ 0.01  | 36.65 $\pm$ 0.067 | 29.56 $\pm$ 0.99  | 66.21 $\pm$ 0.01   | 1.24 $\pm$ 0.02  |
| M21    | 4.59 $\pm$ 0.17   | 7,81 $\pm$ 0.06   | 3.70 $\pm$ 0.24  | 37.88 $\pm$ 0.017 | 29.37 $\pm$ 0.04  | 67.22 $\pm$ 0.03   | 1.28 $\pm$ 0.00  |
| M22    | 9.25 $\pm$ 0.50   | 29,7 $\pm$ 0.08   | 1.57 $\pm$ 0.14  | 42.39 $\pm$ 2.35  | 36.89 $\pm$ 0.42  | 79.29 $\pm$ 0.007  | 1.14 $\pm$ 0.04  |
| M23    | 8.88 $\pm$ 0.06   | 21,8 $\pm$ 0.16   | 2.68 $\pm$ 0.14  | 37.55 $\pm$ 0.04  | 32.28 $\pm$ 0.04  | 69.82 $\pm$ 0.03   | 1.16 $\pm$ 0.00  |
| M24    | 14.33 $\pm$ 0.16  | 11,6 $\pm$ 0.18   | 1.20 $\pm$ 0.23  | 40.93 $\pm$ 0.05  | 32.64 $\pm$ 0.04  | 73.54 $\pm$ 0.05   | 1.25 $\pm$ 0.001 |
| M25    | 33.4 $\pm$ 0.2    | 21,5 $\pm$ 0.22   | 3.91 $\pm$ 0.17  | 37.37 $\pm$ 0.50  | 30.80 $\pm$ 0.93  | 68.18 $\pm$ 0.02   | 1.21 $\pm$ 0.01  |
| M26    | 45.3 $\pm$ 10.78  | 1,12 $\pm$ 0.16   | 6.27 $\pm$ 0.10  | 39.41 $\pm$ 0.48  | 26.48 $\pm$ 0.26  | 65.90 $\pm$ 0.007  | 1.48 $\pm$ 0.002 |
| M27    | 00                | 303,5 $\pm$ 0.45  | 14.93 $\pm$ 0.28 | 29.33 $\pm$ 0.02  | 31.98 $\pm$ 0.07  | 61.36 $\pm$ 0.05   | 0.91 $\pm$ 0.001 |
| M28    | 10.72 $\pm$ 1.94  | 5,7 $\pm$ 0.05    | 5.90 $\pm$ 0.32  | 31.94 $\pm$ 0.01  | 30.71 $\pm$ 0.06  | 62.43 $\pm$ 0.3    | 1.04 $\pm$ 0.001 |
| M29    | 0.86 $\pm$ 0.02   | 263,4 $\pm$ 0.06  | 12.39 $\pm$ 0.25 | 31.22 $\pm$ 0.15  | 31.67 $\pm$ 0.12  | 62.74 $\pm$ 0.2    | 0.98 $\pm$ 0.000 |
| M30    | 15.80 $\pm$ 0.29  | 28,8 $\pm$ 0.85   | 2.98 $\pm$ 0.11  | 36.23 $\pm$ 0.01  | 29.56 $\pm$ 0.10  | 65.78 $\pm$ 0.02   | 1.22 $\pm$ 0.001 |
| M31    | 10.85 $\pm$ 0.22  | 8,3 $\pm$ 0.05    | 4.00 $\pm$ 0.17  | 36.21 $\pm$ 2.99  | 30.91 $\pm$ 0.58  | 68.66 $\pm$ 0.65   | 1.17 $\pm$ 0.07  |
| M32    | 14.87 $\pm$ 0.17  | 16,8 $\pm$ 0.09   | 2.49 $\pm$ 0.16  | 36.61 $\pm$ 0.02  | 28.05 $\pm$ 0.21  | 64.88 $\pm$ 0.31   | 1.30 $\pm$ 0.006 |
| M33    | 22.18 $\pm$ 0.65  | 15,2 $\pm$ 0.05   | 7.11 $\pm$ 0.78  | 38.40 $\pm$ 1.34  | 31.17 $\pm$ 0.12  | 69.59 $\pm$ 0.01   | 1.23 $\pm$ 0.02  |
| M34    | 0.11 $\pm$ 0.005  | 514,3 $\pm$ 0.26  | 6.02 $\pm$ 0.24  | 33.69 $\pm$ 0.79  | 37.079 $\pm$ 0.03 | 70.79 $\pm$ 0.01   | 0.90 $\pm$ 0.01  |
| M35    | 14.97 $\pm$ 0.22  | 18,5 $\pm$ 0.16   | 2.51 $\pm$ 0.18  | 41.99 $\pm$ 0.13  | 31.68 $\pm$ 0.36  | 73.68 $\pm$ 0.02   | 1.32 $\pm$ 0.007 |
| M36    | 0.12 $\pm$ 0.10   | 517,03 $\pm$ 0.05 | 6.30 $\pm$ 0.14  | 33.33 $\pm$ 0.06  | 37.65 $\pm$ 0.00  | 71 $\pm$ 0.00      | 0.88 $\pm$ 0.001 |
| Min    | 00                | 0.170             | 1,20             | 29.33             | 25.38             | 60.18              | 0.88             |
| Max    | 45.3              | 571.9             | 14.93            | 42.39             | 37.65             | 79.29              | 1.54             |

**Limits of international standards (Codex, EU)**

|          |    |          |                |                |           |                |
|----------|----|----------|----------------|----------------|-----------|----------------|
| $\geq 8$ | 40 | $\leq 5$ | No fixed limit | No fixed limit | $\geq 60$ | No fixed limit |
|----------|----|----------|----------------|----------------|-----------|----------------|

studied Algerian honeys (Ouchemoukh et al., 2007; Khalil et al., 2012).

The fructose/glucose ratio ranged between 0.88 and 1.54 with an average of  $1.19 \pm 0.15$ , indicating their floral origin because it is known that flower honeys have a

fructose/glucose ratio of about 1 while in honeydew honeys the ratio ranges between 1.5 and 2.0 (Gleiter et al., 2006; Kivima et al., 2014).

In addition, the fructose/glucose ratio was calculated for all the 36 honey samples. This ratio tells about the

**Table 2.** Results of antibacterial substances.

| Parameter                 | Number of samples | Results                     | Limits of international standards (Codex) |
|---------------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------------------------------|
| Search of Tetracycline    | 34                | No residues of tetracyclin  | No fixed limit                            |
| Search of oxytetracycline | 2                 | 0.03 ppb                    | No fixed limit                            |
| Search of Streptomycin    | 36                | No residues of streptomycin | No fixed limit                            |

crystallization state of honey, that is, when fructose is higher than glucose the honey is fluid (Ouchemoukh et al., 2010). Eventually, 30 examined Algerian honey samples were fluid (ratio great than 1).

The sucrose content of the honey samples analyzed in this study varied between 1.18 - 14.9 g/100 g with an average value of  $4.55 \pm 0.12$ . However 11 samples are not in conformity with international standard ( $\leq 5$  g/100 g). The high content of this sugar means most of the time, an early harvest of the honey, that is, a product in which the sucrose has not been fully transformed into glucose and fructose by the action of invertase. This value indicates probably that the beekeeper use sucrose syrup to over feeding the bees in the winter season (Chefrour et al., 2009).

Honey is generally considered a natural and healthy food without additives or other foreign substances according to Directive 2001/110/CE. However, in the last decade the results of residue analyses carried out on presently marketed honey have changed the situation revealing what was known by many (Bogdanov, 2006).

The aim of this study was to clarify the situation concerning antibiotic residues in some Algerian honey (Table 2). Analysis performed by the laboratory to detect residues of tetracycline by LC/MS and streptomycin by HPLC in honey have revealed only insignificant traces of oxytetracycline (Figure 3a & b) in two samples of honey (0.03 ppb). All the other samples were negative for both antibiotics (Table 2, Figure 3).

Accordingly, in Europe a lack of harmonization among different countries on this matter is registered. For instance, in Belgium the action limit for antibacterial substances is fixed at 20 ng/ g. In Switzerland and the UK, the action limit applied for tetracycline (TCs) is 20 ng/g, respectively (Bogdanov, 2006; Baggio et al., 2009). Given the absence of maximum residue limits (MRLs) set for honey, the detection threshold was considered the threshold of positivity: 3 - 30 ng/g for tetracycline and from 5 - 200 ng/kg for streptomycin. Antibiotics are used in apiculture as anti-bacterial foulbrood diseases, like American Foulbrood (AFB).

Antimicrobial drugs are effective against foulbrood diseases; however, antibiotic drug residues in honey pose a potential risk to human health. These antibiotic residues have toxic acute and chronic effects on human

health and also reduce the efficacy and quality of honey (Zai et al., 2013; Ajibola et al., 2012). On the other hand, to protect the image of honey as a healthy natural product, these bactericides are banned from honey (Michel et al., 2004).

## Conclusions

Thirty six Algerian honey samples were investigated for their physicochemical properties and research of streptomycin and tetracycline antibiotics. The study assessed the quality of honey samples analysed. In this study only 56% of samples were in agreement with the requirements of European Union and Codex Alimentarius Standards, while about 44% of them did not fit within European and Codex standards relative to the sucrose content, diastase activity and HMF reflecting inadequate sample manufacture and/or storage and adulteration. On the other hand, it was also concluded from this study that streptomycin and tetracycline were not used by the Algerian beekeepers for curing bacterial honeybee diseases.

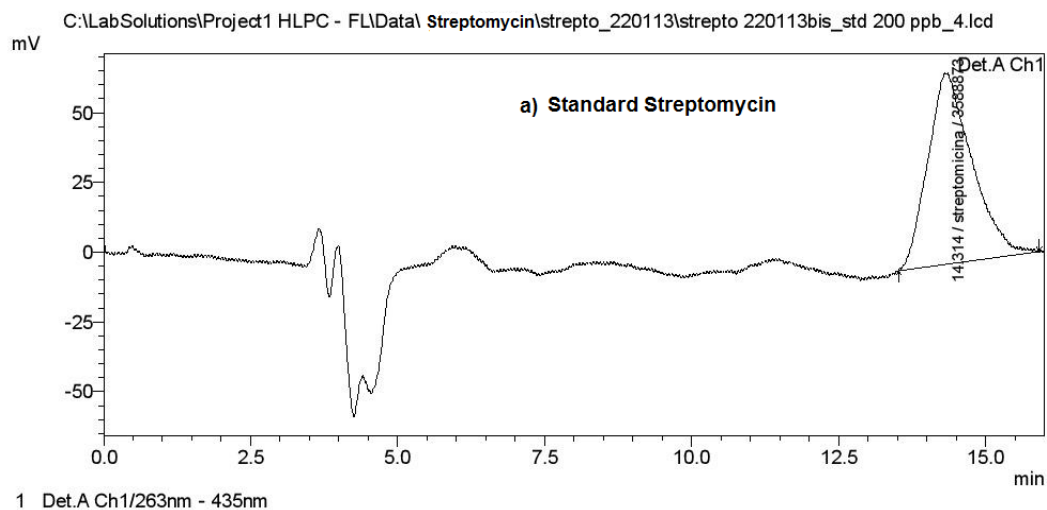
According to the results some consideration may be given to Algerian beekeepers:

- (i) It will be necessary to create more effective extension service to improve the beekeepers knowledge on honey harvesting techniques, honey processing and storage technologies.
- (ii) Also, there is the need to increase the educational activity addressed to the beekeepers about taking care of Algerian honey production with special reference to physico-chemical characteristics, and have more responsibility for the quality of honey to be placed on the market with the appropriate label comprising the floral origin and chemical composition of honey.
- (iii) There is the need to use reliable methods of control in order to ensure the conformity of honey product to avoid any risk of falsification and adulteration of Algerian honeys.

Moreover, a good knowledge of the Algerian product would provide the scientific support for the introduction of a national norm for honey.



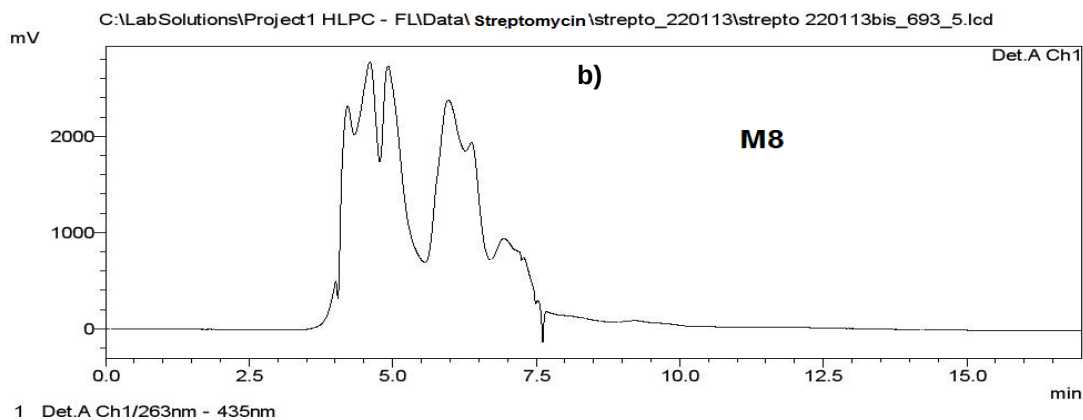
## &lt;Chromatogram&gt;



## Quantitative Results

| ID# | Name         | Ret. Time | Area    | Height | Conc.   |
|-----|--------------|-----------|---------|--------|---------|
| 1   | Streptomycin | 14.314    | 3588873 | 68584  | 280.276 |

## &lt;Chromatogram&gt;



## Quantitative Results

| ID# | Name         | Ret. Time | Area | Height | Conc. |
|-----|--------------|-----------|------|--------|-------|
| 1   | Streptomycin | 0.000     | 0    | 0      | 0.000 |

**Figure 3.** Chromatograms of Streptomycin by HPLC in Algerian honey (a) standard of streptomycin. (b) Example of an Algerian honey exempt of streptomycin.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work received financial support from the Algerian Ministry of High Education and Scientific Research and the University of Mohamed Cherif Messaadia -Souk ahras. The authors wish to thank the Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy for the collaboration.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

Ajibola AW, Joseph PC, Kennedy HE (2012). Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. J.

- Nutr. Metab. 61(9): 1743-7075.
- Ajlouni S, Sujirapinyokul P (2010). Hydroxymethyl furfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chem.* 119(3):1000-1005.
- Albino G, Cristiana B, Biancotto G, Baggio A, Dainese N, Manzinello C, Mutinelli F (2005). Antibiotic residue in honey: alidation procedure. Honey analytical methods validation. *Apiacta*. 40:45-49.
- Anklam E (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem.* 63: 549-562.
- Baggio A, Gallina A, Benetti C, Mutinelli F (2009). Residues of antibacterial drugs in honey from the Italian market. *Food Additives and Contaminants: Part B*. 2(1):52-58.
- Ball WD (2007). The chemical composition of honey. *J. Chem. Edu.* 84:1643.
- Bendeddouche B, Dahmani K (2011). Physical properties of honey products in Algeria. *J. Stored Prod. Postharvest Res.* 2:237-244.
- Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, Piacentini MP, Albertini MC, Piatt E (2006). Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem.* 97: 217-222.
- Bogdanov S (2002). Harmonised Methods of the International Honey Commission. International Honey Commission, 1-62 pp.
- Bogdanov S (2006). Contaminants of bee product. *Apidologie* 37: 1-18.
- Buba F, Gidado A, Shugaba A (2013). Physicochemical and Microbiological Properties of Honey from North East Nigeria. *Biochem Anal. Biochem.* 2(142):1-7.
- Cara CM, Dumitrel GA, Glevitzky M, Perju D (2012). Stability of tetracycline residues in honey. *J. Serb. Chem. Soc.* 77:879-886.
- Chakir A, Romane A, Marcazzan GL, Ferrazzi P (2011). Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. *Arabian J. Chem.* doi:10.1016/j.arabc.2011.10.013
- Chefrou A, Draiaia R, Tahar A, Ait Kaki Y, Bennadja S, Battesti M J (2009). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some North-east Algerian honeys. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.* 9:1276-1293.
- Chua LS, Adnan NA, Abdul-Rahaman NL, Sarmidi MR (2014). Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. *Inter. Food Res. J.* 21(2):773-778.
- Chua LS, Adnan NA (2014). Biochemical and nutritional components of selected honey samples. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 13(2):169-179.
- Coco FL, Valentini C, Novelli V, Ceccon L (1996). High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey. *J. Chromatogr. A.* 95-102.
- Codex Alimentarius. Commission Standards, Codex Standards for Honey, (1981/ revised 1987/revised 2001) (2001). FAO-Rome. pp. 1-7.
- Council Directive of the European Union. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey (2002). Official J. Eur. Commun. L10:47-52.
- Cristofani E, Antonini C, Tovo GR, Fioroni L, Piersanti A, Galarini R (2009). A confirmatory method for the determination of tetracyclines in muscle using high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *Analytica Chimica Acta.* 637:40-46.
- Escuredo O, Seijo MC, Fernandez-Gonzalez M (2011). Descriptive analysis of *Rubus* honey from the north-west of Spain. *Int. J. Food Sci. Tech.* 46:2329-2336.
- Fallico B, Zappala M, Arena E, Verzera A (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chem.* 85: 305-313.
- Glatt H, Schneider H, Liu Y (2005). V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. *Mutation Res.* 580:41-52.
- Islam MN, Khalil MI, Asiful MI, Gan SH (2014). Toxic compounds in honey. *J. Appl. Toxicol.* 34: 733-742.
- Jilani IBH, Schweizer P, Khouja ML, Zouaghi M, Ghrabi Z (2008). Physicochemical spectra of honeys produced in Tunisia (Southwest of Kef). *Apiacta* 43:38-48.
- Kebede N, Subramanian PA, Gebrekidan M (2012). Physico-chemical analysis of Tigray honey: An attempt to determine major quality markers of honey. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 26: 127-133.
- Khalil MI, Moniruzzaman M, Boukraâ L, Benhanifia M, Asiful MI, Nazmul IM, Amrah SS, Siew Gan H (2012). Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules.* 17(9): 11199-11215.
- Khalil MI, Sulaiman SA, Gan S H (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food Chem. Toxicol.* 48: 2388-2392.
- Kivima E, Seimanb A, Palla R, Sarapuu E, Martverka K, Laos K (2014). Characterization of Estonian honeys by botanical origin. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences.* 63(2): 183-192.
- Kowalski S, Lukasiewicz M, Aleksandra DC, Gabriela Z (2013). 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) – Heat-Induced Formation, Occurrence in Food and Biotransformation – a Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 63: 207-225.
- Kubis I, Ingr I (1998). Effects inducing changes in hydroxymethylfurfural content in honey. *Czech J Animal Sci.* 43: 379-383.
- Kwapong PK, Ilechie AA, Kusi R (2013). Comparative antibacterial activity of stingless bee honey and standard antibiotics against common eye pathogens. *J. Microbiol. Biotechnol. Res.* 3: 9-15.
- Makawi SZA, Taha MI, Zakaria BA, Siddig B, Mahmod H, Elhussein AR, Elrasheed AGK (2009). Identification and Quantification of 5-Hydroxymethyl Furfural HMF in Some Sugar-Containing Food Products by HPLC. *Pak. J. Nutr.* 8:1391-1396.
- Makhloufi C, Kerkvliet JD, D'albore RG, Choukri A, Samar R (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.
- Manzanares AB, Garcia ZH, Galdon BR, Rodriguez ER, Romero CD (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chem.* 126:664-672.
- Marchini LC, Moreti ACCC, Ivani PO, Sodré GS (2007). Physicochemical composition of *Apis mellifera* honey samples from São Paulo State, Brazil. *Quim. Nova.* 30: 1653-1657.
- Michel VB, Stef JMO, Klaas MJ, Enne DB (2004). Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. of chromatography A*, 1058: 137-142.
- Ouchemoukh S, Louaileche H, Schweitzer P (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Cont.* 18: 52-58.
- Ouchemoukh S, Schweitzer P, Bey MB, Djoudad-Kadji, H, Louaileche H (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food Chem.* 121:561-568.
- Oudjet k (2012). Le miel: une denrée a promouvoir .Infos-CACQE 00:1-3.
- Persano-Oddo L, Baldi E, Accorti M (1990). Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie* 21:17-24.
- Popa M, Roxana B, Simona V, Mirel G, Elena B (2009). Study regarding the quality of honey-changes in hydroxymethylfurfuraldehyde (HMF) content of honey from Transylvania (Romania). *Annals. Food Sci. Technol.* 10:506-509.
- Sahinler N, Sahinler S, Gul A (2004). Biochemical Composite ion of Honeys Produced in Turkey. *J. Apic. Res.* 43:53-56.
- Sak-Bosnar M, Sakac N (2012). Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chem.* 135: 827-831.
- Saxena S, Gautam S, Sharma A (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem.* 118:391-397.
- Silva ADS, Alves CN, Fernandes KDG, Müller RCS (2013). Classification of honeys from Pará State (Amazon region, Brazil) produced by three different species of bees. *J. Braz. Chem. Soc.* 24:1135-1145.
- Singh N, Bath PK (1998). Relationship between heating and Singh MP, Hemant RC, Manish A, AKHIL M, Mukesh S, Deepak S, Sheeba K (2012). Honey as complementary medicine: - A review. *Int. J. Pharma Biol. Sci.* 3:12-31.



- hydroxymethylfurfural formation in different honey types. *J. Food Sci. Technol.* 35: 154-156.
- Sommer Y, Hollnagel H, Schneider H, Glatt H (2003). Metabolism of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) to the mutagen 5-sulfoxymethyl-2-furfural (SMF) by individual sulfotransferases. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 367: 166.
- Vit P, Pulcini P (1996). Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honeys from Venezuela. *J. Apicul. Res.* 35 (2): 57-62.
- White JW (1992). Quality Evaluation of Honey. Role of HMF and Diastase Assay. *Am. Bee J.* 132: 737-743, 792-794.
- White JW, Riethof M, Subers M, Kushmir I (1962). Composition of American honey. *USDA Technol. Bull.* 1261:1-124.
- Zai I U M, Khaliqur R, Arshad H, Shafqatullah (2013). Detection and quantification of residues in honey samples by chromatographic Tech. *Middle-East J. of scientific Research.* 14: 683-687.
- 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 J. Agric. Sci.* 12 (3): 511-517.