

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Bioprocédés et Technologie Alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet de la liquéfaction par
sonication sur la qualité du miel
cristallisé**

Présenté par :

Mme FETTIOUNE Kahina née BOURIHANE
&
Mlle DRIS Sarah

Soutenu le : **13 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M. CHIKHOUNE A.	MCB	President
M. BACHIR BEY M.	MAA	Encadreur
Mme TAFININE Z.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail:

A mon très cher mari Abdelhak , en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir soutenu et surtout compris en permanence, ces encouragements, sa fidélité , sa gentillesse ,merci NANOU.

A mes très chers parents, sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et surtout leur disponibilité.

A mes grands-mères Zahra et Zohra

A ma chère sœur Amel et mon cher frère Haçan et sa femme

A mes beaux parents Sghir et fatiha

A mon beau frère Tarik et mes belles sœurs Safia, Nassiha et Dalila

A mes très chères amies : Sabrina, Hayet et Sihem

Kahina

Dédicace

*Je dédie ce travail, avant tout, à mes très chers parents,
merci pour votre dévouement et votre soutien permanent.*

A ma Grand-Mère .

A mes chers frères , à mon neveu Naël et mes nièces Celia et Insaf

A la famille Bouhloul qui m'a accueilli dans son foyer.

A ma cousine Bariza et son mari.

*A mes amis et toutes les personnes qui m'ont aidé et soutenu de près
ou de loin pour préparer ce travail*

*Je n'oublie pas M.Bouchebbah , une personne très chère pour moi,
actuellement absente.*

A tous ceux qui me sont chers, là où ils pourraient se trouver.

Sarah

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la patience et nous a guidés à réaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont directement à notre encadreur Dr Bachir Bey Mostapha, pour sa simplicité, sa collaboration, sa disponibilité, ses précieux conseils et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaires à la réalisation de notre travail.

Nous tenons à remercier Mr CHIKHOUNE A. qui a accepté de présider le jury de soutenance, ainsi que M^{me} TAFININE Z. pour avoir accepté de juger et d'examiner notre travail en tant qu'examinatrice.

Nos remerciements vont également au professeur LOUAILLECHE H. pour sa simplicité, et de nous avoir permis de travailler au niveau de son laboratoire et pour avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous remercions le département de génie des procédés de nous avoir permis d'effectuer des analyses au sein de leur laboratoire sans oublier le technicien Mr BENYIDIRI H.

Nous remercions également Mr CHELOUCH professeur en physique, Mme TOUATI professeur en sciences exactes, et les doctorantes SIDANE J. et LYNDA pour nous avoir donné un peu de leurs temps pour nous expliquer et orienter pour réaliser ce travail.

Nous remercions chaleureusement toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, sans oublier toute l'équipe du laboratoire de biochimie alimentaire grâce à qui notre travail est pu être accompli dans les meilleures conditions.

*Table
des matières*

Table des matières

Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel

1. Définition du miel	2
2. Composition chimique	2
2.1. Eau	3
2.2. Sucres	3
2.3. Les acides organiques	3
2.4. Matières azotées	3
2.5. Les enzymes	3
2.6. Les sels minéraux et les oligo-éléments	3
2.7. Les substances aromatiques	3
2.8. Les vitamines	4
2.9. Les substances antibactériennes	4
2.10. Les polyphénols	4
3. Propriété du miel	4
3.1. Propriétés physiques	4
3.2. Propriétés biologiques	5
3.2.1 Propriétés antioxydantes	5
3.2.2 Propriétés antibactériennes	5
3.2.3. Propriété thérapeutique	6
3.2.4 Propriété organoleptique	6
3.2.4 Propriété nutritionnelle	6
4. Critère de qualité	7

Chapitre II : Cristallisation du miel

1. Définition	9
2. Facteurs qui influencent la cristallisation	9
2.1. Composition en sucres	9
2.2. Humidité	9
2.3. Température de stockage	10
2.4. Présence d'amorces	10
3. Effets de la cristallisation sur la qualité du miel	10
4. Contrôle de la cristallisation du miel	11

Chapitre III : Liquéfaction du miel

1. Liquéfaction au bain-marie	13
2. Liquéfaction au moyen d'une armoire chauffante	13
3. Défigeur-plongeur	13
4. Melitherm	14
5. Appareil de fonte d'opercules Jakel	15
6. Extraction des cristaux par centrifugation	15
7. Micro-onde	15
8. Traitement aux ultrasons	16
8.1. Application des ultrasons sur le miel	17

Partie expérimentale

I. Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage	18
2. Préparation des échantillons	18
3. Dispositif de sonication	19
4. Plan d'expérience	19
5. Analyses physicochimiques	20
5.1. Humidité et degré Brix	20
5.2. Hydroxyméthylfurfural (HMF)	20
5.3. Composés phénoliques	21
5.4. Activité antioxydante	21
5.5. Mesure de la taille et de pourcentage de cristaux	21
6. Analyse microscopique	23
7. Analyse statistique	23

II. Résultats et discussions

1. Analyse des modèles de l'humidité et du Brix	25
1.1. Modèle global et manque d'ajustement	26
1.2. Effets des facteurs	27
2. Analyse des modèles de pourcentage et taille des cristaux	30
2.1. Diffraction aux rayons X	30
2.2. Pourcentage et taille des cristaux	30
2.3. Modèle global et manque d'ajustement	32
2.4. Effets des facteurs	33
3. Analyse microscopique	35
4. Hydrométhyl furfural	37
5. Activité antioxydant	38
6. Les polyphénols totaux	38
7. Conditions optimales de liquéfaction	38

Conclusion	39
-------------------------	-----------

Référence bibliographique	40
--	-----------

Annexes	47
----------------------	-----------

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Composition moyenne du miel	2
2	Défauts de cristallisation	11
3	Brasseur	12
4	Armoire chauffante	13
5	Defigreur-plongeur	14
6	Melitherm	14
7	Appareil de fonte d'opercules Jakel	15
8	Formation et effondrement des cavités	16
9	Photographie de l'échantillon de miel cristallisé	18
10	Homogénéisation du miel	18
11	Aliquotés de l'échantillon de miel cristallisé	18
12	Dispositif pour le traitement de liquéfaction du miel	19
13	Echantillon de miel pour l'analyse de diffraction au rayon X	22
14	Diffractomètre X'pert pro Panalytical	22
15	Microscope optique couplé à un logiciel Optika micro image Analysis	23
16	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour l'humidité du miel.	25
17	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le Brix du miel.	26
18	Effet du temps et de l'amplitude sur l'humidité du miel.	29
19	Effet du temps et de l'amplitude sur le Brix du miel	29
20	Défractogrammes des échantillons avant et après liquéfaction	30
21	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la taille des cristaux du miel.	31
22	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le pourcentage des cristaux du miel.	32
23	Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le pourcentage des cristaux du miel.	34
24	Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur la taille des cristaux du miel.	35
25	Image microscopique de l'échantillon du miel avant le traitement.	36
26	Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 30% pendant 10min(E1) ,15 min(E2) et 20 min(E3).	36
27	Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 50% pendant 10min(E4) ,15 min(E5) et 20 min(E6)	37
28	Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 70% pendant 10min(E7) ,15 min(E8) et 20 min(E9).	37

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Plan d'expérience utilisé pour le traitement de liquéfaction du miel	20
II	Plan expérimental et résultats de paramètres physico-chimiques et antioxydants du traitement de liquéfaction du miel.	24
III	Matrice du modèle de central composite (valeurs codées et réelles des niveaux des deux variables) et les valeurs expérimentales et prédites des trois niveaux des deux facteurs du plan d'expérience pour l'humidité et le Brix.	25
IV	Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour l'humidité.	26
V	Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour le Brix.	27
VI	Paramètre de modèle de surface de réponses pour l'humidité.	27
VII	Paramètre de modèle de surface de réponses pour le Brix.	28
VIII	Matrice du modèle de central composite (valeurs codées et réelles des niveaux des deux variables) et les valeurs expérimentales et prédites des trois niveaux des deux facteurs du plan d'expérience pour la taille et le pourcentage des cristaux.	31
IX	Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour la taille des cristaux du miel.	32
X	Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour le pourcentage des cristaux du miel.	32
XI	Paramètre des modèles de surfaces de réponses de la taille des cristaux du miel	33
XII	Paramètre des modèles de surfaces de réponses du pourcentage des cristaux du miel	33

Introduction

Introduction

Le mot « miel » est issu du latin mel, mellis qui signifie « miel » et « douceur » apparenté au grec meli, melitos ainsi qu'au gothique milith. Le miel est ainsi étroitement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur (Joshi *et al.*, 2000). Le miel, substance sucrée totalement naturelle est l'un des produits issus de la ruche employé depuis des millénaires par de nombreuses civilisations, pour ses qualités nutritionnelles et ses vertus thérapeutiques.

Il existe plusieurs types de miels comme il existe des multitudes de sources de nectar et de miellat. Chaque type de miel a le goût que lui confère la flore du terroir où est installé le rucher. Les miels se distinguent par leurs caractéristiques sensorielles : couleur, arôme, saveur et la tendance à cristalliser (Amiri, 2006).

Un miel de bonne qualité doit répondre aux normes établies par la commission internationale du miel : les critères de qualité retenus sont l'humidité, le taux d'hydrométhylfurfural (HMF), l'index de diastase, le pH et l'acidité, les teneurs en proline et en sucre (Muli *et al.*, 2007). Al Mamary *et al.* (2002) considèrent aussi la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante comme un paramètre de qualité du miel.

Au bout d'un certain temps, et selon ses propriétés physicochimiques, le miel, passe d'un état liquide à l'état cristallin : c'est la cristallisation. Ce phénomène naturel n'altère pas les propriétés nutritionnelles ou thérapeutiques du miel (Dariusz *et al.*, 2007).

Pour de raisons de marché, les consommateurs favorisent généralement un miel liquide ou crémeux qu'un miel cristallisé. Plusieurs procédés ont été développés pour la liquéfaction du miel et le procédé le plus utilisé est le traitement thermique.

Bien qu'à travers le monde la liquéfaction du miel par la chaleur reste le moyen le plus utilisé et vu que les études réalisées ont démontré ses effets néfastes sur la qualité, il est nécessaire de développer de meilleures techniques qui permettent de conserver la qualité du miel. Le traitement aux ultrasons est parmi les méthodes modernes utilisées pour la liquéfaction du miel cristallisé, mais les études sur cette technique restent limitées.

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet de la liquéfaction par ultrasons en faisant varier l'amplitude et le temps selon trois niveaux, puis détermination des caractéristiques physico-chimiques (humidité, Brix et HMF), les propriétés antioxydantes (composés phénoliques et activité antioxydante) et l'état cristallin (taille et de pourcentage de cristaux) du miel cristallisé.

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I :
Généralités sur le
miel

Chapitre I : Généralités sur le miel

1. Définition du miel

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes, des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou excréments d'insectes suceurs de plantes sur ces parties vivantes, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec de leurs propres matières spécifiques, déposent, déshydratent, entreposent et laissent dans les rayons mûrir (Codex Alimentarius, 2001).

2. Composition chimique

Le miel est un mélange complexe, sa composition varie selon l'origine du produit, les plantes butinées, la nature du sol sur lequel poussent ces plantes, les conditions météorologiques, ainsi que la race des abeilles (Amiri, 2006). Les constituants les plus importants de miel sont illustrés dans la figure 1.

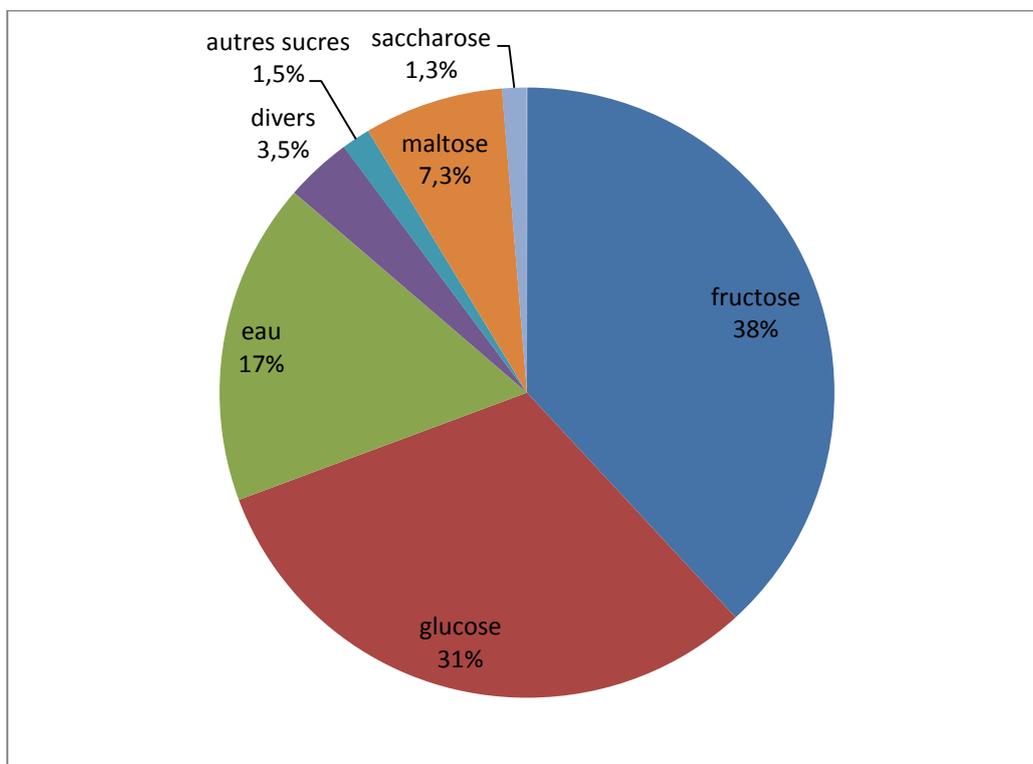


Figure 1: Composition moyenne du miel (Bruneau, 2002).

2.1. Eau

La teneur en eau dans le miel varie entre 16 et 20 % (Aupy *et al.*, 1994), elle dépend de l'origine florale et de la saison de la récolte. (Stephen, 1946).

2.2. Sucres

Les deux sucres les plus abondants dans le miel sont le glucose et le fructose (Lequet, 2010) avec des teneurs moyennes qui sont de 31% et 38% respectivement (White, 2003). On note également la présence de disaccharide essentiellement le Saccharose 7.3% et le maltose 1.3%. En 1967, Siddique et ses collaborateurs ont mis en évidence la présence d'autres sucres tel que : L'isomaltose, le turanose, le maltulose et le raffinose,

2.3. Acides organiques

Le miel contient un grand nombre d'acides organiques. La plupart d'entre eux sont ajoutés par les abeilles (Echigo *et al.*, 1974). L'acide principal est l'acide gluconique.

2.4. Matières azotées

Les protéines et les acides aminés se trouvent dans les miels de fleurs environ 0,3 g/par 100 g et dans les miels de miellat environ 1 g/100 g et plus (White, 1978).

2.5. Enzymes

Les principaux enzymes du miel sont : l'invertase (α -1, 4 glucosidase), l'amylase (α amylase; diastase), glucose oxydase, catalase et la phosphatase (Volva *et al.*, 2002). Elles proviennent principalement des abeilles, Même dans les miels fraîchement récoltés, il existe une grande variabilité de l'activité enzymatique (Bagdanov, 2003).

2.6. Sels minéraux et les oligo-éléments

Les miels présentent des concentrations variables en oligo-éléments. Le Potassium, le phosphore, le calcium, le soufre, le magnésium, le manganèse, le fer, le zinc, le cuivre et le baryum sont retrouvés en plus ou moins grande quantité dans le miel (Hoyet, 2005).

2.7. Substances aromatiques

Environ 100 à 150 différentes substances aromatiques de miel ont été isolées et caractérisées (Bousseta *et al.*, 1992). Ces arômes jouent un rôle important dans l'appréciation sensorielle du miel. Seules quelques unes ont été identifiées, notamment l'antranilate de méthyle, le diacétyl, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone et l'isobutyraldéhyde (Lequet, 2010).

2.8. Vitamines

Le miel contient peu de vitamines. Les plus essentiels sont les vitamines du groupe B: tel que vitamines B1, B2, B3, B4 et B5. Parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, Ket D (Hoyet, 2005) .

2.9. Substances antibactériennes

L'effet antibactérien du miel est dû à la haute teneur en sucre et à la présence de substances antibactériennes spécifiques telle que l'inhibine (Amiri, 2006).

2.10. Polyphénols

Miel est une excellente source de différents polyphénols (David *et al.*, 2011), qui lui confère des propriétés antimicrobiennes, notamment des bactéricides et bactériostatiques, des virucides et des antiparasites, antioxydants, anti tumoral et antimutagènes et des différents effets sur la santé (Chouia, 2014). Leur composition dans le miel varie avec l'origine florale (Amiot *et al.*, 1989).

3. Propriété du miel

3.1. Propriétés physiques

Le miel possède plusieurs propriétés physiques tel que :

❖ **Densité** : Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1, 40 et 1, 45g/cm³ (Bogdanov *et al.*, 2003). C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. (Emmanuelle *et al.*, 1996).

❖ **Viscosité** : La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, Sa composition chimique (teneur en sucre) et la température à laquelle il est conservé ; par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent être cristallisés en partie sous l'influence de certains facteurs entraînant alors une modification complète de son aspect, mais sans changer sa composition (Donadieu, 2008).

❖ **Activité de l'eau (AW)**: Est le facteur le plus déterminant pour la conservation d'une denrée alimentaire. Les valeurs AW du miel varient entre 0, 55 et 0, 75. Les miels, dont l'AW est < 0, 60 peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables (Bogdanov *et al.*, 2003).

❖ **pH** : Le pH varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, et supérieur à 5 dans ceux de miellat comme le miel du sapin (5,3). Les miels à pH bas comme celui de la lavande (3,3) subissent une dégradation facilement (Gonnet et Vache, 1985).

❖ **Abaissement du point de congélation** : Il dépend de la teneur en sucres et varie de 1.42°C à 1.53°C en solution aqueuse à 15%, et entre 2.75°C et 3.15°C en solution aqueuse à 25% (Emmanuelle *et al.*, 1996).

❖ **Conductivité électrique** : Elle est intéressante, car elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ont une conductibilité plus élevée que les seconds. Mais il existe des variations importantes suivant la teneur en eau et en éléments minéraux (Rossant, 2011).

❖ **Indice de réfraction** : Il permet de calculer la teneur en eau, bien plus rapidement que pour les autres méthodes (Emmanuelle *et al.*, 1996).

❖ **Hygroscopicité** : Le miel tend à absorber l'humidité de l'air durant le stockage provoquant ainsi l'augmentation de la teneur en eau (Emmanuelle *et al.*, 1996).

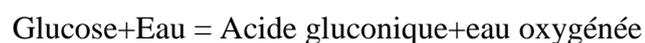
3.2. Propriétés biologiques

3.2.1 Propriétés antioxydantes

Les antioxydants présents dans le miel sont : glucose oxydases, catalases, acide ascorbique, flavonoïdes, composés phénoliques, caroténoïdes, acides organiques, acides aminés et protéines (Anso, 2012). L'action des antioxydants consiste à neutraliser les radicaux libres qui sont des molécules hautement réactives et elles causent des dommages importants aux protéines, à l'ADN et aux membranes cellulaires (Tomczak, 2010).

3.2.2 Propriétés antibactériennes

En présence d'une concentration en glucose-lévulose, le miel dévie le substrat préférentiel des bactéries. La présence d'une enzyme glucoxydase (GOX) conduit à la formation d'eau oxygénée dans le miel selon la voie peroxydique:



Cette réaction libère une concentration de 4 à 5 µg en eau oxygénée par gramme de miel à partir de la 12^{ème} heure jusqu'à 25 µg/gramme à partir de la 24e heure (Lechaux, 2010)

Une deuxième substance à pouvoir bactéricide par voie non peroxydique ; c'est Methylglyoxal (MGO), l'un des composants dicarbonylés (Goethe, 2009) découlant de la réaction de Maillard qui s'effectue dans tous les produits riches en sucres. La concentration en

MGO est plus ou moins forte selon l'origine géographique et florale du miel. (Lechaux, 2010) Ils existent d'autres inhibines non peroxydique tel que les lysozymes, les flavonoïdes, acides aromatiques et autres composants indéterminés du miel. Il s'est révélé que des substances volatiles et aromatiques du miel possédaient également une propriété antibactérienne (Bogdanov .2001).

3.2.3. Propriété thérapeutique

Le miel possède trois propriétés pharmacologiques : antimicrobienne cicatrisante et anti-inflammatoire, conduisant aujourd'hui à des indications thérapeutiques objectivées par de nombreuses études cliniques à travers le monde dans la cicatrisation quelque soit l'origine: plaies (Lechaux, 2010).

3.2.4 Propriété organoleptique

➤ **Cristallisation** : La cristallisation du miel est un processus naturel, sa vitesse dépend surtout de la teneur en glucose du miel(Bogdanov *et al.*, 2003) .

➤ **Couleur** : La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux (Blanc, 2010). Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs (Alvarez, 2010), elle va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts (Donadieu, 2008).; les miels les plus foncés sont les plus minéralisés (Emmanuelle *et al.*, 1996).

➤ **Odeur et goût** : L'odeur du miel est variable (Blanc, 2010). L'arôme et le goût du miel dépendent des plantes butinées. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate (Bradbear, 2005).

3.2.4 Propriété nutritionnelle

Le miel est apprécié comme aliment sucré et au goût agréable. En cas de pénurie alimentaire, c'est une source précieuse de glucides qui contient des oligo-éléments. Le miel occupe une place importante dans la préparation des plats traditionnels (Bradbear, 2005).

De plus, il peut prétendre à de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques (Blanc, 2010), car il satisfait les besoins énergétiques de l'organisme surtout pour les sportifs, les enfants et les personnes âgées puis qu'il est rapidement assimilé , il favorise la calcification osseuse et dentaire, il facilite l'assimilation des aliments, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal et possède un pouvoir antioxydant permettant de

prévenir l'apparition de certains cancers (Oudjet, 2012). Tel que le cancer de la vessie (Anso, 2012).

4. Critère de qualité

L'appréciation de la qualité du miel par le consommateur se fait principalement par l'arôme. Un miel sain et loyal, commercialisé ne doit pas:

- Contenir d'ingrédients alimentaires, y compris des additifs alimentaires ;
- Avoir de matières étrangères absorbées durant sa transformation et son entreposage (médicaments, pesticides.)
- Etre sujet à la fermentation ou l'effervescence ;
- Etre dépourvu de pollen et autres constituants;
- Subir un traitement chimique ou biochimique pour influencer sa cristallisation ;
- Etre chauffé ou transformé pour éviter toute dégradation (Oudjet, 2012).

Les principaux paramètres de qualité du miel en plus des caractéristiques organoleptiques sont :

➤ **Teneur en eau** : C'est un critère essentiel, car il garantit la conservation du miel, et la diminution de la teneur en eau du miel correspond à une étape de maturation qui a lieu dans la ruche avant l'operculation des alvéoles. Légalement, un miel ne doit pas contenir plus de 18,5 %, à l'exception du miel de châtaignier (19 %) et du miel de callune (22 %). Le taux d'humidité le plus bas sera un gage de bonne qualité du miel (Hoyet, 2005).

➤ **Hydroxy-Methyl Furfural (HMF)** : C'est un dérivé de déshydratation des sucres simples principalement le fructose. C'est un très bon indice de détérioration, car des valeurs d'HMF supérieures à 40 mg/kg sont révélatrices d'une perte de qualité, en effet, plus la teneur en HMF est faible, plus la qualité de miel s'affirme. L'acidité et une teneur en eau élevée favorisent la formation de HMF, mais l'excès de chaleur et un entreposage prolongé sont des facteurs encore plus importants dans ce processus (Marceau *et al.*, 1994).

➤ **Activité enzymatique** : L'activité enzymatique du miel est affectée par la chaleur et par l'entreposage prolongé (Hadorn *et al.*, 1962 et White *et al.*, 1964).

Bien qu'il existe différents enzymes dans le miel, c'est la diastase, appelée aussi amylase, qui a été la plus étudiée pour affirmer la qualité, cet enzyme, ajouté par l'abeille, permet la transformation de l'amidon en glucose. En 1958, cette analyse a été raffinée si bien que l'activité diastasique et la concentration en HMF ont été standardisées pour devenir la norme suivante:

- Indice diastasique > 8 si [HMF] < 40 mg/kg
- Indice diastasique > 3 si [HMF] < 15 mg/kg. (Codex Alimentarius, 2001)
- Indice diastasique >3 si [HMF] < 80 mg/kg. (Marceau *et al.*, 1994)

➤ **Proline** : La teneur en proline donne des informations sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications (Von Der Ohe *et al.*, 1991). On considère qu'un miel est arrivé à maturité lorsque sa teneur en proline est supérieure à 183 mg/kg. Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification.

➤ **Autres critères de qualité** : Ils sont la teneur en glycérol (recherche d'un début de fermentation), la présence de résidus (recherche d'adultération des miels), la conductivité électrique, l'acidimétrie, les sucres, la coloration et l'analyse pollinique. Ces cinq derniers critères sont des contrôles d'appellation et/ou d'origine (Amiri, 2006).

Chapitre II :
Cristallisation du
miel

Chapitre II : Cristallisation du miel

Le miel est un produit qui subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant à la perte de certaines de ses qualités et le changement de son aspect en particulier la cristallisation.

1. Définition

Quatre-vingts pourcent de la masse des miels sont constitués de différents sucres. Dans les conditions de conservation des pays tempérés, presque tous les miels sont des solutions sursaturées en sucres et vont finir par cristalliser. Mais, selon leur composition et en raison de la solubilité très différente de chaque sucre, cette cristallisation est plus ou moins rapide. Seuls les miels très riches en fructose peuvent ne pas cristalliser. Le plus connu est celui du miel de robinier dit « miel d'acacia » mais il en existe d'autres comme le miel de tupelo (*Nyssa sp.*) produit dans le sud-est des Etats-Unis (Jacquot *et al.*, 2011 ; Lequet, 2010 ; Hummel et Feltin, 2014).

2. Facteurs qui influencent la cristallisation

Le miel se compose de deux principaux sucres glucose et fructose en solution avec de l'eau. La cristallisation est un processus dans lequel les molécules de glucose forment des structures cristallines (Calderone, 2008). La cristallisation du miel peut être directement liée à sa composition ou aux conditions de stockage, ils se forment d'abord de petits cristaux qui vont progressivement se lier entre eux pour former de gros cristaux et donner au miel une consistance grumeleuse.

2.1. Composition en sucres

La cristallisation dépend de la composition du miel, et par conséquent de son origine florale. La tendance du miel à se cristalliser est plus rapide avec des quantités en glucose supérieures à 28% (Bogdanov, 1993 et Hummel *et al.*, 2014), un rapport glucose/humidité égale à 2,1 ou plus est un très bon indice d'aptitude à une solidification rapide (Polus, 2007), Un faible rapport fructose/glucose favorise l'apparition et la multiplication des granulations et entraîne une cristallisation rapide du miel (Lequet, 2010).

2.2. Humidité

Un miel ne doit pas contenir plus de 20 % d'eau, Il est très rare d'obtenir un miel avec des teneurs en humidité qui approchent les 14% seulement. Il est essentiel de tenir compte de

l'hygroscopie du miel au cours de sa conservation. En effet, Le miel absorbe facilement l'humidité de l'air ambiant, c'est pourquoi il doit être manipulé et entreposé dans des locaux secs et dans des récipients hermétiquement fermés (Lequet, 2010).

Les miels dont la teneur en eau est élevée ont tendance à rester longtemps liquides. Cependant un miel qui contient très peu d'eau est beaucoup plus visqueux, ce qui n'autorise pas le déplacement des molécules de sucre afin de former un réseau cristallin. C'est ce qui explique que certains miels gardent une forme visqueuse, très épaisse, mais ne cristallise pas (Polus, 2007).

Certains chercheurs ont comparé les différents indicateurs de cristallisation et ils ont conclu que seul le rapport glucose /eau peut être utilisé efficacement pour prédire la tendance des miels à cristalliser (Manikis *et al.*, 2001 et Lequet, 2010).

2.3. Température de stockage

Le miel, dans la ruche, est stocké à une température proche de 34°C sous forme liquide. Une fois récolté, il est stocké à température ambiante, beaucoup plus basse, ce qui diminue la solubilité des sucres et enclenche le phénomène de cristallisation (Lequet, 2010).

La température joue un rôle important dans la vitesse de développement des cristaux, avec un optimum connu autour de 14°C. A une température inférieure, le miel devient plus visqueux, ce qui empêche l'établissement d'un réseau cristallin (Gonnet, 1965), Si la température est plus élevée, le miel se cristallise moins rapide, mais les températures élevées ne sont pas idéales pour une bonne conservation du miel.

2.4. Présence d'amorces

Diverses amorces (cristaux primaires, grains de pollen, poussières, etc.) participent à la cristallisation du miel. Elles influent sur la nature de la cristallisation (grains fins ou grossiers) ainsi que sur la vitesse de la cristallisation.

La primo cristallisation d'un miel s'établit en général autour de cristaux primaires de sucres déjà présents dans le miel, ceux-ci servent de modèles, la cristallisation est lente au départ et elle s'auto-accélère au fur et à mesure que se développent les nouveaux cristaux (Lequet, 2010).

3. Effets de la cristallisation sur la qualité du miel

➤ Modification de la qualité organoleptique

Vis-à-vis le consommateur, un miel granulé est généralement peu apprécié. Quand la granulation est inachevée, il y aura formation de deux phases, une couche cristalline et une

couche liquide dont la teneur en eau plus élevée que celle du miel original (Assil *et al.*, 1991) (figure 2).



Figure 2: Défauts de cristallisation (Bogdanov, 2008).

➤ Fermentation

Le deuxième processus qui peut affecter la qualité de miel est la fermentation. Tous les miels contiennent les levures tolérantes au sucre qui peuvent les faire fermenter si leur contenu en eau est trop élevé. La cristallisation et la fermentation sont étroitement liées, car pendant la cristallisation, les molécules de glucose séparé de la phase liquide formant des cristaux de glucose hydraté contenant 9,09 % de l'eau (Calderone, 2008), ces cristaux restent au fond du pot et la phase liquide surnage, cela favorise le phénomène de fermentation du miel et le rend impropre à la consommation (Polus, 2008).

4. Contrôle de la cristallisation du miel

La cristallisation naturelle de certains miels a tendance de produire de gros cristaux. Ils sont généralement peu appréciés en raison des sensations tactiles désagréables qu'ils laissent en bouche. Pour éviter les défauts de cristallisation et accroître la popularité d'un miel auprès des consommateurs, on peut « contrôler » la cristallisation selon deux procédés :

➤ Le fractionnement mécanique des cristaux par brassage du miel : le brassage peut être effectué à la main avec un brasseur à section triangulaire, ou par l'utilisation d'un appareil de brassage muni d'un moteur puissant à vitesse (Bogdanov, 2008) (figure 3).

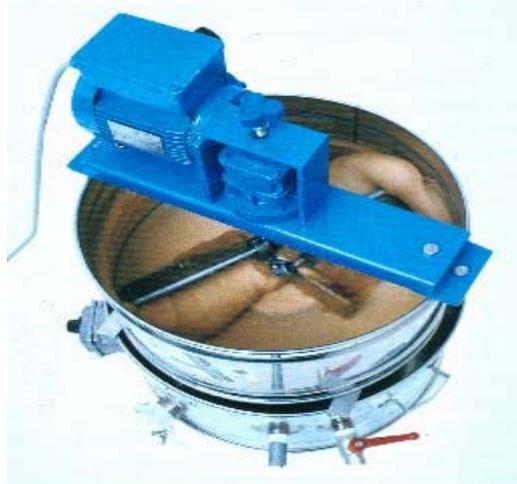


Figure 3 : Brasseur (Bogdanov, 2008).

➤ La technique de l'ensemencement consiste à introduire dans un miel liquide une petite quantité au moyen 5 à 10 % de miel finement cristallisé suivie d'un brassage (Hummel et Feltin, 2014). Ces petits cristaux se comporteront alors comme des nucléus primaires pour le futur réseau cristallin. C'est une technique largement utilisée. Le miel initialement utilisé pour l'ensemencement est souvent le miel de colza (Gonnet, 1994).

Chapitre III :
Liquéfaction du
miel

Chapitre III : Liquéfaction du miel

La décrystallisation ou liquéfaction du miel est une opération qui consiste à fondre les structures cristallines et redonner au miel sa forme fluide.

Il existe différents procédés de liquéfaction du miel. Les méthodes thermiques sont généralement les plus utilisées, cependant d'autres moyens existent tels que les traitements par ultrasons et par microondes.

1. Liquéfaction au bain-marie

La liquéfaction au bain-marie est la méthode la plus rapide et qui consomme le moins d'énergie. Cependant il faut porter une attention particulière à l'étanchéité du récipient contenant le miel (Bogdanov, 1999).

2. Liquéfaction au moyen d'une armoire chauffante

Comparée au bain-marie, cette technique est moins avantageuse vu la faible capacité de conductibilité et d'emmagasinement thermique de l'air. Par ailleurs, la liquéfaction à 40°C dure deux fois plus longtemps que dans un bain-marie. Par un brassage régulier, on peut toutefois réduire la durée de liquéfaction (Bogdanov, 1999) (figure 4).



Figure 4 : Armoire chauffante (Anonyme 1)

3. Défigeur-plongeur

Le défigeur-plongeur est un corps de chauffe surdimensionné (Figure 5). En raison de son poids, il pénètre dans le miel au fur et à mesure que celui-ci se défige jusqu'à ce qu'il touche le fond du récipient. A l'aide d'un thermostat et d'un thermomètre, on peut aisément régler le degré de chaleur. Si le défigeur-plongeur est réglé à 40°C seulement, le miel ne devient pas

complètement liquide, mais garde en partie sa structure cristalline. On remédie à cet inconvénient, par l'utilisation de l'appareil Melitherm.

Avec cette méthode, une diminution de la qualité du miel a été constatée. (Bogdanov, 1999).



Figure 5 : Defigreur-plongeur (Anonyme 2)

4. Melitherm

Le melitherm est un récipient cylindrique muni d'un corps de chauffe et d'un fond grillagé recouvert d'un tamis à mailles fines. Le corps de chauffe repose sur le fond grillagé. Le miel figé fond immédiatement au contact du corps de chauffe et s'écoule au travers du tamis et du fond grillagé dans le récipient de réception. Malgré une température d'environ 55-60°C, le miel ne subit pas une détérioration très considérable, car il ne reste que peu de temps en contact du corps de chauffe. Après la liquéfaction avec le Melitherm, la teneur en HMF n'a subi aucune augmentation et seule une faible baisse de l'activité enzymatique a été constatée (6%) (Bogdanov, 1994) (Figure 6).



Figure 6 : Melitherm (Bogdanov, 1994).

5. Appareil de fonte d'opercules Jakel

L'appareil Jakel convient à la récolte de miel difficile à extraire. Le rendement d'extraction avec cet appareil peut augmenter jusqu'à 35%.

Le procédé consiste à couper les rayons de miel du cadre, les scinder en deux et les placer verticalement dans l'appareil. L'évolution de la température au cours de la fonte se mesure à l'aide de 4 thermomètres placés dans la partie supérieure (rayon) et deux dans la partie inférieure (miel) de l'appareil de fonte d'opercules. La température dans le bac de récupération de la cire et du miel augmente progressivement et s'élève à la fin du test à 50°C. La liquéfaction dure environ 2,5 heures. L'utilisation de cette méthode affecte négativement la qualité du miel, la teneur en HMF se multiplie 4 fois et l'activité enzymatique se réduit de 9% (Bogdanov, 1994) (Figure7).



Figure 7 : Appareil de fonte d'opercules Jakel (Anonyme 3)

6. Extraction des cristaux par centrifugation

Cette méthode permet de conserver le miel sous forme liquide et limpide pendant plusieurs mois et n'affecte pas la qualité du produit. C'est un procédé qui ne fait pas appel au chauffage excessif du produit. Son principe consiste à extraire les cristaux de glucose par centrifugation à une vitesse de 1000 et 30000 g sous une température préférentielle moins de 45°C durant environ deux heures (Poirot, 2012).

7. Micro-onde

Il est également possible de liquéfier du miel au moyen des fours micro-ondes disponibles sur le marché.

Les expériences effectuées avec ce type d'appareils ont révélé que les enzymes et l'activité de l'inhibine subissent des détériorations importantes lors de la liquéfaction des miels provenant du nectar. En revanche les miels, qui proviennent du miellat sont moins détériorés (Bogdanov, 1999).

8. Traitement aux ultrasons

Les ultrasons sont définis comme des ondes sonores ayant une fréquence supérieure à celle de l'audition humaine. L'audition humaine est dans la plage de fréquence de 0,016 à 18 kHz, et l'intensité de puissance de conversation normale est d'environ 1 W cm^{-2} . Les ultrasons sont globalement divisés en deux catégories (Leadley & Williams, 2002; Mason, 1998; McClements, 1995).

Les ultrasons à faibles puissances sont caractérisés par de hautes fréquences comprises entre 2 à 20 MHz et des intensités de puissance entre 100 mW cm^{-2} et 1 W cm^{-2} . Ce type d'ultrasons est utilisé en imagerie médicale et l'analyse chimique des propriétés alimentaires. En outre, ces ondes ultrasonores traversent les matériaux sans provoquer des changements de propriétés physiques ou chimiques (Leadley & Williams, 2002; Mason, 1998; McClements, 1995).

Les ultrasons avec une plage de fréquences de 20 kHz à 100 kHz sont appelés ultrasons de hautes puissances, se caractérisent par des faibles fréquences (niveaux de puissance entre 10 à 1000 W cm^{-2}). Ce type d'ultrasons a le pouvoir de générer des cavitations dans le lieu provoquant ainsi des perturbations physiques de la matière et favorise certaines réactions chimiques (Leadley & Williams, 2002; Mason, 1998; McClements, 1995).

Lorsqu'un liquide est soumis à des ultrasons de puissance suffisante, le liquide est alternativement comprimé et relaxé, en formant des petites bulles ou des cavités. Ces bulles réagissent à la compression et l'expansion des cycles de l'onde ultrasonore, ce qui provoque leur expansion et, quand elles atteignent une taille critique, elles finissent par s'effondrer ou s'imploser. Ce processus est illustré dans la figure 8. L'effondrement des bulles peut être si violent que cela peut causer des dommages considérables au milieu environnant. Le gaz dans les bulles est estimé atteindre des températures d'environ 5000 °C et des pressions de plus de 1000 atmosphères sur une échelle de temps de la nanoseconde. Cependant, cette chaleur est transitoire et très localisée, de sorte que l'augmentation de la température globale de la matrice soit relativement faible.

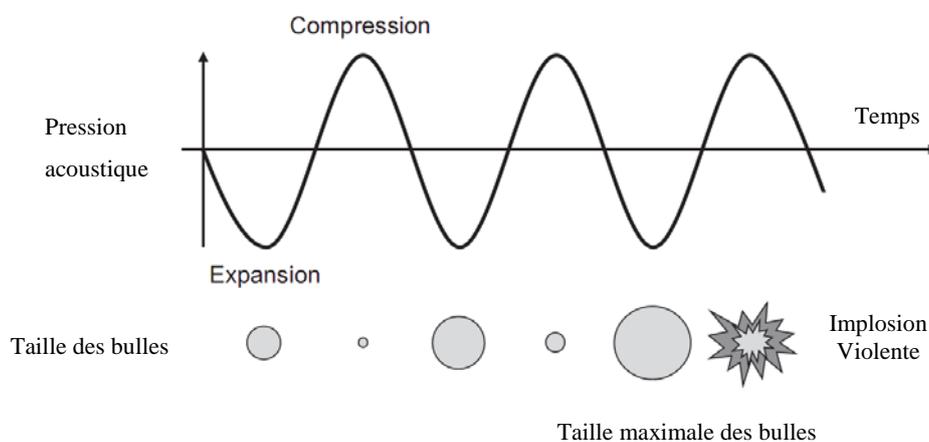


Figure 8 : Formation et effondrement des cavités (Ahmed et Shafi ur Rahman, 2012).

8.1. Application des ultrasons sur le miel

Kaloyereas (1955) a rapporté que les ondes sonores à haute fréquence (9 kHz) ont permis d'éliminer les cristaux du miel et retardé la recristallisation. Le traitement ultrasons détruit la plupart des levures qui sont présentes dans le miel, et celles qui survivent perdent leur capacité à se développer.

Liebel (1978) a confirmé ces résultats par l'analyse de miel exposé aux ultrasons à une amplitude de 18 kHz pendant 5 min. En outre, l'utilisation d'un traitement par ultrasons pour inhiber la granulation a l'avantage d'être un procédé qui a lieu à température normale d'environ 33°C.

Thrasyvoulou *et al.* (1994) ont rapporté que la liquéfaction complète du miel nécessite 18 à 25 minutes de traitement aux ultrasons d'une fréquence de 23 kHz, alors qu'elle est de 30 minutes pour le chauffage thermique. En conséquence, l'énergie nécessaire pour la liquéfaction varie de 0,1056-0,1466 kWh, et la température maximale atteinte par les échantillons allant de 76 à 82 ° C pour des applications d'ultrasons.

La teneur en HMF des échantillons a augmenté après le traitement aux ultrasons, ainsi que, après traitement thermique, par comparaison avec des échantillons non traités. Cependant, l'augmentation moyenne de la teneur en HMF due à un traitement par ultrasons et le traitement thermique sont respectivement de 85,7 et 128,7% (Thrasyvoulou *et al.*, 1994). Ainsi, l'augmentation de la teneur en HMF due aux ultrasons est inférieure à celle due à la méthode de chauffage classique. Toutefois, un tel changement de la teneur en HMF avec le traitement ultrasonique peut être dû à l'augmentation de la température qui se produit pendant le traitement aux ultrasons, au lieu d'être réellement dû aux ondes ultrasonores, en particulier lorsque le temps de traitement par ultrasons dépasse les 20min (Thrasyvoulou *et al.*, 1994).

Le traitement par ultrasons ainsi que le traitement thermique affectent l'activité diastasique du miel. La diminution moyenne de l'indice diastasique pour le traitement par ultrasons et le traitement thermique était respectivement de 16,2% et 23,1%, en outre, l'analyse a montré que les échantillons de miel cristallisés traités par ultrasons sont restés à l'état liquide pendant une période beaucoup plus longue que ceux traités par la chaleur (Thrasyvoulou *et al.*, 1994).

Partie
expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

L'échantillon utilisé dans la présente étude est un miel cristallisé (Figure 9) d'origine floral issu de la région d'Aoukas (wilaya de Bejaia) auprès d'un apiculteur. Récolté vers mis juin de l'année 2014.



Figure 9: Photographie de l'échantillon de miel cristallisé

2. Préparation des échantillons

L'échantillon de miel est versé dans un grand cristallisateur puis mélangé soigneusement (figure10). Onze aliquotes, de 30 grammes chacune, sont pesées à l'aide d'une balance de précision dans des béchers en verre (figure11).



Figure10 : Homogénéisation du miel



Figure 11: Aliquotes de l'échantillon de miel cristallisé

3. Dispositif de sonication

Les aliquotes de miel sont traitées par sonicateur à sonde, le miel est refroidi par un bain d'eau glaciale et la température est mesurée continuellement afin d'estimer le chauffage de milieu (figure12).



Figure 12: Dispositif pour le traitement de liquéfaction du miel

4. Plan d'expérience

Dans la présente étude, deux paramètres importants, à savoir le temps et l'amplitude de sonication, sont étudiés. Dans cette partie, l'optimisation de la liquéfaction du miel cristallisé est étudiée en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR). Cette méthode permet d'étudier l'influence de chacun des deux paramètres et d'analyser les interactions entre ces facteurs.

La méthodologie de surface de réponse est une technique visant à déterminer les variations de la réponse vis-à-vis des facteurs d'influences significatives. Cette méthode permet de démontrer une relation d'approximation entre les variables d'entrée (facteurs) et les variables de sortie (réponse). En effet, la réponse dépend de la variation des paramètres d'entrée ou stimuli. Ces variables permettent de représenter les variations spatio-temporelles des paramètres d'entrée par des modèles mathématiques. La construction des surfaces de réponses s'effectue suite à l'ajustement du modèle en utilisant des fonctions mathématiques (Goupy, 2006 ; Goupy et Creighton, 2006).

La méthode de surface de réponse nécessite trois étapes : la construction du plan expérimental, la modélisation de la réponse et les représentations graphiques.

Les échantillons sont traités avec trois niveaux d'amplitude de sonication (30, 50 et 70) pendant trois niveaux de temps (10, 15 et 20 minutes). Les bornes inférieures et supérieures ont été choisies après plusieurs essais déjà réalisés au niveau de laboratoire. Un plan central

composite, avec trois répétitions du point central, est appliqué pour étudier la liquéfaction du miel. Le tableau I montre le plan expérimental avec les différentes combinaisons des trois niveaux de l'amplitude et du temps de sonication déterminé par le logiciel de JMP.

Tableau I : Plan d'expérience utilisé pour le traitement de liquéfaction du miel

Essai	Amplitude de sonication (%)	Temps (min)
1	50	20
2	70	20
3	30	10
4	30	20
5	50	10
6	50	15
7	50	15
8	70	10
9	30	15
10	50	15
11	70	15

5. Analyses physicochimiques

5.1. Humidité et degré Brix

Une quantité de miel est déposée sur une lamelle qui est placée dans l'étuve à $50 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 6 minutes pour permettre l'élimination des cristaux. L'échantillon de miel est déposé sur le prisme du réfractomètre, puis l'indice de réfraction ainsi que le degré Brix sont lus. La teneur en eau, exprimée en pourcentage, est obtenue par conversion de l'indice de réfraction en utilisant la table de Chataway (Annexe I) (Bogdanove *et al.*, 1999).

5.2. Hydroxymethylfurfural (HMF)

La teneur en HMF est estimée selon le protocole de Bogdanove (2002). Dans un bécher, une quantité de 5g de miel est dissoute avec 25ml d'eau distillée, ensuite cette solution est transvasée dans une fiole jaugée de 50ml puis 0,5ml de Carrez I (Héxanocyanoférrate de potassium à 15%) et 0,5ml de Carrez II (Acétate de zinc à 30%) sont ajoutés puis le mélange est homogénéisé. Le volume est ajusté avec de l'eau distillée jusqu'au trait de Jauge. La solution est filtrée et les premiers 10ml sont rejetés. A partir de filtrat, deux volumes de 2 ml chacun sont introduits dans deux tubes à essai et 2ml d'eau distillée sont rajoutés pour l'un et 2 ml de bisulfite de sodium (0.2%) sont rajoutés pour l'autre. Les absorbances des deux solutions sont lues à 284nm et 336nm et le taux d'HMF est calculé selon la formule suivante :

$$\text{HMF} = (A_{284\text{nm}} - A_{336\text{nm}}) \times 149,7 \times 5 \times \text{D/P}$$

Soit :

HMF : Hydroxymethylfurfural en mg/kg de miel

$A_{284\text{nm}}$: Absorbance à 284nm

$A_{336\text{nm}}$: Absorbance à 336nm

149,7 : Constate

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

D : Facteur de dilution

P : Poids de la prise d'essai

5.3. Composés phénoliques

Un gramme de miel est dissout dans 10ml d'eau distillée, puis 200 μ l sont homogénéisés avec 750 μ l de réactif de folin-Ciocalteu. Après 5minutes, 750 μ l de carbonate de sodium à 6% sont ajoutés. La préparation est laissée à l'obscurité pendant 90 min, puis l'absorbance est lue à 760nm. Les concentrations en composés phénoliques totaux du miel sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique comme standard est sont exprimés par mg EAG/kg de miel (Annexe II).

5.4. Activité antioxydante

Un volume de 1ml de solution de miel (10% dans l'eau distillée) est mélangé avec 2ml de DPPH° (60mM). Le mélange est incubé à température ambiante pendant 30 min, puis l'absorbance est déterminée à 517nm. L'activité antioxydante est exprimée en mg équivalent acide gallique par kg de miel en utilisant une courbe d'étalonnage réalisée par acide gallique (Annexe II).

5.5. Mesure de la taille et de pourcentage de cristaux

Les échantillons sont bien mélangés, une quantité de chaque échantillon est introduite dans de petites boîtes de pétri en verre (Figure13), de façon a avoir une épaisseur de miel supérieur à 3mm. Puis déposé dans le porte-échantillon de diffractomètre.



Figure 13 : Echantillon de miel pour l'analyse de diffraction au rayon X

L'analyse de cristaux est réalisée par un diffractomètre X'pert pro Panalytical (Figure14) au niveau du laboratoire de génie des procédés.



Figure14 : Diffractomètre (X'pert pro Pana lytical)

La longueur d'onde de la radiation utilisée est celle du $1,5406 \text{ \AA}$. Elle est générée par une anode en cuivre, sous une tension de 45kV et un courant de 30mA. L'acquisition du diffractogramme est effectuée à des angles 2θ compris entre 5 et 50° . Le type de balayage est continu avec un pas de $0,02^\circ$ et une vitesse de $7^\circ/\text{min}$.

Un faisceau de rayons X monochromatique (les rayons utilisés ont généralement une longueur d'onde de l'ordre de 0,5 à 2 \AA) incident est diffracté par l'échantillon à certains angles spécifiques, suivant la loi de Bragg. L'enregistrement du signal par un détecteur adapté permet de visualiser les angles et les intensités des pics de diffraction obtenus. L'indexation de ces pics est réalisée à l'aide de bases de données spécifiques permettant l'identification du (ou des) composé(s) (Gremillard, 2005).

Cette analyse présente deux objectifs : un objectif qualitatif pour l'identification des phases cristallisées et un autre quantitatif dans le but d'estimer des proportions relatives des phases identifiées. Il a une application cristallographique qui détermine des paramètres de mailles et de la position des atomes dans la maille. Aussi diverses applications telles que le pourcentage de cristallinité, forme et dimension des cristaux...

Le pourcentage et la taille moyenne des cristaux de miel sont étudiés par analyse des diffractogrammes par les logiciels X'Pert HighScore et origine.

6. Analyse microscopique

Dans le but de visualiser l'état cristallin de chaque échantillon, une goutte de miel est prélevée, bien étalée sur une lame, ensuite analysée au microscope optique équipé d'un logiciel Optika micro image Analysis (Figure15). Le grossissement utilisé est de 40x8.



Figure 15 : Microscope optique couplé à un logiciel Optika micro image Analysis

7. Analyse statistique

Le traitement des données physico-chimiques (humidité, Brix, composés phénoliques, HMF, pourcentage et taille des cristaux) et de l'activité antioxydante ainsi que la réalisation des graphes ont été effectués par logiciel JMP (S.A.S).

Résultats et discussions

II. Résultats et discussions

Les résultats des différentes analyses effectuées sur le miel (taux d'humidité, Brix, teneurs en HMF et en composés phénoliques, activité antioxydante, pourcentage et taille des cristaux) sont regroupés dans le tableau II :

L'analyse des modèles de régression par le logiciel JMP a permis de décider sur l'adaptation de la régression quadratique. Cela est facilité par la vérification de deux paramètres, le premier est d'obtenir une valeur de la probabilité du modèle inférieur à 0,05 ($p < 0,05$ signifie que le modèle est significatif), et le deuxième est d'avoir un défaut d'ajustement d'une probabilité supérieur à 0,05 (le défaut d'ajustement du modèle est non significatif). Si les deux conditions ne sont pas remplies, le paramètre n'est pas considéré dans l'analyse.

Tableau II : Plan expérimental et résultats de paramètres physico-chimiques et antioxydants du traitement de liquéfaction du miel.

N°	Amplitude (%)	Temps (min)	Humidité (%)	Brix (%)	HMF (mg/kg)	Composés phénoliques (mg EAG / kg)	Activité antioxydante (mg EAG/kg)	Taille des cristaux (nm)	Pourcentage des cristaux (%)
1	50	20	13,80	83,61	33,98	450,14	40,51	302	13,78
2	70	20	13,60	84,40	38,77	431,94	50,75	0	0
3	30	10	15,20	83,02	33,08	452,63	34,21	485	68,69
4	30	20	15,20	82,99	32,34	304,51	33,02	423	33,01
5	50	10	14,32	83,21	25,75	446,83	19,23	414	23,84
6	50	15	14,25	83,48	27,4	465,87	25,54	403	26,54
7	50	15	14,19	83,60	34,28	460,07	35,78	411	18,26
8	70	10	13,80	83,62	35,33	412,08	36,57	0	0
9	30	15	14,99	83,20	31,29	395,53	35,78	468	39,23
10	50	15	14,15	83,42	30,39	424,49	36,18	418	23,75
11	70	15	13,80	84,02	35,18	483,24	37,75	0	0

A partir des valeurs de probabilités des modèles et des défauts d'ajustements, les paramètres qui représentent des effets significatifs sont : l'humidité, le Brix, le pourcentage et la taille des cristaux. Cependant, les autres paramètres, teneurs en composés phénoliques et en HMF et l'activité antioxydante, n'ont aucun effet significatif ($p > 0,05$), c'est à dire le temps et l'amplitude de sonication n'ont pas d'influence sur la régression ou l'évolution, ni linéaire ni quadratique, sur ces trois paramètres.

1. Analyse des modèles de l'humidité et du Brix :

Les résultats de la mesure de l'humidité et du Brix ainsi que le calcul des valeurs prévues par le modèle quadratique pour les différentes combinaisons (Amplitude, Temps) sont regroupés dans le tableau III.

Tableau III : Matrice du modèle de central composite (valeurs codées et réelles des niveaux des deux variables) et les valeurs expérimentales et prédites des trois niveaux des deux facteurs du plan d'expérience pour l'humidité et le Brix.

Essai	Variables		Humidité (%)		Brix	
	Amplitude (%)	Temps (min)	Mesuré	Prévue	Mesuré	Prévu
1	50 (0)	20 (+1)	13,80	14,00	83,61	83,60
2	70 (+1)	20 (+1)	13,60	13,55	84,40	84,38
3	30 (-1)	10 (-1)	15,20	15,19	83,02	83,05
4	30 (-1)	20 (+1)	15,20	15,05	82,99	83,03
5	50 (0)	10 (-1)	14,32	14,24	83,21	83,21
6	50 (0)	15 (0)	14,25	14,16	83,48	83,50
7	50 (0)	15 (0)	14,19	14,16	83,60	83,50
8	70 (+1)	10 (-1)	13,80	13,89	83,62	83,59
9	30 (-1)	15 (0)	14,99	15,15	83,20	83,13
10	50 (0)	15 (0)	14,15	14,16	83,42	83,50
11	70 (+1)	15 (0)	13,80	13,76	84,02	84,08

Le taux d'humidité et le pourcentage de Brix des échantillons varient respectivement entre 13,60 et 15,20% et entre 82,99 et 84,40%. Il ressort des données du tableau III que les valeurs expérimentales et les valeurs prédites sont étroitement rapprochées. Le graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues (Figure 16 et 17) montre que les valeurs des modèles concordent avec les réponses mesurées; toutes les valeurs de l'humidité et le Brix sont soutenues par la faible valeur de la racine du carré moyen des résidus (RMSE, *Root Mean Square Error*).

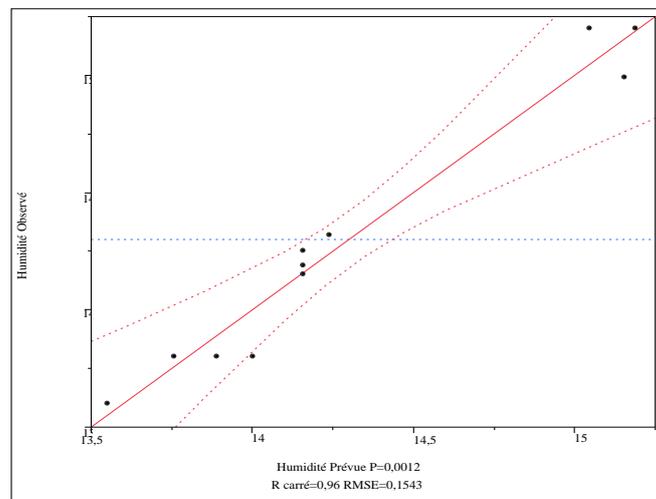


Figure 16 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour l'humidité du miel. *RMSE* : *Root Mean Square Error* ; *racine du carré moyen des résidus*

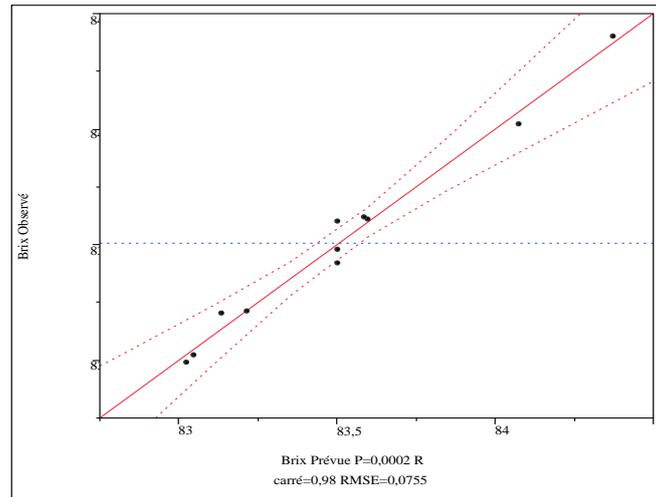


Figure 17 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le Brix du miel. *RMSE : Root Mean Square Error ; racine du carré moyen des résidus*

L'analyse de la variance permet de calculer un paramètre statistique très utile qui est le coefficient de détermination (R^2). Cette statistique est le rapport de la somme des carrés des réponses calculées (corrignées à la moyenne) par la somme des carrés des réponses mesurées (Corrigées à la moyenne). Le coefficient de détermination renseigne sur la qualité du modèle.

- Si cette grandeur se rapproche de 1, le modèle exprime une forte puissance d'explication.
- Si par contre R^2 se rapproche de 0 le modèle présente une faible capacité d'explication. (Bachir Bey,2015)

Les coefficients de détermination ont respectivement, des valeurs de 0,965 et 0,984 pour les modèles de l'humidité et du Brix, confirment et indiquent de grandes significativités des deux modèles de réponse. En d'autres termes, les modèles quadratiques de l'humidité et du Brix, permettent d'expliquer la réponse mesurée de 96,5 et 98,4%, respectivement.

1.1. Modèle global et manque d'ajustement

L'analyse de la régression des deux modèles (humidité et Brix) indique que les carrés des moyennes des modèles sont supérieurs aux carrés des moyennes des résidus (Tableaux IV et V).

Tableau IV : Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour l'humidité.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	Prob. > F
Modèle	5	3,254	0,651	27,325	0,0012*
Résidus	5	0,119	0,024		
Total	10	3,364			
Défaut d'ajustement	3	0,114	0,038	15,005	0,0631
Erreur pure	2	0,005	0,0025		
Erreur totale	5	0,119			

Tableau V : Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour le Brix.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	Prob. > F
<i>Modèle</i>	5	1,759	0,352	61,698	0,0002*
Résidus	5	0,029	0,006		
Total	10	1,788			
<i>Défaut d'ajustement</i>	3	0,012	0,004	0,465	0,7367
Erreur pure	2	0,017	0,008		
Erreur totale	5	0,029			

(*) Indique que le paramètre est statistiquement significatif ($p < 0,05$)

Les rapports de Fisher indiquent des valeurs de 27,325 pour le modèle de l'humidité et de 61,698 pour celui du Brix, correspondant à une probabilité de 0,0012 et 0,0002 respectivement. D'après ces résultats, nous pouvons dire que les deux modèles expriment de fortes significativités vis-à-vis les réponses expérimentales de l'humidité et du Brix. Cependant, les tableaux indiquent des rapports des carrés des moyennes de défauts d'ajustement et des erreurs pures (Rapport F) de 15,005 pour l'humidité et de 0,465 pour le Brix, correspondant aux probabilités de 0,0631 et 0,7367, respectivement. Ce qui signifie que les défauts d'ajustement des modèles quadratiques de l'humidité et du Brix ne sont pas significatifs. Il faut noter que lorsque le test du défaut d'ajustement est non significatif, le modèle est jugé valide (Goupy, 2006).

1.2. Effets des facteurs

Les effets des deux paramètres (amplitude et temps) ainsi que leurs interactions sur les réponses pour le taux d'humidité et le Brix du miel sont résumés dans le tableau VI et VII. La valeur de la probabilité des paramètres indique sur la significativité de son influence. Plus la différence entre la valeur du coefficient (estimation) et l'erreur standard est grande, plus le facteur est jugé influent. Cela peut se traduire par la comparaison du rapport de coefficient et de l'erreur standard indiquée par le «Rapport t ». Autrement dit, la significativité augmente avec la baisse de la valeur de probabilité ; elle est considérée statistiquement significative pour les valeurs de t inférieures à 0,05 (Bachir Bey, 2016).

Tableau VI : Paramètre de modèle de surface de réponses pour l'humidité.

Humidité	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	14,156	0,077	182,680	<0,0001*
Amplitude	-0,698	0,062	-11,320	<0,0001*
Temps	-0,120	0,062	-1,950	0,109
Amplitude*Temps	-0,050	0,076	-0,660	0,537
Amplitude*Amplitude	0,299	0,095	3,150	0,025*
Temps*Temps	-0,036	0,095	-0,380	0,722

Les résultats de l'estimation des coefficients (Tableau VI) montrent que l'amplitude a une influence très hautement significative sur le taux d'humidité du miel, ce paramètre présente un effet linéaire négatif. Par contre l'effet quadratique de l'amplitude de sonication affecte d'une manière positive ; ce qui nous renseigne qu'à des hautes amplitudes de sonication, la teneur en eau du miel diminue. Cependant, ni le temps ni l'interaction entre le temps et l'amplitude de sonication n'expriment un effet considérable.

Tableau VII : Paramètre de modèle de surface de réponses pour le Brix.

Brix	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	83,503	0,039	2155,400	<0,0001*
Amplitude	0,472	0,031	15,300	<0,0001*
Temps	0,192	0,031	6,220	0,002 *
Amplitude*Temps	0,203	0,038	5,360	0,003 *
Amplitude*Amplitude	0,103	0,047	2,180	0,081
Temps*Temps	-0,097	0,047	-2,040	0,097

(*) Indique que le paramètre est statistiquement significatif ($p < 0,05$)

A partir du tableau VII de l'estimation des coefficients du Brix, l'amplitude et le temps ainsi que l'interaction entre les deux paramètres influencent positivement, ce qui explique les effets individuel et complémentaire entre les deux paramètres. Cependant, les effets quadratiques de l'amplitude et du temps ne sont pas considérables.

Le modèle mathématique de la régression quadratique de l'humidité et du Brix après élimination des facteurs non significatifs sont :

$$\text{Humidité (\%)} = 14,156 - 0,698x_1 + 0,299x_1^2 \quad (x_1: \text{Amplitude})$$

$$\text{Brix (\%)} = 83,503 + 0,472 x_1 + 0,192x_2 + 0,203x_1x_2 \quad (x_1: \text{Amplitude} \quad x_2: \text{Temps})$$

La figure 18 illustre la représentation spatiale en trois dimensions des effets du temps et de l'amplitude de sonication sur le taux d'humidité. L'amplitude a un effet inversement proportionnel au taux d'humidité du miel et le temps affecte légèrement la teneur en eau. Il est à noter que durant le traitement nous avons pris le soin d'abaisser la température en utilisant un bain d'eau glaciale, mais le taux d'humidité du miel s'est réduit significativement. Cette diminution s'explique par l'effet des ultrasons qui génère de la chaleur au cours de traitement de liquéfaction.

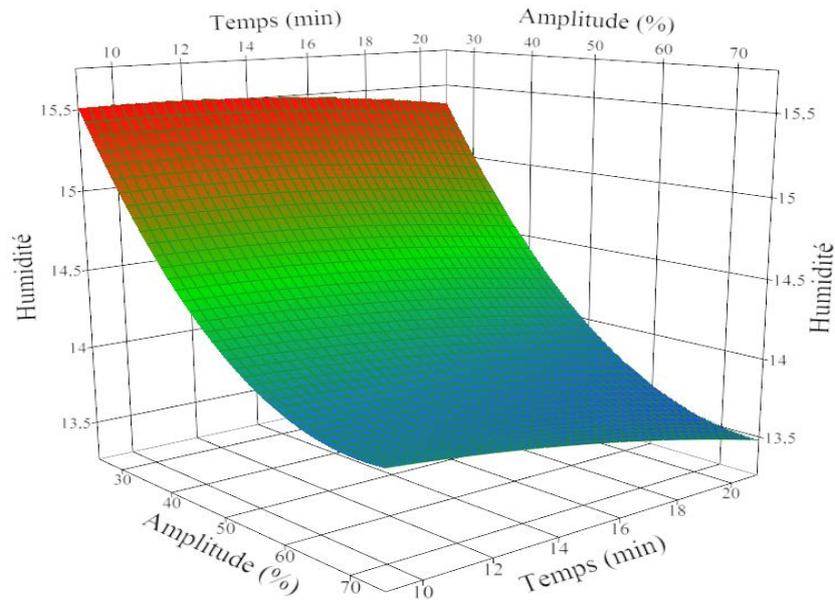


Figure 18 : Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur l'humidité du miel.

La figure 19 montre que le Brix est influencé par le temps, en particulier aux grandes amplitudes de sonication. L'intensité de l'amplitude montre un effet très considérable sur le Brix. L'influence linéaire de ces deux paramètres est bien illustrée dans la figure 19, contrairement à l'effet quadratique, ce qui affirme les résultats de l'analyse de la variance. L'humidité et le Brix sont inversement proportionnels, la diminution de l'humidité se traduit par l'élévation de la matière sèche.

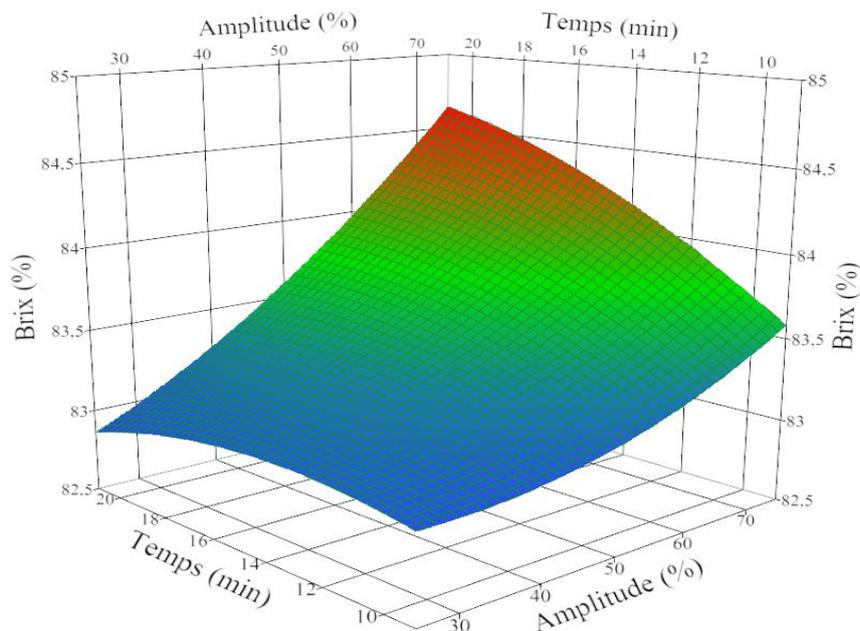


Figure 19 : Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le Brix du miel.

2. Analyse des modèles de pourcentage et taille des cristaux

2.1. Diffraction aux rayons X

L'analyse de miel par la diffraction aux rayons X permet de caractériser les cristaux et de déterminer leurs tailles, elle est basée sur l'utilisation d'un signal qui, par un détecteur adapté, permet de visualiser les angles d'acquisition et d'intensité des pics. Les spectres DRX de l'échantillon du miel non traité (E) ainsi que ceux des échantillons après traitement sont illustrés dans la figure 20. La comparaison des diffractogrammes de l'échantillon avant traitement (E) et ceux traités, montre une nette diminution des intensités des pics. La durée de traitement pour une même amplitude de sonication indique une faible influence sur les intensités des pics. Cependant, l'augmentation de l'amplitude de sonication induit à des réductions considérables des intensités des pics. L'utilisation d'une amplitude de 70%, conduit à un aplatissement des diffractogrammes acquis pour les durées de traitement de 10, 15 et 20 min (E9, E10 et E11), ce qui se traduit par la fusion totale des cristaux (état amorphe).

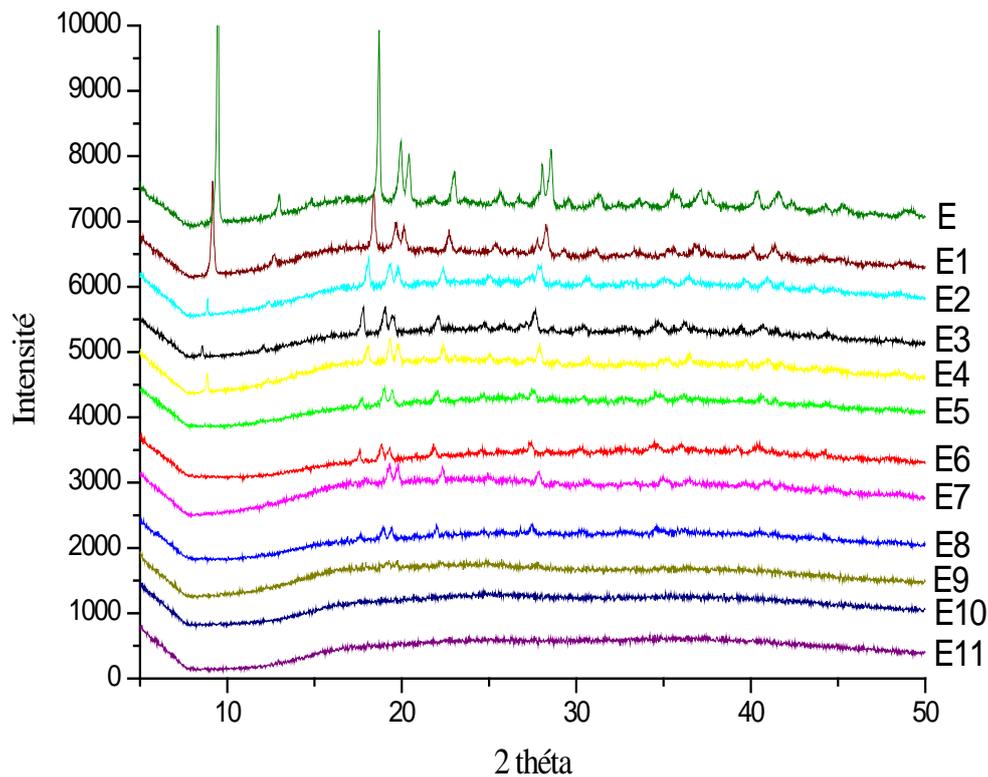


Figure 20 : Défractogrammes des échantillons avant et après liquéfaction.

2.2. Pourcentage et taille des cristaux

Les degrés des facteurs, les valeurs mesurées et prévues de la taille moyenne et le pourcentage des cristaux sont regroupés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Matrice du modèle de central composite (valeurs codées et réelles des niveaux des deux variables) et les valeurs expérimentales et prédites des trois niveaux des deux facteurs du plan d'expérience pour la taille et le pourcentage des cristaux.

Essai	Variables		Taille des cristaux (nm)		Pourcentage des cristaux (%)	
	Amplitude (%)	Temps (min)	Mesuré	Prévue	Mesuré	Prévu
1	50 (0)	20 (+1)	302	343,42	13,78	14,30
2	70 (+1)	20 (+1)	0	-23,04	0	1,68
3	30 (-1)	10 (-1)	485	493,62	68,69	63,90
4	30 (-1)	20 (+1)	423	404,62	33,01	30,81
5	50 (0)	10 (-1)	414	401,42	23,84	29,54
6	50 (0)	15 (0)	403	401,05	26,54	20,78
7	50 (0)	15 (0)	411	401,05	18,26	20,78
8	70 (+1)	10 (-1)	0	3,96	0	-0,92
9	30 (-1)	15 (0)	468	477,75	39,23	46,21
10	50 (0)	15 (0)	418	401,05	23,75	20,78
11	70 (+1)	15 (0)	0	19,09	0	-0,76

L'analyse montre que la taille et le pourcentage des cristaux de miel traité par sonication varient de 0 à 485nm et de 0 à 63,90%, respectivement. D'après le tableau ci-dessus, les valeurs expérimentales et celles prédites sont étroitement rapprochées, ce qui est bien illustré dans les figures 21 et 22. Cela est également soutenu par la faible valeur de la racine du carré moyen des résidus (RMSE, Root Mean Square Error).

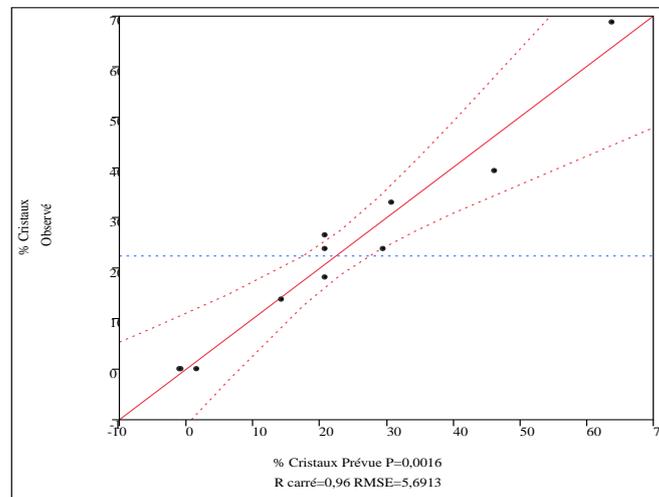


Figure 21 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la taille des cristaux du miel. *RMSE : Root Mean Square Error ; racine du carré moyen des résidus*

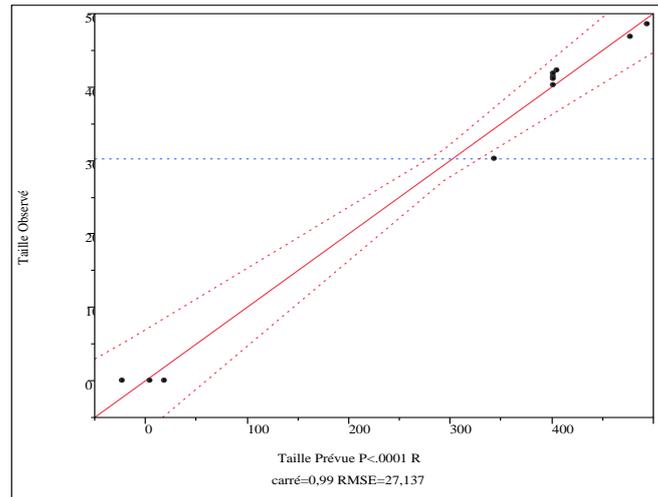


Figure 22 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le pourcentage des cristaux du miel.

Les coefficients de détermination de 0,991 et 0,961 pour les modèles de la taille et le pourcentage des cristaux du miel, respectivement, confirment et indiquent de hautes significativités des deux modèles de réponse. Autrement dit, les puissances d'explication des modèles de la taille et de pourcentage des cristaux sont respectivement de 99,1 et 96,1%.

2.3. Modèle global et manque d'ajustement

Les tableaux IX et X résumant les résultats de l'analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour la taille et pourcentage des cristaux du miel.

Tableau IX : Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour la taille des cristaux du miel.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	Prob. > F
Modèle	5	393697,510	78739,500	106,921	<0,0001*
Résidus	5	3682,120	736,400		
Total	10	397379,640			
Défaut d'ajustement	3	3569,456	1189,820	21,121	0,055
Erreur pure	2	112,667	56,330		
Erreur totale	5	3682,123			

Tableau X : Analyse de variance du modèle et du défaut d'ajustement pour le pourcentage des cristaux du miel.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	Prob. > F
Modèle	5	3994,344	798,869	24,663	0,0016*
Résidus	5	161,956	32,391		
Total	10	4156,300			
Défaut d'ajustement	3	126,462	42,154	2,375	0,31
Erreur pure	2	35,494	17,747		
Erreur totale	5	161,956			

Ces deux tableaux montre que les carrés des moyennes des modèles sont supérieurs aux carrés des moyennes des résidus, et les rapports de Fisher indiquent, respectivement, des valeurs de 106,921 et 24,663 pour le modèle de la taille des cristaux et celui de pourcentage des cristaux, correspondant à une probabilité inférieure à 0,0001 (taille des cristaux) et 0,0016 (pourcentage des cristaux). En tenant compte de ces résultats, nous pouvons dire que les deux modèles ont de fortes significativités vis-à-vis les réponses expérimentales pour les deux réponses.

Les résultats relatifs au défaut d'ajustement indiquent un Rapport F de 21,121 pour la taille des cristaux et 2,375 pour le pourcentage des cristaux, correspondant aux probabilités de 0,055 et 0,31, respectivement (tableau IX et X). Ce qui indique que les défauts d'ajustement des deux modèles ne sont pas significatifs. Ceci implique que les modèles sont jugés bons.

2.4. Effets des facteurs

Suivant les résultats illustrés dans les tableaux XI et XII, les deux paramètres amplitude et temps expriment des influences linéaires significatives sur les deux réponses, ce qui signifie que l'augmentation de l'amplitude et du temps de sonication induit à une diminution de la taille et du pourcentage des cristaux de miel. L'effet quadratique de l'amplitude influence seulement la taille des cristaux ($P= 0,0003$). Cependant l'interaction amplitude-temps n'affecte que le pourcentage des cristaux ($P=0,026$).

Tableau XI : Paramètre des modèles de surfaces de réponses de la taille des cristaux du miel

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	401,053	13,921	28,810	<0,0001*
Amplitude	-229,333	11,079	-20,700	<0,0001*
Temps	-29,000	11,079	-2,620	0,047*
Amplitude*Temps	15,500	13,569	1,140	0,305
Amplitude*Amplitude	-152,632	17,050	-8,950	0,0003*
Temps*Temps	-28,632	17,050	-1,680	0,154

(*) Indique que le paramètre est statistiquement significatif ($p<0,05$)

Tableau XII : Paramètre des modèles de surfaces de réponses du pourcentage des cristaux du miel

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	20,776	2,920	7,120	0,001*
Amplitude	-23,488	2,323	-10,110	0,0002*
Temps	-7,623	2,323	-3,280	0,022*
Amplitude*Temps	8,920	2,846	3,130	0,026*
Amplitude*Amplitude	1,949	3,576	0,550	0,609
Temps*Temps	1,144	3,576	0,320	0,762

Les modèles mathématiques de la taille et du pourcentage des cristaux se présentent sous formes de polynômes de second ordre. Les équations des deux modèles en tenant compte des paramètres d'influences significatives s'écrivent comme suit :

$$T_c = 401,053 - 229,333x_1 - 29,000x_2 - 152,632 x_1^2$$

$$P_c = 20,776 - 23,488x_1 - 7,623x_2 + 8,920 x_2 x_2$$

T_c : Taille des cristaux, x₁ : Amplitude de sonication, x₂ : Temps de sonication.

La représentation spatiale en trois dimensions (Figure 23) montre clairement l'effet linéaire négatif de l'amplitude et du temps sur le pourcentage des cristaux, et à travers la figure 24, l'influence linéaire et quadratique de ces deux paramètres sur la taille des cristaux est aussi bien illustrée.

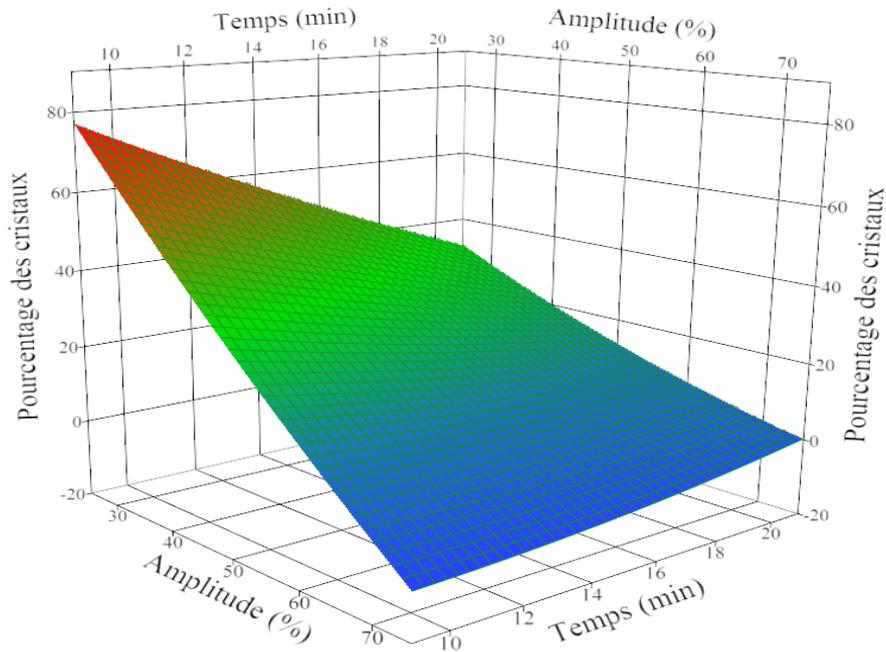


Figure 23 : Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le pourcentage des cristaux du miel.

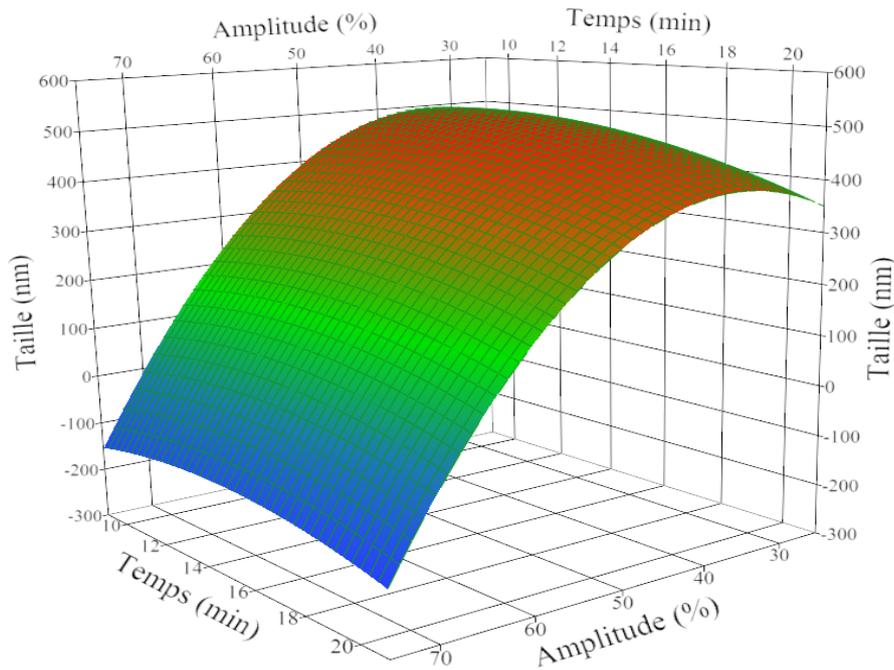


Figure 24 : Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur la taille des cristaux du miel.

Selon les résultats obtenus, l'intensité de l'amplitude est un paramètre qui exerce un effet remarquable sur la dé cristallisation du miel ; les cristaux du miel sont exposés aux températures générées pas les forces de frottement des molécules suite aux cavitations produites par les ultrasons, cela a été également expliqué par Deora *et al.* (2013) qui confirme que les bulles sont la cause de la fonte des cristaux due à leur mouvement aléatoire. En outre, le temps affecte légèrement la taille et le pourcentage des cristaux en comparaison avec l'effet de l'amplitude.

Sayan *et al.* (2011) ont rapporté que la taille cristalline diminue avec de la puissance des ultrasons. Des résultats similaires ont été obtenus également par Deora *et al.* (2013) qui ont indiqué que la taille des cristaux se réduit avec la sonication et que les paramètres extrinsèques tels que l'amplitude, le temps de traitement et la température influencent fortement cet effet.

3. Analyse microscopique

L'analyse microscopique permet de visualiser l'état cristallin de chaque échantillon du miel, la figure 25 représente l'image microscopique de l'échantillon témoin du miel avant traitement. Le miel renferme des structures cristallines avec des démentions variables, allant des fines structures aux grands cristaux, avec différentes formes, éparpillées dans matrice amorphe. Le miel renferme des bulles d'air qui apparaissent au microscope sous forme de

points noirs ou cercles noirs avec un centre éclairé.

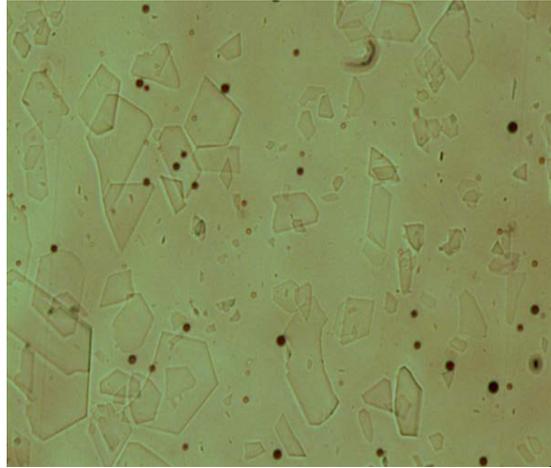


Figure 25 : Image microscopique de l'échantillon du miel avant le traitement

Les captures microscopiques des échantillons traités avec les différentes amplitudes et à des temps variables sont illustrées dans les figures 26, 27 et 28.

La figure 26 correspondante au traitement avec l'amplitude 20 % montre une différence remarquable dans l'état cristallin du miel qui se réduit avec l'augmentation de temps.

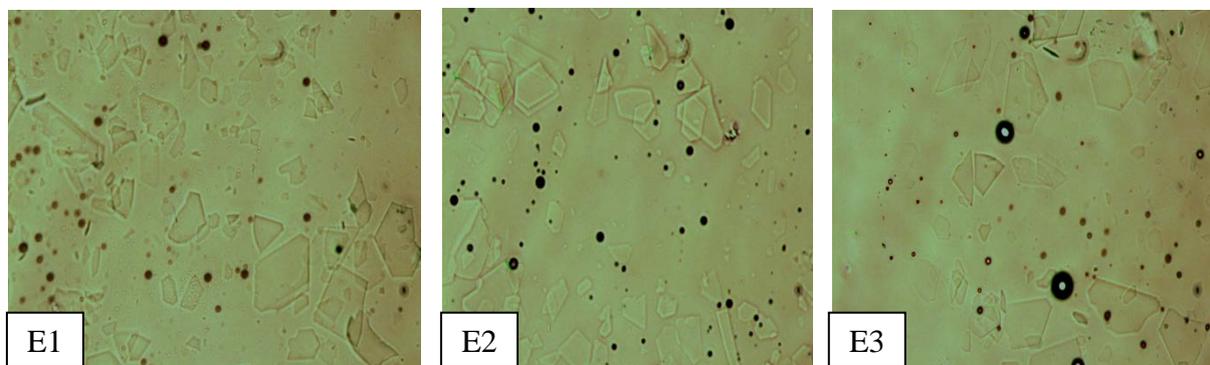


Figure 26 : Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 30% pendant 10min(E1) ,15 min(E2) et 20 min(E3)

Image microscopique des échantillons traités avec l'amplitude 50% (figure 27) a aussi montre l'effet du temps sur la charge cristalline, un traitement d'amplitude 50% /20 min et moins charge que celui de 10 et 15 min.

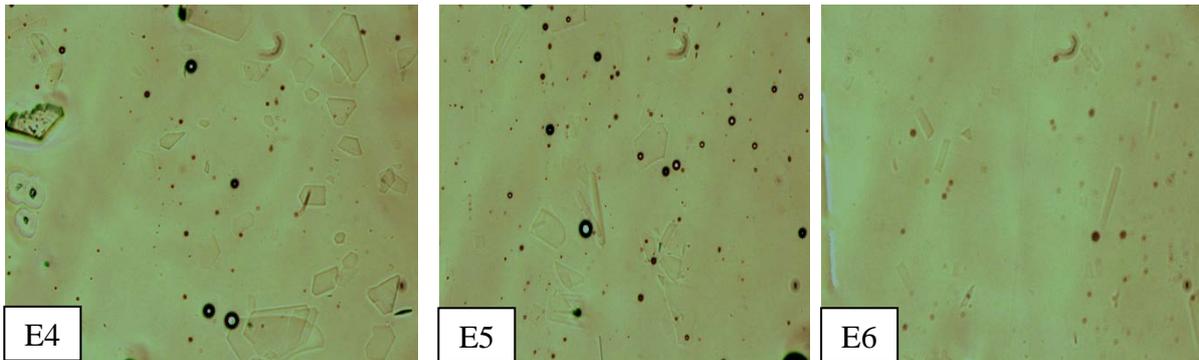


Figure 27: Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 50% pendant 10min(E4) ,15 min(E5) et 20 min(E6)

Suivant la figure 28, les échantillons traité avec amplitude 70% ne présentent aucune charge cristalline, ce la implique que cette fréquence conduit la dissolution totale des cristaux.

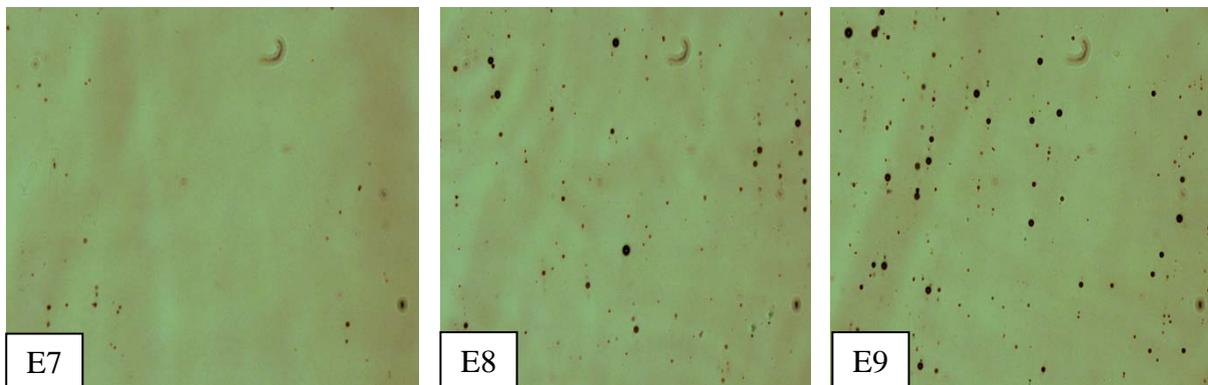


Figure 28: Image microscopique d'échantillon de miel traité par l'amplitude 70% pendant 10min(E7) ,15 min(E8) et 20 min(E9)

A partir des figures 26 , 27 et 28, nous pouvons observer l'effet de l'amplitude sur la cristallinité du miel, l'élévation de la fréquence a permis la dissolution des cristaux de glucose hydraté et donc la réduction de leurs tailles jusqu'à la disparition avec une amplitude de 70%

Donc l'analyse microscopique amène à conclure que la taille des cristaux se réduit en fonction de l'amplitude et du temps, et elle vient de compléter (confirmer) les résultats obtenus par l'analyse de diffraction des rayons X.

4. Hydrométhyl furfural

Le taux d'HMF permet d'évaluer la fraîcheur du miel, et peut être employé pour évaluer les conditions de traitement et de conservation des miels (Gonzales *et al.*, 2000 ; Serra Bonvehi *et al.*, 2000).

Après la sonication les valeurs de ce composé varient entre 25,75et 38,77mg/Kg. L'analyse du modèle HMF ne montre aucun effet significatif, de ce fait, les variations de la teneur en HMF s'explique par les fluctuations expérimentales .cependant, les résultats obtenus respectent la norme actuelle du Codex Alimentarius (2001) qui est inférieur à 40mg/Kg. Ce résultat est soutenu par l'étude de Kabbani (2013) qui montre que le traitement du miel par ultrason (50-100-200w) à des différentes températures(40-50-60°C) pendant des temps variables 20-40-60min n'a aucun effet sur la formation d'HMF.

D'après Gonnet (1977) La fonte du miel est considérée comme approprié quand le contenu d'HMF est semblable ou légèrement plus haut que celui qui est avant le traitement .

5. Activité antioxydant

Cette propriété peut être due aux glucose oxydases, catalases, la vitamine C, les caroténoïdes, la matière azotés et aux composés phénoliques (Guerrini *et al*, 2009), cette activité est attribuée à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (HO·) et superoxyde (O₂⁻) (Nkhili, 2009).

Dans cette étude, les échantillons de miel traité présentent une activité anti-radicalaire qui varie entre 19,23 et 50,75 mg EAG/Kg, les résultats de l'analyse statistique indiquent que le temps et l'amplitude du traitement de sonication ne présentent aucune influence significative sur activité antioxydante du miel, contrairement au traitement thermique qui provoque la diminution de l'activité anti-radicalaire (Wang *et al.*, 2003).

6. Polyphénols totaux

L'évaluation de la teneur phénolique totale de miel peut être employée en tant que bons paramètres pour l'évaluation de sa qualité nutritionnelle (Al-Mamary *et al.*, 2002).

D'après nos résultats le miel traité présente des valeurs qui varient entre 304,51 et 483,24 mg EAG/Kg, les résultats de l'analyse statistique indiquent que le temps et l'amplitude du traitement de sonication n'exercent aucun effet significatif sur la teneur en polyphénols totaux.

Les composés phénoliques regroupent certains composés de faible poids moléculaire qui ont des propriétés aromatiques Ibrahim Khalil *et al.* (2012), et selon Blanc (2010) un traitement avec des températures élevées provoque la dégradation des sucres et une perte propriété. De plus, Bogdanov et Ruoff (2004) ont rapporté que L'utilisation de la chaleur excessive pour la liquéfaction ou la pasteurisation du miel a des effets nuisibles sur la qualité de miel, c'est-à-dire, perte des composés volatils, de l'accumulation de HMF et de la réduction de l'activité d'invertase et de diastase.

7. Conditions optimales de liquéfaction

Les conditions requises pour la liquéfaction du miel traité sont déterminées à l'aide du module de Profileur de prévision (logiciel de JMP). Les niveaux des deux facteurs étudiés, l'amplitude et le temps de sonication, qui optimise la décristallisation du miel sont 67,38% et 10min, respectivement. Ces paramètres permettent une décristallisation complète du miel.

Conclusion

Conclusion

A partir de la méthodologie de surface de réponse, les paramètres qui présentent des effets significatifs sont : l'humidité, le Brix, le pourcentage et la taille des cristaux.

L'humidité et le Brix sont très influencés par l'amplitude de sonication et le temps affecte seulement le Brix. Une diminution de l'humidité est constatée au cours de liquéfaction et qui se traduit par l'élévation de la matière sèche ce qui augmente la stabilité du miel lors de la conservation et empêche sa fermentation et cette diminution s'explique par l'effet des ultrasons qui génère de l'énergie thermique qui évapore l'eau du miel.

L'augmentation de l'amplitude et du temps de sonication induit à une diminution de la taille et du pourcentage des cristaux de miel, cela implique que ces deux facteurs exercent un effet remarquable sur la dé cristallisation du miel, ce qui a été confirmé par l'analyse microscopique.

Cependant, les autres paramètres, l'HMF, la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante ne sont pas influencés par les ultrasons. L'absence de l'effet significatif sur l'HMF indique que le traitement n'a pas dépassé la barrière énergétique qui provoque une formation considérable de ce composé et donc le traitement par ultrasons choisi n'affecte pas significativement la qualité du miel.

Concernant les composés phénoliques et l'activité antioxydante, L'absence de l'effet significatif implique que traitement n'affecterait pas la composition du miel en ce qui concerne les antioxydants.

A la lumière de cette étude, nous pouvons fixer les conditions requises pour une liquéfaction totale de miel à une amplitude de sonication de 67,38% et pendant un temps de traitement de 10min.

L'importance de ce travail est qu'il fournit les données qui peuvent être employées par des apiculteurs pour développer un système de traitement par ultrasons pour la liquéfaction du miel. Les implications pour l'industrie de miel, si cette technologie d'ultrasons est adoptée et appliquée sur une échelle industrielle, le miel produit serait de meilleure qualité (Effets non considérables sur les teneurs en HMF et en polyphénols et activité antioxydante).

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de déterminer l'activité diastasique du miel après le traitement par les ultrasons dans le but d'évaluer l'activité enzymatique, d'évaluer l'effet de la conservation sur le miel traité pendant une longue durée afin de déterminer l'efficacité de traitement et effectuer une analyse sensorielle.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

Ahmed J. Shafi ur Rahman M. (2012). Handbook of Food Process Design. Wiley-Blackwell, Chichester, UK. p. 1135.

Al-Mamary M., Al-Meeri A. et Al-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. Nutrition Research. 22: 1041-1047.

Alvarez L.M. (2010). Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p.

Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M. and Tacchini M. (1989). Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. Apidologie, 20 :115-125.

Amri A. (2006). Évaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie, Mémoire de magistère en Biochimie, Univ Badji Mokhtar, Annaba, Faculté des Sciences, 123p.

Anonyme1 : <http://gardatechnology.weebly.com/mateacuteriel-pour-lapiculture.html>
(Consulter en Avril 2016)..

Anonyme2 : http://www.apimiel.fr/index.php?page=detail_reference&recordID=10DF42&PH_PSESSID=9c26f712b3deb5652cde0690b627e9a8. (Consulter en Avril 2016).

Anonyme3 : <http://www.naturapi.com/15991-fondoir-multi-resistance-lega.html> (consulter en juin 2016).

Anso J. (2012). Du miel à volonté. D2A, 1:23 p.

Assil H.I. (1991). Crystal control in processed liquid honey. Journal of Food Science 56(4):1034.

Aupy G. Paccalin j. et lostalot J.D. (1994). Miel et abeilles. diététique et médecine, 4 :161-173.

-B-

Bachir Bey M. (2015). Etude de l'effet du séchage sur les caractéristiques physicochimiques, les propriétés antioxydantes et les profils phénoliques de variétés de figues (*Ficus carica* L.), Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abderrahmane Mira, Bejaïa, 207p.

Blanc M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.

Bogdanov S. (1994). Liquéfaction du miel au moyen de l'appareil Melitherm et de l'appareil de fonte d'opercules Jakel: Évaluation des dégâts causés au miel par la chaleur Centre Suisse de Recherches Apicoles.

Bogdanov S. (1993). Liquefaction of honey. *Apiacta* .28 : 4-10.

Bogdanov S., Ruoff K. et Oddo L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: a review. *Apidologie*. 35: 4–17.

Bogdanov S. (2003). miel. *Apidologie*, 23:1-31.

Bogdanov S. et Blumer P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue Suisse d'Apiculture*, 98: 107-114.

Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R. et Gallmann P. (2008). Honey for Nutrition and Health: a Review. *American Journal of the College of Nutrition*, 27: 677-689.

Bogdanov S., Lüllmann C., Martin P., Werner V.O., Harald R., Günther V., Livia P.O., Anna G.S., Marcazzan G.L., Piro R., Flamini C., Morlot M., Lheritier J., Borneck R., Marioleas P., Tsigouri A., Kerkvliet J., Ortiz A., Ivanov T., D'arcy B., Mossel B. et Vit P. (2001). Qualité Du Miel et Normes Internationales Relatives Au Miel. Rapport de la Commission Internationale du Miel. Apiservices, Galerie Apicole Virtuelle.

Bogdanov S. (2002), Harmonised methods of the international honey commission, International Honey Commission.

Bousseta A., Collins, S. and Dufour, J.P. (1992). Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with dynamic headspace GC-MS system, *J. Apic. Res.* 31: 96-109.

Bradbear N. (2005). Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.

Bruce R. (2007). High-power Ultrasound to Control of Honey Crystallisation Rural Industries Research and Development Corporation. All rights reserved.

Bruneau E. (2002). Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica. p.354-384.

-C-

Calderone N.W. (2008). Creamed Honey – Theory, Department of Entomology, Cornell University, Ithaca, NY 14853.

Chouia A. (2014). Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout, Mémoire de magistère, Univ Mohamed Khider Biskra, faculté Biologie, 102p.

Codex Alimentarius, (2001) Draft revised standard for honey. Alinorm 01/25 19-26. and EU Council (2002) Council Directive 2001/11 O/EC of 20 December 2001 relating to honey. Official Journal of the European Communities L10, 47-52.

-D-

David H., Carlos A. U. and Gomez-Cordoves C. (2011). Role of honey polyphenols in health. Journal of Api Product and Api Medical Science, 3 (4): 141 – 159.

Dariusz M., Zbigniew S. et Dolatowski J. (2007). Effect of sonication on the cristallisation of honeys. Polish journal of food and nutrition sciences, 57(3): 133-136.

Deora N. S., Misra N.N., Deswal A., Mishra H.N., Cullen P.J. and Tiwari B. K. (2013). Ultrasound for Improved Crystallisation in Food Processing, Food Eng Rev, 5:36–44.

Donadieu Y. (1978). Les Produits De La Ruche. Thérapeutiques naturelles. Edit, Maloine S. A, Paris.

Donadieu Y. (2008). La Propolis Editions Dangles, Paris, 90p.

-E-

Echigo T.E. and Takenaka T. (1974). Production of organic acids in honey by honeybees. J. of the Agr. Chem. Soc. of Japan (japanisch), 48: 225-230.

Emmanuelle H., Julie C. et Laurent G. (1996). Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.

-G-

Goethe P. (2009). Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. *Phytothérapie*, 7(2) : 91-93.

Gonnet M. (1965). Les modifications de la composition chimique des miels au cours de la conservation. *Ann. Abeille*, 8 (2):129-146.

Gonnet M. (1977). Honey liquefaction, pasteurisation, and induced crystallization. *Apiacta*, 3: 1-3.

Gonnet M. (1994). La cristallisation dirigée des miels : actualisation des méthodes de travail et avantages liés à cette pratique technologique. *Abeilles et Fleurs*, 430, 9-10.

Gonnet M. and Vache G. (1985). Le goût du miel. Edit, U.N.A.F, Paris, 146 p.

González Paramás, A. M., Gómez Bárez, J. A., Garcia-Villanova, R. J., Palá, T. R., Albajar R. & Sánchez, J.S. (2002). Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 157-165.

Goupy J. & Creighton L. (2006). Introduction aux plans d'expériences (3ème Edition). Dunod, Paris, France. pp. 179-206.

Goupy J. (2006). Les plans d'expériences. *Revue Modulad*, 34: 74-116.

Guerrini A., Bruni R., Maitti S., Poli F., Rossi D. Pagametto G., Muzzoli M. & Sacchetti L. S. G. (2009). Ecuadorian stingless bee (*Meliponinae*) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food chemistry*, 114: 1413–1420.

-H-

Hadorn H. (1962). Über Wärme und Lagerschädigungen von Bienenhonig. *Trac. Chim. Alim. Hyg. (Berne)*, 53 (3) :191-192.

Hoyet C. (2005). Le miel : de la source a la therapeutique, These de Doctrat en pharmacie, Univ Henri Poincare - Nancy 1, faculté de pharmacie,106p.

Hummel R. et M. Feltin M. (2014). Produire un miel de qualité quand on est apiculteur débutant. Syndicat des apiculteurs, Thann, p5 .

-J-

Jacquot M., Fagot P. et Voilley A. (2011). La couleur des aliments: De la théorie à la pratique. Lavoisier, Paris, France, p. 472.

Joshi S.R., Pechhacker H., Willam A. and von der ohe W. (2000). Physico-chemical characteristics of Apis dorsata, Apis cerana and Apis mellifera honey from Chitwan district, central Nepal. Apidologie, 31(3) : 367-375.

-K-

Kabbani D. (2013).ultrasound-assisted liquefaction of honey, Thesis doctorate from the universitat Politècnica de Catalunya, Departement d'Eginyeria Agroalimentaria Agroalimentaria, Bioteconologia,189p.

Kaloyereas S.A. (1955). Preliminary report on the effect of ultrasonic waves on the crystallisation of honey. Science, 121, 339-340.

-L-

Leadley C. & Williams A. (2002).Power ultrasound - current and potential applications for food processing. UK: Campden & Chorleywood Food Research Association Group.

Lechaux D. (2010). Le miel et la cicatrisation des plaies. comité de liaison Alimentation et Nutrition,8p.

Lequet L. (2010). Du nectar à un miel de qualité : controles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, These de Doctorat, Ecole Nationale Veterinaire de Lyon ,195p.

Liebl D. E. (1978). Ultrasound and granulation of honey. American Bee Journal, 2, 107.

-M-

Manikis I. et Thrasyvoulou A. (2001). La relation entre les caractéristiques physiques et chimiques des miels et leurs paramètres de cristallisation. Apiacta, 36 (2) : 106-112.

Marceau J., Noreau J. et Houle É. (1994), Les HMF et la qualité du miel, Fédération des Apiculteurs du Québec, L'abeille, 15(2) : 1-3.

Mason T. J. (1998). Power ultrasound in food processing - the way forward. In M. J. W. Povey & T. J. Mason (Eds.), *Ultrasound in food processing*. pp. 105-126.

McClements D.J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 293-299.

Muli E., Munguti A. et Raina S. K. (2007). Quality of Honey Harvested and Processed Using Traditional Methods in Rural Areas of Kenya. *ACTA VET. BRNO*. 76: 315-320.

-N-

Nkhili E.Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat, Univ. Marrakech, 320 p.

-O-

Oudjet K. (2012). Le miel : une denrée à promouvoir, infos-cacqe. etudes & enquetes.

-P-

Poirot B. (2012). Procède de traitement du miel pour obtenir un miel liquide et limpide fascicule de brevet européen.

Polus P. (2007). Récolte et conditionnement du miel. *L'Abeille de France*, 937, 255-261.

-R-

Rossant A. (2011). le miel, un compose complexe aux proprietes surprenantes, thèse de docteur en pharmacie, universite de limoges france faculte de pharmacie, p.133.

-S-

Sayan P., Sargut S.T. And Kiran B. (2011). Effect of ultrasonic irradiation on crystallization kinetics of potassium dihydrogen phosphate. *Ultrason Sonochem*, 18(3):795–800.

Serra Bonvehí J., Torrentó M.S. and Raich J.M. (2000). Invertase activity in fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 507-512.

Siddique I. (1970). The sugars of honey. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 25 :285-309.

Stephen W. (1945). The relationship of moisture content and yeast count in honey fermentation. *Scientific agriculture*, 26:258-264.

-T-

Thrasyvoulou A., Manikis J., & Tselios D. (1994). Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie*, 25, 297-302.

Tomczak C. (2010). Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Thèse de doctorat, école nationale vétérinaire, Univ. Lyon, 185 p.

-V-

Volva L. Celechovska O. (2002). Activity of enzymes and trace element content in bee honey. *Acta Vet*, 71:375-378.

Von Der Ohe W., Dustman J. and Von der Ohe K. (1991). Prolin als Kriterium der Reife des Honigs, *Dtsch. Lebensm.-Rundsch*, 87 :383-386.

-W-

Wang J., Li H., Bao Y., Guo Z. and Zhang M. (2003). Rapid sonocrystallization in the salting-out process. *J. Cryst. Growth*, 247:192–198.

White J. and Doner L. (1978). Mass spectrometric detection of high fructose corn syrup in honey by use of ¹³C/¹²C ratio, *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 61: 746-750.

White J., Kushnir I. and Subers M. (1964). Effect of storage and processing temperatures on honey quality, *Food Technology*, 18:153-156.

White J.W. (2003). The hive and the honey bee. Hamilton USA, p:871-88.

Annexes

Annexe I

Tableau I : Table de CHATAWAY (Bogdanov, 2002)

Indice de réfraction à (20°C)	Teneur en eau (g/100g)	Indice de réfraction à (20 °C)	Teneur en eau (g/100g)
1,5044	13,0	1,4890	19,0
1,5038	13,2	1,4885	19,2
1,5033	13,4	1,4880	19,4
1,5028	13,6	1,4875	19,6
1,5023	13,8	1,4870	19,8
1,5018	14,0	1,4865	20,0
1,5012	14,2	1,4860	20,2
1,5007	14,4	1,4855	20,4
1,4002	14,6	1,4850	20,6
1,4997	14,8	1,4845	20,8
1,4992	15,0	1,4840	21,0
1,4987	15,2	1,4835	21,2
1,4982	15,4	1,4830	21,4
1,4976	15,6	1,4825	21,6
1,4971	15,8	1,4820	21,8
1,4966	16,0	1,4815	22,0
1,4961	16,2	1,4810	22,2
1,4956	16,4	1,4805	22,4
1,4951	16,6	1,4800	22,6
1,4946	16,8	1,4795	22,8
1,4940	17,0	1,4790	23,0
1,4935	17,2	1,4785	23,2
1,4930	17,4	1,4780	23,4
1,4925	17,6	1,4775	23,6
1,4920	17,8	1,4770	23,8
1,4915	18,0	1,4765	24,0
1,4910	18,2	1,4760	24,2
1,4905	18,4	1,4755	24,4
1,4900	18,6	1,4750	24,6
1,4895	18,8	1,4745	24,8
		1,4740	25,0

Annexe II

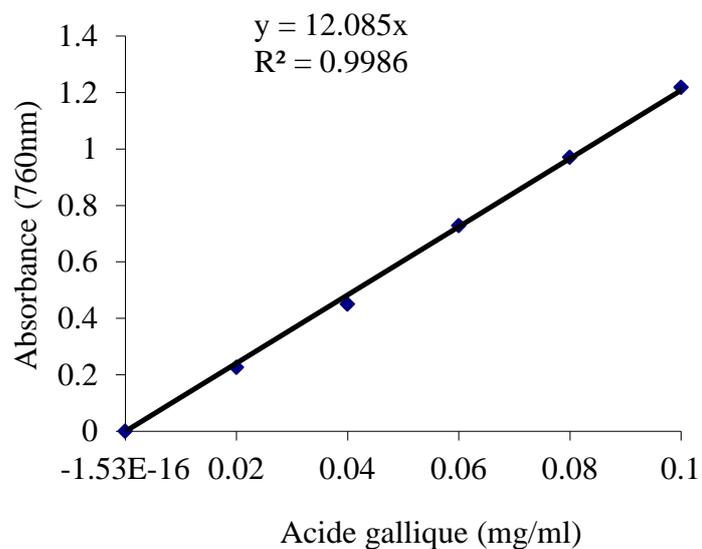


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques

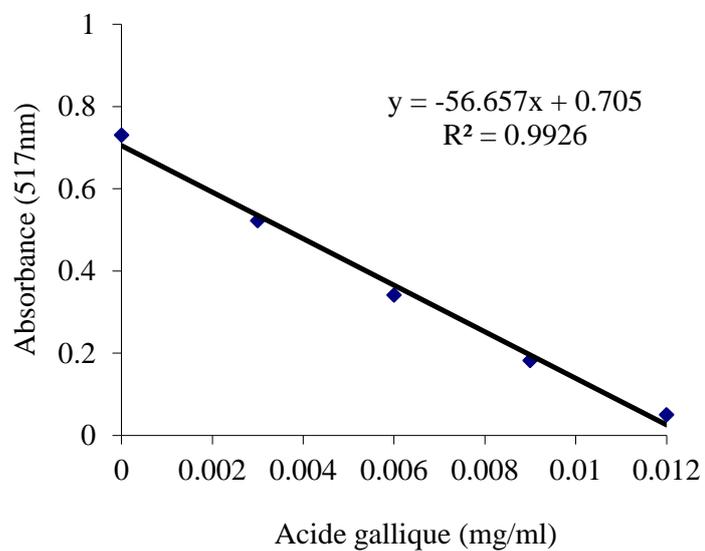


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire

Résumé

Le miel est un produit largement connu et utilisé dans le monde. Ce produit naturel subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant à la perte de certaines de ses qualités et le changement de son aspect tel que la cristallisation. Dans ce contexte nous avons utilisé les ultrasons pour liquéfier un miel cristallisé et dans le but d'évaluer l'effet des ultrasons, certaines propriétés physico-chimiques tel que l'humidité, le Brix, l'HMF, les composés phénolique, l'activité anti-radicalaire, le pourcentage et la taille des cristaux ont été analysés. Les résultats montrent que de miel traité répond aux normes du *Codex Alimentarius*. Les paramètres affectés par le traitement ultrasonique sont l'humidité, le Brix, le pourcentage et la taille des cristaux, cependant, les autres paramètres (HMF, teneurs en composés phénoliques et activité antioxydante) ne sont pas influencés par les ultrasons. Les conditions optimales pour une liquéfaction efficace de miel son un traitement ultrasonique avec une amplitude de 67,38% durant une durée de 10min

Mots clés : Miel, Cristallisation, Liquéfaction Ultrasons, Qualité.

Abstract

Honey is a product widely known and used worldwide. This natural product undergoes over time a number of changes resulting in the loss of some of its features and the change in appearance such as crystallization. In this context, we used ultrasound to liquefy crystallized honey, and in order to evaluate ultrasound effects, some physicochemical properties such as humidity, Brix, HMF, phenolic compounds, antiradical activity, percentage and size of crystals were analyzed. The results showed that honey parameters concord with *Codex Alimentarius* standards. The ultrasonic treatment affects some parameters: humidity, Brix, percentage and size of the crystals, however, other proprieties, HMF and phenolic contents, and antioxidant activity, were not influenced by ultrasound. The optimal conditions for efficient liquefaction of honey its ultrasonic treatment with an amplitude of 67.38% over a period of 10min.

Keywords: Honey, Crystallization, Liquefaction Ultrasound, Quality

ملخص

العسل هو المنتج المعروف والمستخدم على نطاق واسع، هذا المنتج الطبيعي يخضع مع مرور الوقت لعدد من التغييرات مما يؤدي إلى فقدان بعض معالمه والتغيير في المظهر مثل التبلور، في هذا السياق استعملنا الموجات فوق الصوتية لتذويب العسل المتبلور ومن أجل تقييم تأثير الموجات فوق الصوتية، بعض الخصائص الفيزيائية مثل الرطوبة وبركس، هيدروكسي ميثيل فورفورال، والمركبات الفينولية، و نشاط المضادة للأكسدة ، وقد تم تحليل نسبة وحجم التبلور، غالبية نتائج الاختبارات مماثلة لمعايير هيئة الدستور الغذائي، المعايير التي تمثل تأثيرات هامة هي: الرطوبة، وبركس، نسبة وحجم البلورات، ولكن غيرها من المعالم لا تتأثر بالموجات فوق الصوتية، تركيبات مختلفة من العلاج بالموجات فوق الصوتية (الوقت والسعة) يمكن استخدامها لتحقيق الهدف الرئيسي لتميع العسل دون التأثير على جودتها.

كلمات البحث: العسل، تبلور، تميع، الموجات فوق الصوتية، الجودة